

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Katedra antropologie a genetiky člověka



UNIVERZITA
KARLOVA

Bc. Viktória Bartková

Laktázová persistence ve východní Africe – rozšíření a genetická variabilita

Lactase persistence in East Africa – distribution and genetic variability

Diplomová práce

Vedoucí práce/Školitel:

Mgr. Edita Priehodová, Ph.D.

Konzultant:

prof. Mgr. Viktor Černý, Dr.

Praha, 2025

Charles University

Faculty of Science

Department of Anthropology and Human Genetics



**UNIVERZITA
KARLOVA**

Bc. Viktória Bartková

Lactase persistence in East Africa – distribution and genetic variability

Laktázová persistence ve východní Africe – rozšíření a genetická variabilita

Diploma thesis

Supervisor:

Mgr. Edita Priehodová, Ph.D.

Consultant:

prof. Mgr. Viktor Černý, Dr.

Prague, 2025

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som diplomovú prácu na tému “Laktázová perzistencia vo východnej Afrike – rozšírenie a genetická variabilita” spracovala samostatne a že som uviedla všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca ani jej podstatná časť nebola predložená na získanie iného alebo rovnakého akademického titulu.

Praha 2025

Viktória Bartková

POĎAKOVANIE

Moje úprimné poďakovanie patrí predovšetkým mojej školiteľke, Mgr. Edite Priehodovej, za cenné rady, odborné vedenie, trpezlivosť a ochotu kedykoľvek poradiť počas celého procesu spracovania tejto práce.

Podďakovanie patrí i prof. Viktorovi Černému za odborný dohľad a cenné usmernenia, ktoré prispeli k odbornosti a kvalite práce.

Vďaka samozrejme patrí i mojej rodine a priateľom za neustálu podporu a umožnenie štúdia. V neposlednom rade ďakujem Cafedu, vďaka ktorému som zvládla celé vysokoškolské štúdium.

ABSTRAKT

Subsistenčné stratégie jednotlivých ľudských populácií zanechali v minulosti stopy, ktoré sú dnes rozpoznateľné v genetickej štruktúre ich potomkov. Jedným z príkladov je laktázová perzistencia (LP), vyskytujúca sa predovšetkým v populáciách, u ktorých bola v minulosti rozšírená mliečna produkcia a konzumácia čerstvého mlieka. LP je zároveň príkladom paralelnej evolúcie, keďže sa vyvinula nezávisle vo viacerých populáciách Afriky a Eurázie. S týmto fenotypom je spojených päť známych variant jednobodového polymorfizmu (SNP – *single nucleotide polymorphism*). Varianta označovaná -13 910*T je typická pre západnú Euráziu a pastoralistov západoafrického Sahelu, zatiaľ čo varianta -13 915*G dominuje na Arabskom polostrove a medzi východosahelskými Arabmi. V populáciách východnej Afriky sa okrem týchto dvoch variant vyskytujú ešte ďalšie tri, a sice -14 010*C, -14 009*G a -13 907*G.

Cieľom tejto diplomovej práce je prostredníctvom analýzy doteraz nepreskúmanej populácie zo Somalilandu rozšíriť poznatky o LP v regióne východnej Afriky. Analyzovaných bolo takmer 100 vzoriek DNA z tejto oblasti, u ktorých bol sekvenovaný úsek zahŕňajúci všetky pro-LP varianty. Získané údaje boli podrobené základným populačne-genetickým testom a dané do kontextu s už publikovanými dátami z východnej Afriky. Na ich základe bola vykonaná aj štatistická interpretácia frekvenčných dát LP 107 populácií, zoskupených podľa subsistenčnej stratégie, jazykovej príslušnosti a geografickej lokalizácie, s cieľom odhaliť vnútornú diverzitu regiónu. Výsledky práce ukázali, že celková frekvencia LP je v populácii Somalilandu relatívne nízka (13 %), zastúpená primárne východoafrickou variantou -13 907*G a arabskou variantou -13 915*G. Genetická blízkosť k etiópskym pastoralistom a farmárskym skupinám zo Sudánu odráža historické migračné väzby v regióne. Získané dáta ďalej poukazujú na to, že najvýraznejším faktorom ovplyvňujúcim genetickú variabilitu LP nie je podľa predpokladu zvolená subsistencia (iba 6,36 %), ale jazyková príslušnosť (10,97 %), ktorá zrejme odráža hlbšie historické a genetické väzby. Táto práca tak rozširuje poznatky o genetickej diverzite LP z oblasti Somalilandu a prispieva k lepšiemu pochopeniu komplexných biologických, kultúrnych a historických faktorov, ktoré sa podieľali na formovaní tohto znaku vo východnej Afrike.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

laktázová perzistencia, Somaliland, východná Afrika, subsistencia, jazyková príslušnosť, genetická variabilita, geografické rozšírenie

ABSTRACT

The subsistence strategies of human populations have left traces in the past that are recognizable today in the genetic structure of their descendants. One example is lactase persistence (LP), which occurs primarily in populations where dairy production and consumption of fresh milk were widespread in the past. LP is also an example of parallel evolution, as it evolved independently in several populations in Africa and Eurasia. Five known single nucleotide polymorphism (SNP) variants are associated with this phenotype. The variant designated -13 910*T is typical for Western Eurasia and pastoralists of the West African Sahel, while the variant -13 915*G dominates in the Arabian Peninsula and among the Arabs of the East Sahel. In addition to these two variants, three more occur in East African populations, namely -14 010*C, -14 009*G and -13 907*G.

The aim of this thesis is to expand knowledge about LP in the East African region by analyzing a previously unexplored population from Somaliland. Almost 100 DNA samples from this region were analyzed, in which a section including all pro-LP variants was sequenced. The obtained data were subjected to basic population-genetic tests and put into context with already published data from East Africa. On their basis, a statistical interpretation of LP frequency data of 107 populations, grouped according to subsistence strategy, linguistic affiliation and geographical location, was also performed, with the aim of revealing the internal diversity of the region. The results of the work showed that the total frequency of LP in the Somaliland population is relatively low (13%), represented primarily by the East African variant -13 907*G and the Arabic variant -13 915*G. Genetic proximity to Ethiopian pastoralists and farming groups from Sudan reflects historical migration links in the region. The obtained data further indicate that the most significant factor influencing the genetic variability of LP is not, as expected, selected subsistence (only 6.36%), but linguistic affiliation (10.97%), which probably reflects deeper historical and genetic links. This work thus expands the knowledge about the genetic diversity of LP from the Somaliland region and contributes to a better understanding of the complex biological, cultural and historical factors that participated in the formation of this trait in East Africa

KEY WORDS

lactase persistence, Somaliland, East Africa, subsistence, language affiliation, genetic variability, geographic distribution

Obsah

1 ÚVOD	1
2 CIELE PRÁCE	2
3 TEORETICKÁ ČASŤ	3
3.1 LAKTÓZA A LAKTÁZA	3
3.2 LAKTÓZOVÁ INTOLERANCIA	6
3.2.1 Klasifikácia LI	6
3.2.2 Symptómy LI	7
3.2.3 Stanovenie LI	8
3.2.4 Liečba LI	9
3.3 LAKTÁZOVÁ PERZISTENCIA (LP)	10
3.3.1 LP – genetická podstata	11
3.3.2 LP – rozšírenie	16
3.3.3 LP – hypotézy vzniku	23
3.3.4 LP – historicko-kultúrny kontext	26
3.4 VÝCHODNÁ AFRIKA	30
3.4.1 Genetická a jazyková diverzita východnej Afriky	30
3.4.2 Somálsko a Somaliland – história a genetická diverzita	37
4 PRAKTICKÁ ČASŤ	41
4.1 MATERIÁL	41
4.1.1 Vzorky populácie Somalilandu	41
4.1.2 Dataset	41
4.2 METÓDY PRÁCE	46
4.2.1 Izolácia DNA	46
4.2.2 Sekvenovanie DNA	46
4.2.3 Nájdenie mutácií	47
4.2.4 Štatistické metódy	48
4.3 VÝSLEDKY	50
4.3.1 Populácia SML	50
4.3.2 Dataset	52
4.4 DISKUSIA	58
4.4.1 LP vo východnej Afrike	58
4.4.2 Populácia SML	66
5 ZÁVER	70
ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	72
POUŽITÁ LITERATÚRA	74
ZOZNAM TABULIEK A GRAFOV	95
ZOZNAM OBRÁZKOV	97
PRÍLOHY	99

1 ÚVOD

Laktázová perzistencia (LP) ako schopnosť tráviť mliečny cukor (laktózu) patrí medzi jeden z najvýznamnejších príkladov adaptívnej evolúcie u človeka. Z molekulárneho hľadiska je tento fenotyp výsledkom pretrvávajúcej aktivity enzýmu laktázy, ktorý rozkladá laktózu na glukózu a galaktózu. Kým vo väčšine populácií aktivita tohto enzýmu po detstve klesá, u niektorých pretrváva počas celého života, pričom genetická podstata LP spočíva v prítomnosti špecifických regulačných variant v oblasti génu *LCT* (*lactase gene*). Doteraz bolo identifikovaných päť hlavných variant, ktoré vznikli nezávisle v rôznych častiach sveta – Európa je centrom vzniku varianty s označením -13 910*T, na Arabskom polostrove vznikla varianta -13 915*G a vo východnej Afrike majú svoj pôvod varianty -13 907*G, -14 010*C a -14 009*G.

Práve východná Afrika, najmä oblasť tzv. Afrického rohu, vykazuje najvyššiu genetickú diverzitu LP a preto sa stala predmetom tejto práce. Skúmanou je populácia Somalilandu – autonómnej oblasti na severovýchode dnešného Somálska, nachádzajúcej sa na pomedzí Afriky a Arabského polostrova, čo z nej robí dôležitý bod migrácií a kultúrnych výmen. Na základe doterajších poznatkov o genetickej skladbe populácií susedného Somálska bola formulovaná prvá hypotéza, podľa ktorej budú v populácii Somalilandu zastúpené pôvodné východoafrické varianty LP, ale aj arabská LP varianta (Enattah et al. 2008; Ingram et al. 2009a). Táto hypotéza vychádza z predpokladu, že historické kontakty a migrácie medzi Afrikou a Arabským polostrovom, ako aj spoločná kultúrna história, sa mohli odraziť v genetickej výbave tejto populácie.

Súčasťou analýzy bolo aj zaradenie somalilandskej populácie do širšieho kontextu publikovaných genetických údajov z východnej Afriky. Okrem genetickej diverzity je tento región charakteristický aj vysokou jazykovou rozmanitosťou. Populácia Somalilandu hovorí prevažne kušitskými jazykmi, ktoré spolu so semitskými patria do afroázijskej jazykovej rodiny. Na základe tejto skutočnosti bola formulovaná druhá hypotéza, podľa ktorej bude populácia Somalilandu z hľadiska genetickej štruktúry v kontexte LP najbližšia práve kušitským a semitským skupinám tejto jazykovej rodiny. Tento predpoklad nadväzuje na výskumy (Ali et al. 2020, Messina et al. 2016, Sanchez et al. 2005), ktoré naznačujú koreláciu medzi jazykovou a genetickou diverzitou v regióne.

I keď presná príčina vzniku LP stále podlieha debatám, v súčasnosti sa uvádza, že LP, minimálne na území Afriky, vznikla ako dôsledok adaptácie na pastoralistický životný

štýl, úzko spätý s pravidelnou konzumáciou mlieka a jeho produktov. Práve tento spôsob života zrejme vytvoril jeden z najsilnejších selekčných tlakov na zachovanie funkčnej laktázovej aktivity aj v dospelosti, keďže mlieko predstavovalo spoľahlivý zdroj tekutín a kalórií v podmienkach, kde iné zdroje potravy mohli byť sezónne obmedzené alebo menej dostupné. Na základe týchto informácií bola formulovaná posledná tretia hypotéza, podľa ktorej bude výskyt LP v rámci východoafrických populácií korelovať so zvolenou subsistenčnou stratégiou. To znamená, že v populáciách praktizujúcich pastoralizmus sa očakávajú vyššie frekvencie LP ako v populáciách, ktoré praktizujú inú životnú stratégiu.

Pre uvedenie do kontextu problematiky sú v teoretickej časti práce v úvode zhrnuté známe informácie o laktóze a laktózovej intolerancii. Nasledujúca časť sa venuje laktázovej perzistencii, jej molekulárnej podstate, predpokladanému vzniku tohto znaku ako i procesom, ktoré tento vznik umožnili, a v neposlednom rade i rozšíreniu jednotlivých variant v rámci sveta. Táto časť je zakončená kapitolou o východnej Afrike a v nej sa vyskytujúcej genetickej a jazykovej variabilite, v rámci ktorej je venovaná osobitná pozornosť regiónu Somálska a Somalilandu.

V praktickej časti sa práca venuje vlastným výsledkom analýzy populácie Somalilandu a taktiež výsledkom analýzy vytvoreného datasetu populácií východnej Afriky, ktoré sú podrobnejšie popísané v kapitole materiál. V rámci kapitoly metódy sú uvedené jednotlivé klasické laboratórne techniky ako PCR, elektorforéza či sekvenovanie použité na získanie frekvenčných dát LP variant pre somalilandskú populáciu. Okrem toho sú tam zhrnuté i jednotlivé štatistické metódy využité na určenie genetickej štruktúry populácií východnej Afriky, pričom získané informácie sú zhrnuté v kapitole výsledky. Diskusia sa zameriava na porovnanie výsledkov získaných zo Somalilandu, zasadených do kontextu genetickej štruktúry východnej Afriky. pričom sú tieto údaje konfrontované s už publikovanými dátami. Záver poskytuje súhrn najzásadnejších poznatkov získaných na základe práce.

2 CIELE PRÁCE

Na základe vyslovených hypotéz uvedených v úvode je cieľ práce možné zhrnúť do nasledujúcich troch bodov:

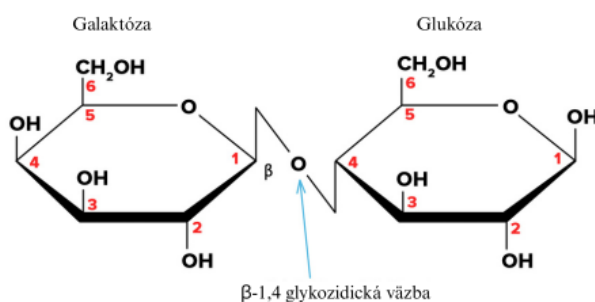
1. Identifikovať LP varianty prítomné u populácie Somalilandu (SML)

2. Zasadiť získané informácie do kontextu s už známymi dátami z východnej Afriky a určiť ktorým populáciám je populácia Somalilandu (SML) v rámci LP variability geneticky najbližšia
3. Analyzovať genetickú štruktúru populácií východnej Afriky na základe rôznych kritérií (subsistencia, jazyková rodina, geografia) a určiť, ktoré z týchto faktorov majú vplyv na výskyt LP v tomto regióne

3 TEORETICKÁ ČASŤ

3.1 Laktóza a laktáza

Mlieko je rozšíreným a dôležitým zdrojom živín, poskytujúcim sacharidy, proteíny, tuky, minerály (vápnik a draslík) a vitamíny (A, B12, D) (Górska-Warsewicz et al. 2019). Kľúčovým sacharidom mlieka cicavcov (s výnimkou skupiny Pinnepedia) je laktóza (β -galaktóza-1,4-glukóza), disacharid skladajúci sa z galaktózovej a glukózovej monosacharidovej komponenty spojenej β -1,4 glykozidickou väzbou (vid' Obrázok 1).

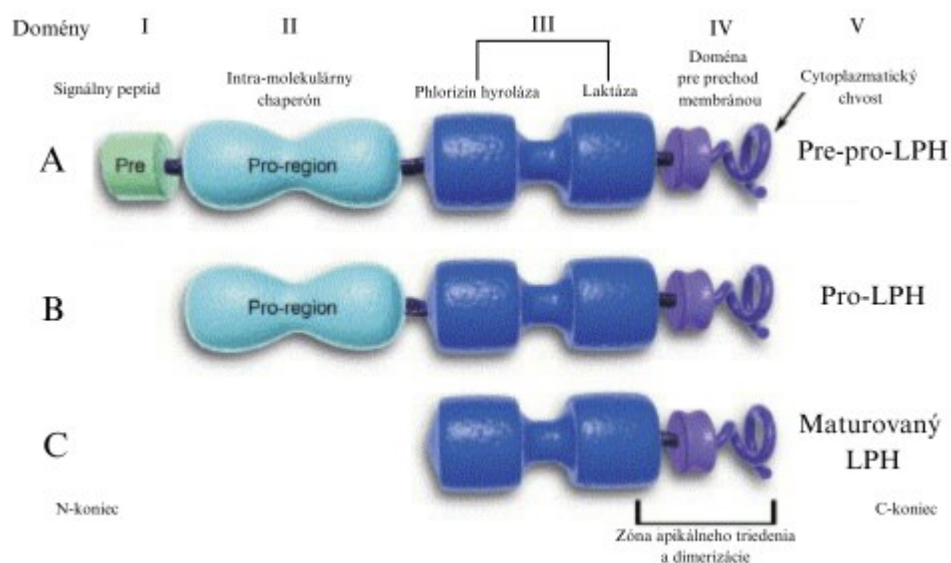


Obrázok 1: Laktóza (zdroj internet: <https://byjus.com/>)

Hoci laktóza nie je pre dospelého človeka nevyhnutnou živinou, pre dojčatá predstavuje zdroj energie a zdroj stavebných kameňov na syntézu glykolipidov a glykoproteínov (Górska-Warsewicz et al. 2019). Okrem toho podporuje vstrebávanie živín, najmä minerálov ako vápnik, a prispieva k rozvoju črevného mikrobiomu, čím zohráva dôležitú úlohu v ranom vývoji tráviaceho systému (Armand et al. 1996; Donald et al. 2022).

Pre využitie komponent laktózy ako zdroja energie, je potrebná prítomnosť laktázy (laktáza-phlorizin hydroláza, LPH), β -D-galaktózidázového enzýmu katalyzujúceho hydrolýzu laktózy (Swallow 2003). Tento enzým je produkovaný vonkajšou mikrobiálnou membránou buniek tenkého čreva, pričom ich najvyššia koncentrácia je v ileu a smerom k hrubému črevu sa znižuje (Naim et al. 1987).

Laktáza je kódovaná LCT génom, lokalizovaným na chromozóme 2 (Harvey et al. 1993), dlhým približne 50 kb (kilobázy) (Boll et al. 1991). Gén obsahuje 17 exónov (Boll et al. 1991) a kóduje mRNA transkript o dĺžke 6 274 nt (nukleotidov) (GenBank X07994.1). Produktom je 1 927 aminokyselín (AMK) dlhý pre-pro-proteín, ktorý je procesovaním transformovaný na 1 059 aminokyselín dlhú finálnu formu s molekulárnou hmotnosťou 320 kDa (kilodalton – jednotka molekulovej hmotnosti) (Mantei et al. 1988; Matthews et al. 2005).



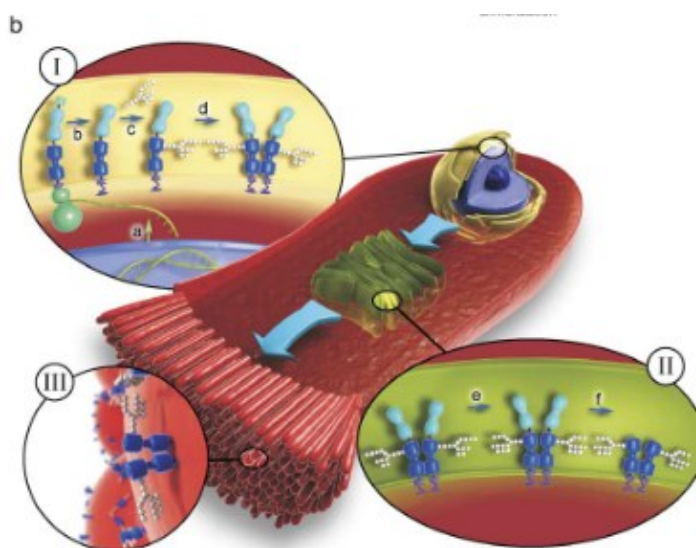
Obrázok 2: Prehľad doménových štruktúr LPH proteínu (Troelsen 2005)

Podľa Mantei et al. (1988) tvorí translačný produkt 5 domén (viď Obrázok 2):

- Doména I: 19 aminokyselín dlhý peptid signalizujúci štiepenie a podieľajúci sa na translokácii endoplazmatickým retikulom (ER)
- Doména II: veľká podjednotka zahŕňajúca pro-región (849 AMK) (pôsobíaca ako intra-molekulárny chaperón pre správne skladanie pro-laktázy (Jacob et al. 2002))
- Doména III: katalytická doména obsahujúca aktívne miesta (Neele et al. 1995)
- Doména IV: C-terminálna membránová kotva
- Doména V: krátka intracelulárna doména na C-konci (cytoplazmatický chvost)

Po translácii dochádza k vnútrobunečnému procesovaniu laktázy. V prvom kroku prebieha translokácia pre-pro-laktázovej formy cez membránu ER (viď Obrázok 2A),

pričom signálom translokácie je už vyššie zmienená doména I, ktorá je v procese odštiepená, čím vzniká C-terminálne zakončená pro-laktázová forma (viď Obrázok 2B). Táto forma tvorí v ER homodiméry a dochádza k N-glykozylácii a následne v Golgiho aparáte i k O-glykozylácii, ktoré sú nevyhnutné pre enzymatickú aktivitu a následný transport na membránu mikrokľkov (Jacob et al. 2002; Naim a Naim 1996). Pred dosiahnutím membrány je z laktázy ešte odštiepený veľký pro-región (doména II) (viď Obrázok 2C a 3) a finálna, už extracelulárna úprava, prebieha zrejme pomocou pankreatického trypsínu na samotnej membráne mikrokľkov (Jacob et al. 1996).



Obrázok 3: Biosyntéza laktázového proteínu. (I) a – transkripcia laktázového génu do mRNA. V diferencovaných enterocytoch tenkého čreva; b – translácia laktázovej mRNA ústiaca v vznik pre-pro-LPH formy, ktorá je translokovaná cez ER. Translokácia je mediovaná signálnym peptidom lokalizovaným v pre-regióne, ktorý je v ER odštiepený; c – N-glykozylácia pro-LPH v ER; d – dimerizácia v ER. (II) Transport pro-LPH do Golgiho aparátu (GA); e – O-glykozylácia v GA; f – odštiepenie veľkého pro-regiónu. (III) Transport maturovaného LPH na membránu mikrokľkov (Troelsen 2005)

V maturovanom proteíne sa v rámci jedného polypeptidového reťazca na doméne III nachádzajú dve aktívne miesta:

Glu1273 (s enzýmovou klasifikáciou EC 3.2.1.62) katalyzuje hydrolyzu biologicky aktívnych β -glukozidov, ako je phlorizín (Zecca et al. 1998) či flavonoidy a izoflavóny (Day et al. 2000; Németh et al. 2003), ktoré sa prirodzene vyskytujú v mliečnych výrobkoch, ovocí, zelenine, obilninách či semenách. Aktivita tohto enzýmu je prítomná u všetkých Vertebrates (Leese a Semenza 1973) a zabezpečuje, že tieto zlúčeniny sa v ľudskom organizme stávajú biologicky dostupnými a metabolizovateľnými (Day et al. 2000; Németh et al. 2003).

Glu1749 (s enzýmovou klasifikáciou EC 3.2:1.108) katalyzuje hydrolýzu laktózy. Aktivita enzýmu spočíva v jej štiepení na glukózu a galaktózu, ktoré môžu byť ďalej absorbované črevným epitelom (Zecca et al. 1998). Okrem toho sa podieľa i na rozklade celobiózy, celotriózy, celotetrózy a čiastočne i celulózy, prítomných v potravinách bohatých na vlákninu, akými sú ovocie a zelenina, strukoviny, orechy či semenka (Leese a Semenza 1973; Troelsen 2005).

3.2 Laktózová intolerancia

Hladina laktázy dosahuje svoj vrchol tesne po narodení, kedy slúži ako podpora výživy dojčiat na materskom mlieku. S postupom času od pôrodu jej produkcia klesá, často až na menej než 10 % pôvodnej aktivity (Vandenplas 2015). Tento pokles je evolučne považovaný za rodový znak cicavcov, keďže znižovanie hladiny laktázy nastáva prirodzene po odstavení od kojenia (Sebastio et al. 1989).

Laktózová intolerancia (LI), je teda definovaná ako bežný stav navodený hypolaktáziou, tj. nízkou hladinou laktázovej aktivity (Vandenplas 2015).

3.2.1 Klasifikácia LI

Popisované sú tri typy laktózovej intolerancie – vrodená, primárna a sekundárna.

Prvý typ je vzácny a je spôsobený vrodenu laktázovou deficienciou (niekedy nazývaná i dojčenská hypolaktázia), jedná sa o autozomálne recesívny defekt identifikovaný na lokuse 2q21. Defekt sa prejavuje symptómami krátko po narodení – v priebehu prvého roku života, kedy dojčatá vykazujú len čiastočnú schopnosť absorpcie mliečnych cukrov, čo môže viesť až k rozvoju kolík (Vandenplas 2015).

Primárna laktázová intolerancia s neskorým nástupom (nazývaná aj ako dospelý typ laktózovej malabsorpcie alebo laktázová nonperzistencia (De Vrese et al. 2001)) je autozomálne recesívny stav, charakteristický postupnou redukciou aktivity laktázy (popísané vyššie). Tento stav je pre väčšinu cicavcov fyziologický a nenastáva pred druhým rokom života (Keusch et al. 1969; Tadesse et al. 1992), pričom najčastejšie sa manifestuje vo veku 5 – 6 rokov (De Vrese et al. 2001). Znižovanie aktivity laktázy je výrazne ovplyvnený etnicitou a u pôvodných európskych populácií k nemu často nedochádza skôr ako v puberte ((De Vrese et al. 2001; Sahi et al. 1983). Naopak, v populáciách Číňanov a

Japoncov dochádza k 80 – 90% strate aktivity už 3 až 4 roky po odstavení. U iných ázijských etník a Židov proces môže trvať aj niekoľko rokov pri zachovanej 20 – 30% pôvodnej aktivite (Matthews et al. 2005).

I napriek poklesu aktivity sú osoby s laktózovou intoleranciou schopné stráviť určité množstvo laktózy bez prejavu symptómov. Bežne tolerovaná dávka sa zvyčajne pohybuje okolo 9 – 12 g laktózy, čo zodpovedá približne 200 ml kravského mlieka (Johnson et al. 1993). Tento stav, pred nástupom symptómov, je možné definovať ako laktázová malabsorpcia (De Vrese et al. 2001).

Sekundárna hypolaktázia je strata expresie laktázy vyvolaná v dôsledku hormonálnej disbalancie či častejšie gastrointestinálnym ochorením, nepriaznivo vplývajúcich na črevné mikrokľky, a tým pádom i produkciu laktázy, pričom po odznení choroby je možný návrat k plne-funkčnosti (a niektoré aj nenávratne) (Matthews et al. 2005). Medzi príklady ochorení patria gastroenteritídy, celiakia alebo zápalové ochorenia čriev, akou je napríklad Crohnova choroba (Usai-Satta et al. 2012).

Podobne ako LI môže pôsobiť i alergia na mlieko, ktorá ale nesúvisí s expresiou laktázy, ale je imunitnou odpoveďou tela na komponenty prítomné v ľudskom či kravskom mlieku (zhrnuté v Ségurel a Bon 2017).

3.2.2 Symptómy LI

Faktormi vplývajúcimi na trávenie laktózy sú okrem samotnej aktivity laktázy už spomínané etnické zaradenie, ale i vek, prípadne pohlavie, množstvo prijatej laktózy a látky prijaté súčasne s ňou (efekt jedla), ďalej taktiež rýchlosť vyprázdňovania, tj. čas, za ktorý prejde natrávenina tráviacim traktom a v konečnom dôsledku i ich interakcia (Scrimshaw a Murray 1988).

Symptómy laktózovej intolerancie sú teda značne heterogénne a závisia hlavne od množstva požívanej laktózy a citlivosti jedinca, pričom mechanizmy stále nie sú úplne známe. Problém spočíva v neabsorbovanej laktóze, ktorá je baktériami kolónu, časťou hrubého čreva, fermentovaná za vzniku plynov – oxidu uhličitého, vodíku a metánu a krátkych mastných kyselín – maslovej a propiónovej (Matthews et al. 2005). Výsledkom sú bolesti brucha, kŕče, plynatosť, borborygmi (zvuky škvíkania) a nafukovanie, prípadne zápchy. Prítomnosť krátkych mastných kyselín a kyseliny mliečnej zvyšuje osmotickú

sekréciu vody, spôsobuje dilatáciu a zrýchlenie tranzitu tenkým črevom. V kolóne stimuluje absorpciu vody a sodíkových iónov, taktiež naruša peristaltiku hrubého čreva, čo ústi vo vodnaté hnačky, nevoľnosť a zvracanie (Christopher a Bayless 1971; Pimentel et al. 2006; Vesa et al. 2000).

Menej známymi sú systematické symptómy – bolesti a točenie hlavy, strata koncentrácie a dlhodobá únava, bolesti svalov, kĺbov, opuchy, alergie (ekzémy, astma, rinitídy) či dokonca sa uvádza srdcová arytmia, vredy v ústach, bolesti hrdla a zvýšená mikcia (Matthews et al. 2005; Treudler et al. 2002).

3.2.3 Stanovenie LI

Prostriedkami na stanovenie laktózovej malabsorpcie sú vodíkový dychový test na laktózu (*lactose hydrogen breath test*, HBT), krvný test tolerancie laktózy (*lactose tolerance blood test*, LTT), biopsia duodea či menej využívaný rozbor stolice (Arola 1994). Dnes na trhu existuje viacero komerčných firiem ponúkajúcich i genetické vyšetrenie, v našich geografických podmienkach zamerané na analýzu DNA polymorfizmov -13 910C/T a -22 018G/A v géne *LCT* (Rasinpera 2004).

HBT je rýchlou a neinvazívnou metódou určenia laktózovej malabsorpcie. Testu predchádza hladovanie po dobu 3 až 6 hodín, v závislosti od veku dieťaťa (8 v prípade dospelých), orálne požitie 50 g laktózy rozpustenej vo vode (ekvivalent 1 litra kravského mlieka) a následne dochádza k odberu vzoriek v intervale minimálne 30 minút po dobu 1 – 3 hodín a stanoveniu hladiny vodíku vo výdychu (Arola 1994). Ten sa do dychu dostáva z čriev prostredníctvom krvného obehu (Levitt 1969). O malabsorpcii je možné hovoriť, ak dochádza k nárastu vodíka o 20 ppm nad prahovú hodnotu (Gasbarrini et al. 2009; Kerber et al. 2007). I napriek pomerne vysokej špecifite a senzitivite test poskytuje falošne negatívne výsledky v rozmedzí 2,5 až 15 % (8 % (Mulcare et al. 2004)) a falošne pozitívne okolo 5 %, zapríčinené neprítomnosťou mikrobiot schopných produkovať vodík. Vplyv na presnosť testu má i užitie antibiotík, ktoré redukuje množstvo mikrobiot alebo zvýšená produkcia metánu, redukujúceho koncentráciu vodíka (Myo-Khin et al. 1999; Vernia et al. 2003).

LTT test sleduje koncentráciu glukózy v krvi, ktorá v dôsledku malabsorpcie narastá a diagnostickou hodnotou na určenie je hodnota pod 1,12 mmol/l (Bayless et al. 1975). Testu rovnako ako v prípade HBT predchádza hladovanie, následná konzumácia dávky 50 g

laktózy typicky rozpustenej vo vode a odber v pravidelných intervaloch po dobu aspoň 1 až 3 hodín (Sahi et al. 1972).

Ďalšou možnosťou je sledovanie hydrolýzy laktózy prostredníctvom vzostupu hladiny galaktózy v moči po skonzumovaní dávky 50 g laktózy spolu s prídavkom etanolu (Arola et al. 1988; Isokoski et al. 1972).

Biopsia tenkého čreva je najspoľahlivejšou, ale invazívnou metódou stanovenia hypolaktázie (Arola 1994). Spočíva v odbere tkaniva a následnom meraní aktivity laktázy, porovnané s aktivitou ďalších disacharidáz tenkého čreva, ako je napríklad sacharáza, pre vylúčenie možnosti sekundárnej deficiencie disacharidáz (Troelsen 2005) či vzniku straty v dôsledku poškodenia epitelu pri odbere. Výsledok testu je odvodený z pomeru aktivít sacharázy a laktázy (S/L pomer), kde vysoký S/L pomer značí hypolaktáziu a stredná či nízka hodnota indikuje laktázovú perzistenciu (Sahi et al. 1973).

Falošne pozitívne výsledky testov môžu byť vyvolané i phlorizín hydrolázovou aktivitou laktázy využívajúcej phlorizín ako substrát. Ten je prítomný v kôre, koreňoch či stopkách hrušiek, jabĺk, čerešní a ďalších rastlín skupiny *Rosaceae*, ktoré sú súčasťou potravy napríklad i lovcov-zberačov kmeňa Hadza z Tanzánie (Ranciaro et al. 2014; Swallow 2003). Kmeň nemá známu históriu mliečnej produkcie, ale i napriek tomu vykazoval po skúmaní Ranciaro et al. (2014) znaky pretrvávajúcej schopnosti tráviť laktózu na úrovni LTT testu. Okrem toho bol phlorizín kmeňom využívaný ako súčasť liečby proti horúčke a infekčným ochoreniam ako napríklad malária (Ehrenkranz et al. 2005).

3.2.4 Liečba LI

Najrozšírenejším spôsobom zvládania laktózovej intolerancie je diéta – obmedzenie alebo úplné vynechanie laktózy z potravy. Potrebná diéta je značne heterogénna, zväčša však nie je nevyhnutné vynechávať laktózu úplne, vďaka čiastočne pretrvávajúcej funkcii laktázy. Tolerované množstvo laktózy sa môže pohybovať v intervale od 0,5 až 7,0 g bez prejavu symptómov a v závislosti od stupňa malabsorpcie, môže byť bez následkov i skonzumovanie 240 (= 11 g laktózy) až 500 ml mlieka denne (Vandenplas 2015). Nedávne štúdie ukazujú, že je možná i adaptácia a vybudovanie si tolerancie v dôsledku rozvoja črevnej miktoflóry. U jednotlivcov s LI, pravidelne konzumujúcich mlieko, bol pozorovaný nárast kmeňa *Bifidobacterium* (Bonder et al. 2016; Kurilshikov et al. 2021), napomáhajúci rovnováhe črevnej flóry, prevencii abnormálnej bakteriálnej fermentácii zvyškov jedla (O'Mahony et

al. 2005) a zlepšenia využitia laktózy (Kailasapathy a Chin 2000) v dôsledku svojej galaktozidázovej aktivity (Sarkar a Mandal 2016).

Okrem toho je dnes na trhu dostupná široká paleta bezlaktózových produktov, ktoré slúžia ako náhrada. Laktóza sa najčastejšie odstraňuje enzymatickou hydrolýzou pomocou mikrobiálnej β -galaktozidázy, ktorá ju štiepi na glukózu a galaktózu bez zmeny chuti či farby (Matthews et al. 2005). Lepšie tolerovanými sú fermentované mliečne produkty ako jogurty, kefíry a kyslé mlieko, ktoré prirodzene obsahujú tento enzým. Uvoľňovaný do tenkého čreva vo forme žlčových solí, pomáha spomaľovať gastrointestinálny prechod, čím predlžuje svoje pôsobenie v tráviacom trakte a znižuje tak množstvo neštiepenej laktózy (Marteau et al. 1990; Vesa et al. 1997). Zároveň priaznivo pôsobí na mikroflóru kolónu a vo výsledku redukuje senzitivitu na symptómy LI, čím napomáha tráveniu laktózy (De Vrese et al. 2001).

Problémom môžu byť potraviny so „skrytou“ laktózou, teda neoznačením jej prítomnosti na obale. Laktóza sa ako aditívum pridáva do procesovaného mäsa (napr. klobás), priemyselne spracovaných jedál alebo ako agens poskytujúce hnedé sfarbenie chlebom, nealkoholickým nápojom, omáčkam či ležiakom. Dôvodom jej prítomnosti je to, že na rozdiel od glukózy alebo sacharózy, laktóza nie je metabolizovaná kvasnicami, a teda jej prítomnosť v potravine neprodukuje nepríjemnú chuť a vedľajšie produkty ako oxid uhličitý a etanol (Matthews et al. 2005).

Doplnkom k diétnym opatreniam je i užívanie laktázy či už vo forme prášku alebo tekutiny, pred samotnou konzumáciou potravín obsahujúcich laktózu.

3.3 Laktázová perzistencia (LP)

Laktázová perzistencia (LP) či normolaktázia je stav, ktorý v dôsledku pretrvávajúcej expresie laktázy umožňuje trávenie laktózy i dospelým jedincom (Johnson et al. 1974).

To, že aktivita laktázy je u dospelých cicavcov nižšia ako u mláďat je známe už od konca 19. storočia. I napriek tomu boli vysoké hladiny laktázy dospelých ľudí dlhý čas považované za normálny stav a laktázová non-perzistencia ako abnormalita. Dnes je LP v porovnaní s laktózovou intoleranciou pokladaná za mutantný fenotyp.

Schopnosť spracovávať laktózu dospelými jedincami sa vyskytuje v rôznych frekvenciách naprieč ľudskými populáciami a reprezentuje model nedávnej adaptácie ako odpovedi na kultúrny vývoj pastoralizmu (Hollox et al. 2001; Itan et al. 2010). LP je zároveň

klasickým príkladom konvergentnej evolúcie. Demografické deje hrali úlohu v geografickom rozšírení LP a jej variant a intenzita prírodného výberu pre LP je jednou z najsilnejších v ľudskom genóme (Bersaglieri et al. 2004; Enattah et al. 2008; Tishkoff et al. 2007).

V nasledujúcich kapitolách sa podrobnejšie zameriam na opis jednotlivých charakteristík LP.

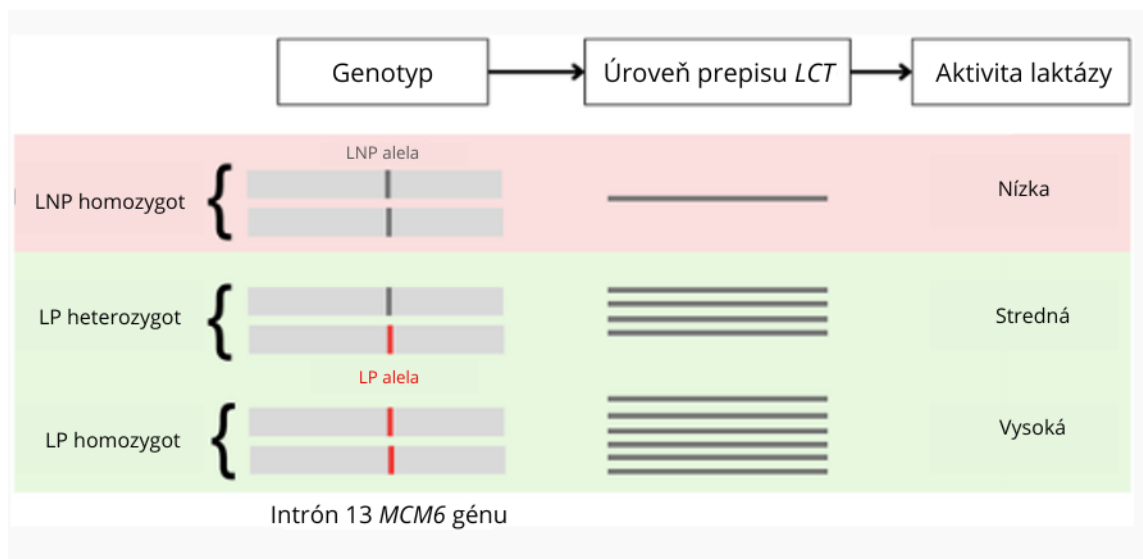
3.3.1 LP – genetická podstata

3.3.1.1 Dedičnosť LP

LP je genetickým polymorfizmom dedeným ako dominantný genetický znak (Sahi 1974; Sahi et al. 1973). Ako už bolo uvedené vyššie, produkcia laktázy je geneticky závislá na génoch lokalizovaných na reverznom vlákne chromozómu 2q21 (dlhý 49 336 bp podľa NCBI NG_008104.2) – na *LCT* géne (*lactase gene*, MIM 603202), ktorého produktom je samotná laktáza a na *MCM6* géne (*minichromosome maintenance complex component 6*, MIM 601806a), ktorý slúži v procese regulácie expsie.

Hoci je LP fenotyp považovaný za binárny znak kódovaný dominantne, aktivita laktázy je kodominantným kvantitatívnym znakom s jasnou trimodálnou distribúciou, tj. v populácii môžeme pozorovať jedincov s vysokou, strednou či nízkou (resp. nulovou) aktivitou laktázy (viď Obrázok 4) (Ho et al. 1982; Wang et al. 1995).

Na prejavenie LP fenotypu je dostačujúca prítomnosť jedného aktívneho laktázového génu (Kuokkanen et al. 2003; Wang et al. 1995). Keďže dospelá hypolaktázia je dedená autozomálne recesívne (Sahi et al. 1973), laktázoví non-perzistenti sú autozomálne recesívni homozygoti, zatiaľ čo laktázoví perzistenti sú buď heterozygoti alebo nesú dominantnú alelu *LCT*P* (viď Obrázok 4) (Swallow 2003). Rozdiely sa prejavajú už na úrovni mRNA, kde sú u non-perzistentov pozorované nižšie hladiny (Fajardo et al. 1994; Rossi et al. 1997). Dominantnosť LP znaku sa prejavuje aj tým, že pre signifikantné trávenie laktózy je dostačujúci polovičný level laktázovej aktivity. Napriek tomu sa i heterozygoti môžu stať fenotypovo non-perzistentnými, ak dôjde k zníženiu enzýmovej kapacity pod kritickú hranicu potrebnú na zvládnutie laktózového zaťaženia – napríklad v dôsledku zvýšenej metabolickej záťaže, stresu endoplazmatického retikula (Llewellyn et al. 1996) alebo patologických stavov (Weiss et al. 1998).



Obrázok 4: Dedičnosť LP (Cohen et al. 2024)

Znak je silne podriadený pozitívnej selekcii (Ingram et al. 2009a). Bersaglieri et al. (2004) na základe analytických metód stanovil, že silná pozitívna selekcia sa objavuje vo veľkom regióne zahŕňajúcom *LCT* gén.

3.3.1.2 Regulácia expresie laktázy

Regulácia laktázovej expresie je vysoko komplexnou záležitosťou a prebieha na viacerých úrovniach. Na bunecnej úrovni závisí od diferenciácie v enterocytoch, na orgánovej úrovni je tkanivovo špecifická a mení sa pozdĺž longitudinálnej osi tenkého čreva. Dôležitou je aj vývojová regulácia, keďže laktázová aktivita dosahuje maxima u novorodencov a postupne klesá počas maturácie čriev, až dochádza k zníženiu jej aktivity v období odstavenia (Rings et al. 1992). Testy Wang et al. (1998) ukázali, že laktázová aktivita a alelická expresia *LCT* ostávajú u malých detí stabilné a menia sa až po ukončení dojčenia.

Štúdie expresie intestinálnych génov uvádzajú, že biosyntéza LPH je primárne regulovaná transkripčnou kontrolou (Fajardo et al. 1994; Wang et al. 1995). Táto regulácia je mimoriadne komplexná (Jensen et al. 2011), pričom transkripčné faktory podieľajúce sa na nej, sa následne zapájajú i v procese bunecnej a tkanivovo špecifickej regulácie expresie laktázy (Troelsen 2005; Wang et al. 1998).

Okrem genetických faktorov novšie štúdie (Cohen et al. 2024) naznačujú aj úlohu epigenetických faktorov v regulácii laktázovej aktivity, pričom tieto procesy by mohli vysvetľovať individuálne rozdiely v schopnosti tráviť laktózu.

3.3.1.3 Genetika LP

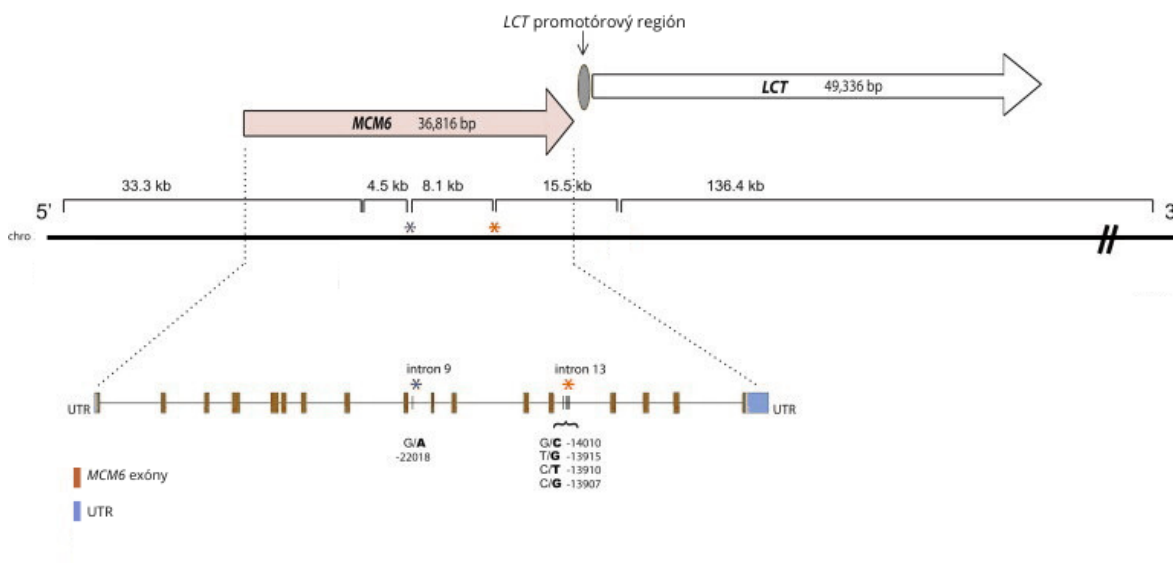
Perzistencia produkcie laktázy v dospelosti je spôsobená *cis*-regulačnými zmenami v *LCT* géne (Wang et al. 1995), teda variantami v regulačných oblastiach génov, zvyčajne nekódujúcich, ktoré ovplyvňujú expresiu tohto génu bez zmeny jeho samotnej sekvencie. Za tento jav sú zodpovedné SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) -13 910*T, -13 915*G, -13 907*G, -14 010*C a -14 009*G (prehľad vid' v Tabuľke 1) (Enattah et al. 2002; Jensen et al. 2011; Jones et al. 2013; Liebert et al. 2016; Tishkoff et al. 2007; Troelsen et al. 2003). Číslovanie týchto polymorfizmov vychádza z ich pozície vzhľadom na začiatok *LCT* génu, pričom záporné hodnoty označujú, že sa nachádzajú pred iniciačným miestom transkripcie. Napríklad -13 910*T znamená, že táto mutácia sa nachádza 13 910 párov báz pred začiatkom transkripcie *LCT* génu.

Tabuľka 1: Prehľad LP asociovaných variant. SNP ID či rs číslo predstavuje referenčné číslo polymorfizmu a fyzická poloha polymorfizmov na chromozóme 2 je uvedená podľa najnovšej verzie referenčného genómu GRCh38. Hviezdičkou sú označené varianty, ktorých asociácia s LP bola polemizovaná, ale nepreukázaná (podľa Priehodová 2017 – upravené)

LOKUS	ANCEST. ALELA	ODVOD. ALELA	SNP ID (rs)	GRCh38	ZDROJ
-14010	G	C	rs145946881	135851176	Tishkoff et al. (2007)
-14009	T	G	rs869051967	135851175	Ingram et al. (2007), Tishkoff et al. (2007), Jones et al. (2013)
-13915	T	G	rs41380347	135851081	Ingram et al. (2007), Tishkoff et al. (2007), Imtiaz et al. (2007)
-13910	C	T	rs4988235	135851076	Enattah et al. (2002)
-13907	C	G	rs41525747	135851073	Tishkoff et al. (2007), Ingram (2008)
-22018*	G	A	rs182549	135851073	Enattah et al. (2002)
-14028*	T	C	rs759157971	135851194	Tishkoff et al. (2007)
-13914*	G	A	rs773131166	135851080	Ingram et al. (2007)
-13913*	T	C	rs41456145	135851079	Ingram et al. (2007)
-13495*	C	T	rs4954490	135850661	Liebert et al. (2017)
-13603*	C	T	rs56348046	135850769	Liebert et al. (2016)
-13730*	T	G	rs4954492	135850896	Ingram et al. (2009a)
-13779*	G	C	rs527991977	135850945	Ingram et al. (2009a)
-14011*	G	A	rs4988233	135851177	Liebert et al. (2017)
-14107*	C	T	rs574071884	135851273	Torniainen et al. (2009)
-14108*	G	A	rs56150605	135851274	Enattah et al. (2008)

Tieto polymorfizmy sa nenachádzajú priamo v *LCT* géne, ale v už vyššie spomínanej regulačnej oblasti, konkrétne v intróne 13 susedného *MCM6* génu (vid' Obrázok 5). Tu pôsobia ako enhancery, tj. regulačné sekvencie DNA zvyšujúce expresiu cieľového génu,

v tomto prípade *LCT* promótoru, teda špecifickej sekvencie DNA viažucej transkripčné faktory a RNA polymerázu potrebné pre zahájenie prepisu génu do mRNA (Olds 2003; Troelsen et al. 2003).



Obrázok 5: Mapa MCM6 a LCT génov chromozómu 2 a umiestnenia sekvenovaných genómových oblastí a štyroch polymorfizmov (Ranciaro et al. 2014)

Prvou identifikovanou a najviac skúmanou je varianta -13 910*T (Enattah et al. 2002). Štúdie Lewinsky et al. (2005) na Caco-2 bunkách (bunečná línia používaná ako model) ukázali, že prítomnosť ne-ancestrálnej T alely zvyšuje *LCT* promótorovú aktivitu v promótor-enhancer luciferázovom expresnom konštrukte dvakrát tak, ako verzia s pôvodnou -13 910*C variantou. Rovnaký efekt bolo možné pozorovať aj in vivo na myšom modeli (Fang et al. 2012).

Lewinsky et al. (2005) okrem toho identifikoval transkripčné faktory sprostredkujúce *LCT* enhancerovú aktivitu (schematické znázornenie ich väzobných miest v rámci intrónu 13 viď Obrázok 6).



Obrázok 6: Schéma intrónu 13 MCM6 génu s vyznačenými väzobnými miestami pre transkripčné faktory zapojené do regulácie laktázy a LP asociovanými SNPs s ich relatívnymi pozíciami (červené čiary) (Cohen et al. 2024)

Zásadnou je väzba Oct-1 transkripčného faktora (*Octamer-binding transcription factor 1*), ktorý vykazuje silnejšiu väzbu na -13 910*T mutovaný alelu ako na -13 910*C

ancestrálnu (Lewinsky et al. 2005). Aktivácia enhancera je možná len v prítomnosti HNF-1 α (*Hepatocyte nuclear factor-1 α*) transkripčného faktora, s ktorým Oct-1 interaguje (Ishii et al. 2000) a spolu sa viažu na *LCT* promótor (Jensen et al. 2011).

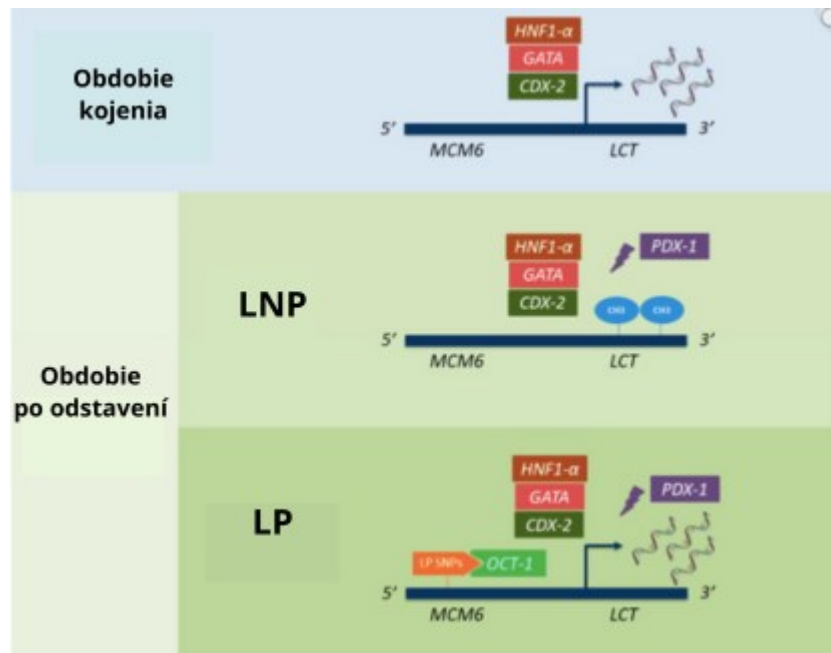
Okrem Oct-1 sa na regulácii podieľajú aj ďalšie transkripčné faktory: GATA-6 (*Gata binding protein 6*), Cdx-2 (*Caudal-related homeobox protein*), HNF-3 α a HNF-4 α (*Hepatocyte nuclear factor-3/4 α*) (viď Obrázok 7). Ich kauzalitu s LP potvrdzuje i fakt, že v prípade mutácie v rámci ich väzobných miest (s výnimkou Cdx-2) brániacej správne navedeniu faktora, dochádza k zmareniu enhancerovej aktivity (Lewinsky et al. 2005).

Výskum ďalších LP asociovaných variant dokázal zvýšenú väzbu Oct-1 transkripčného faktora i pre varianty -13 907*G, -13 915*G, -14 010*C aj -14 009*G (Ingram et al. 2007; Ingram et al. 2009a; Jensen et al. 2011; Jones et al. 2013; Liebert et al. 2016; Tishkoff et al. 2007). Varianta -14 010*C vykazuje podobný efekt väzby ako -13 910*T, avšak podľa EMSA analýzy (*Electrophoretic Mobility Shift Assays*) sa varianta -13 907*G viaže na Oct-1 v omnoho menšej miere a -13 915*G ešte v nižšej (Enattah et al. 2008; C. Ingram et al. 2007). -14 009*G na rozdiel od ostatných variant viaže C-ets-1, avšak mechanizmus zvyšovania enhancerovej aktivity je podobný ako v prípade ostatných variant (Ingram et al. 2009a; Jones et al. 2013; Liebert et al. 2016).

3.3.1.4 Epigenetika LP

Nedávne štúdie naznačujú, že i epigenetické mechanizmy, najmä CpG metylácia (pripojenie metylovej skupiny k cytozínu v dinukleotidových CG sekvenciách), sa podieľajú na perzistencii produkcie laktázy (Labrie et al. 2016; Leseva et al. 2018; Cohen et al. 2024).

Bolo preukázané, že väzba Oct-1 na enhancer v *MCM6* géne môže byť inhibovaná CpG metyláciou (viď Obrázok 7) (Murayama et al. 2006). U novorodencov sú hladiny metylácie nízke, čo umožňuje väzbu Oct-1 a následnú expresiu laktázy, avšak s rozvojom a starnutím organizmu dochádza k hypermetylácii DNA (Kane a Sinclair 2019). Štúdie naznačujú, že kľúčové transkripčné faktory HNF-3 α , GATA-6 a C-ets-1 môžu pôsobiť ako demetylátory regulujúce *LCT* expresiu, pričom LP varianty pravdepodobne bránia vekom indukovanej metylácii intrónu 13 a umožňujú tak väzbu týchto faktorov (Lemma et al. 2022; Suzuki et al. 2022; Cohen et al. 2024).



Obrázok 7: Genetický mechanizmus LP a laktázovej non-perzistencie (LNP) u ľudí. Obdĺžniky znázorňujú transkripčné faktory podieľajúce sa na LP, okrem v texte spomenutých je na obrázku znázornený aj transkripčný faktor Pdx-2, na základe *in vitro* štúdií potvrdený transkripčný represor redukujúci LCT expresiu. Ovály reprezentujú metyláciu v rámci LCT regiónu (Anguita-Ruiz, et al. 2020)

V rámci štúdie Labrie et al. (2016) boli odhalené i ďalšie potenciálne enhancerové oblasti v exóne 16 *MCM6* génu a intróne 2 *LCT* génu, ktoré v dôsledku chromatinového loopingu s *LCT* promótorom navodzujú nízke hladiny metylácie (sprostredkované demetylujúcimi transkripčnými faktormi), čím sa posilňuje enhancerová aktivita intrónu 13 (Labrie et al. 2016; Villicaña a Bell 2021; Cohen et al. 2024).

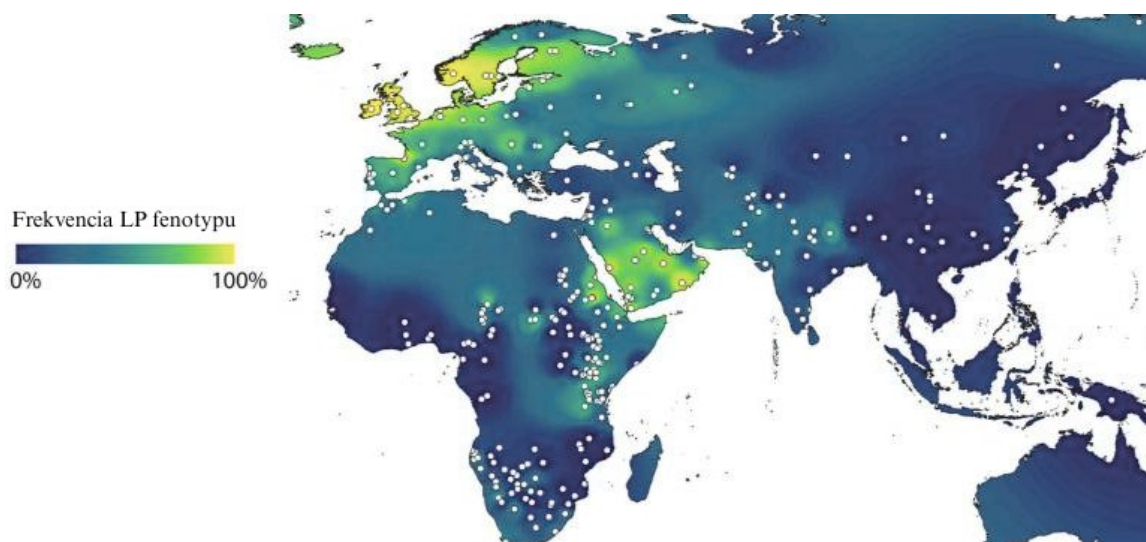
Ďalší výskum týchto regulačných mechanizmov by mohol prispieť k lepšiemu porozumeniu individuálnych rozdielov v schopnosti tráviť laktózu, keďže svoju úlohu môže zohrávať aj variabilita v metylačných vzorcoch, úroveň expresie transkripčných faktorov či interakcia s environmentálnymi faktormi, ktoré spoločne ovplyvňujú, či si jedinec schopnosť trávenia laktózy zachová aj v dospelosti.

3.3.2 LP – rozšírenie

Uvádza sa, že približne jedna tretina svetovej populácie vykazuje LP (Ingram et al. 2009a; Itan et al. 2010; Mulcare et al. 2004). V súčasnosti je známych 5 variant preukázateľne navodzujúcich tento fenotyp (viď predchádzajúca kapitola), ktoré vznikli nezávisle v Európe, Afrike a Ázii v dôsledku konvergentnej evolúcie, čo bolo preukázané na základe rozdielneho haplotypového pozadia. Ich výskyt je geograficky oklieštený (Tishkoff et al.

2007) a frekvencie LP sa významne odlišujú v závislosti od skúmanej populácie, pričom sa pohybujú v rozsahu od 5 až po takmer 100 % (Ségurel a Bon 2017).

Všeobecne vysoká prevalencia LP je na severe Európy, v pastoralistických populáciách Afriky, na Strednom východe (Ségurel a Bon 2017) a severe Indie (Swallow 2003). Nízke frekvencie potom nachádzame v zbytku sveta, pričom v populáciách juhovýchodnej Ázie sú hodnoty nulové (vid' Obrázok 8) (Itan et al. 2010).

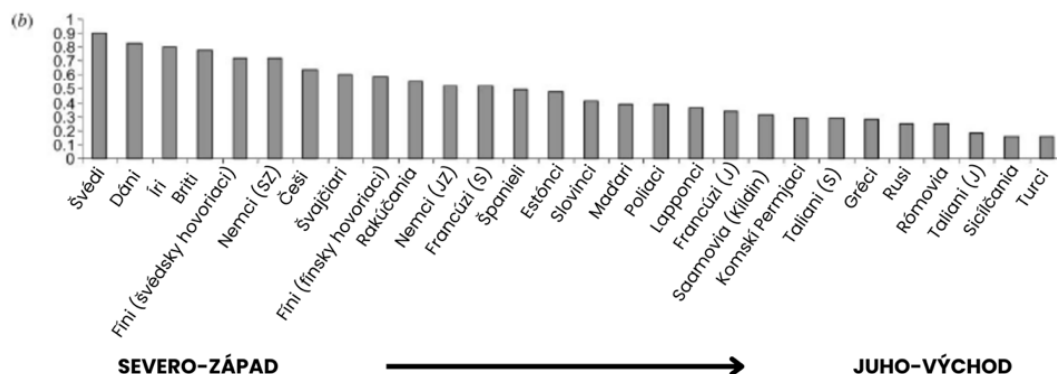


Obrázok 8: Mapa znázorňujúca svetové frekvencie LP Wells et al. (2021)

3.3.2.1 Európa

V Európe je všeobecným trendom vysoká prevalencia LP, zastúpená primárne variantou -13 910*T, označovanou aj ako „európska“ či „euroázijská“. Táto varianta bola prvýkrát identifikovaná v štúdií Enattah et al. (2002) v populácii Fínov a je zrejme najstaršou LP variantou (Itan et al. 2010; Priehodová et al. 2020).

Predpokladaný vznik mutácie je medzi centrálnou Európou a Balkánom cca 7 500 BP (*before present*, pred súčasnosťou) (Bersaglieri et al. 2004; Itan et al. 2009). V súčasnosti má najvyššiu frekvenciu na severozápade Európy, pričom jej výskyt postupne klesá pri posune na juh (tzv. klinálna distribúcia (vid' Obrázok 9)) (Gerbault et al. 2011; Ingram et al. 2009a; Itan et al. 2010). Podľa výsledkov prác Tishkoff et al. (2007) a Ross et al. (2006) boli frekvencie nad 90 % zaznamenané v populáciách Švédska a Fínska. Populácie Dánska, Írska, Spojeného Kráľovstva, či Estónska (Ranciaro et al. 2014), rovnako ako i tie z centrálnej Európy, konkrétne Nemecka, Rakúska, Švajčiarska, Českej Republiky, severného Francúzska a Holandska vykazujú frekvencie vyššie než 75 % (Itan et al. 2010).



Obrázok 9: Európske populácie usporiadané na základe frekvencie LP, ilustrujúce klinálnu distribúciu s poklesom smerom zo severo-západu na juho-východ (Swallow 2003)

I napriek všeobecne vysokému podielu LP v populáciách Švédov (i 91 % (Ross et al. 2006)) existujú výnimky z tohto pravidla. Príkladom sú pastieri sobov Sámi, u ktorých sú v porovnaní so zvyškom Škandinávie pozorované nižšie frekvencie LP, pohybujúce sa medzi 40 – 75 % i napriek vyššiemu podielu závislosti na pastoralizme (60 % u Sámov vs. 30 % u Švédov) (Ross et al. 2006). Tento zdanlivý paradox možno vysvetliť kombináciou faktorov – predovšetkým tým, že domestikácia sobov nastala relatívne nedávno a mlieko sobov bolo v minulosti využívané len obmedzene, pričom zároveň obsahuje podstatne nižšie množstvo laktózy ako kravské mlieko (Muehlhoff et al. 2013; Ross et al. 2006).

Vysoké frekvencie sa vyskytujú i v populáciách s európskym pôvodom akými sú USA, Kanada a Austrália. V USA je možné pozorovať 20% výskyt v rámci belošskej populácie (Scrimshaw a Murray 1988; Vandenplas 2015) (na rozdiel od pôvodných obyvateľov Ameriky, kde je výskyt LP ojedinelý (Itan et al. 2010)).

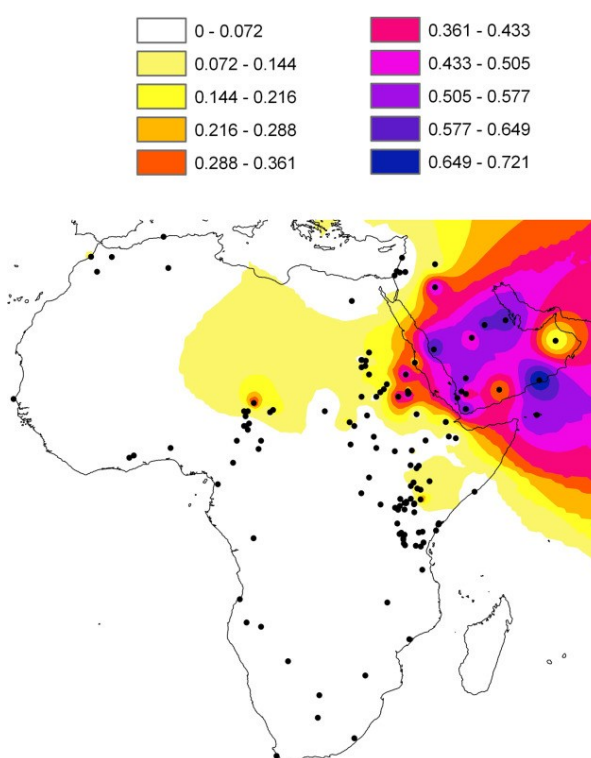
Naopak nižšie frekvencie LP sa nachádzajú na juhu Európy, medzi príklady najnižších patria Turecko (3,1 %) alebo Sicília (8,5 %) (Swallow 2003).

3.3.2.2 Ázia

Keďže región je lokalizovaný na jednej z najstarších obchodných trás – na Hodvábnej ceste, prepájajúcej východnú Áziu s Európou a Blízkym východom, rozšírenie a zastúpenie jednotlivých LP variant je v porovnaní s Európou pestrejšie. K tejto variabilite prispeli i migrácie obyvateľov zo sub-saharskej oblasti Afriky počas posledných 500 rokov (Černý et al. 2008).

Najvyššia frekvencia LP sa vyskytuje na Blízkom východe a Arabskom polostrove, zastúpená hlavne variantou -13 915*G, tzv. „arabskou“ (viď Obrázok 10), ktorej pôvod sa viaže práve na túto oblasť a jej vznik je pravdepodobne dôsledkom domestikácie tiav pred viac ako 6 000 rokmi (Enattah et al. 2008; Peters et al. 1999). Zaujímavá je prítomnosť alely aj u ne-arabsky hovoriacich obyvateľov Sokotry, čo naznačuje, že ostrov osídlili už nositelia tejto varianty približne pred 6 000 rokmi (Černý et al. 2009; Priehodová et al. 2014).

Najvyššie zastúpenie alely je u populácie Beduínov, a to až 86 % (Itan et al. 2010) u Ománcov zo Zufáru so 72% frekvenciou (Al-Abri et al. 2012) či Saudských Arabov s 52 – 65 % (Imtiaz et al. 2007).



Obrázok 10: Frekvencie varianty -13 915*G na Arabskom polostrove a v severovýchodnej Afrike (Priehodová et al. 2017)

Ďalšími alelami vyskytujúcimi sa na tomto území sú alela -13 907*G, rozšírená hlavne medzi nomádskymi Arabmi v Arábii (Ingram et al. 2009b; Ranciaro et al. 2014) či alely -14 010*C a -13 910*T (zastúpená hlavne u Ománcov (Al-Abri et al. 2012; Priehodová et al. 2014)).

V centrálnej Ázii sú frekvencie LP nižšie ako na Blízkom východe a Arabskom polostrove, pričom na tomto území nie je pozorovateľná jasná asociácia výskytu LP s výskytom pastoralizmu, a to i napriek dlhej histórii mliečneho hospodárstva (Heyer et al.

2011). Príkladom je populácia Mongolov, ktorá vykazuje len 12% výskyt LP fenotypu (Wang et al. 1984), pričom táto relatívne nižšia hodnota môže súvisieť s vyššou mierou konzumácie fermentovaných mliečnych produktov, ktoré sú ľahšie stráviteľné, a tým by bol znížený selekčný tlak na LP (Ségurel a Bon 2017). Dominantnou variantou regiónu centrálnej Ázie je -13 910*T s 10% frekvenciou u Tadžiko-Uzbekov a 17% u Kazachov (Heyer et al. 2011).

Naopak sever Ázie, konkrétne Ruska sa prejavuje vyššou prevalenciou LP, s viac ako 70% frekvenciou LP fenotypu (Khabarova et al. 2010).

Čo sa týka Indie, priemerná frekvencie LP je tu 40 %, pričom najrozšírenejšou je opäť alela -13 910*T. Jej výskyt sa však medzi rôznymi populáciami líši – pohybuje sa od 0,8 % u skupín tibeto-burmanskej jazykovej vetvy až po 18,4 % medzi populáciami indo-európskeho pôvodu. Podobne ako v Európe, i tu je možné pozorovať postupný pokles frekvencie LP zo severu na juh (Gallego Romero et al. 2012). Podobná situácia je aj v Pakistane, kde sa frekvencia alely -13 910*T pohybuje medzi je 23 – 36 % (Gallego Romero et al. 2012). -13 910*T v Indii a Pakistane má pravdepodobne, podľa haplotypového pozadia, rovnaký pôvod ako -13 910*T vyskytujúca sa v Európe (Bersaglieri et al. 2004).

V zbytku východnej Ázie sú frekvencie LP všeobecne nízke (Ingram et al. 2009a) a v juhovýchodnej Ázii LP dokonca úplne absentuje (Itan et al. 2010).

3.3.2.3 Afrika

Rozšírenie LP v Afrike je nepravidelné (Ingram et al. 2009a) a v porovnaní s Európou a Áziou vykazuje vyššiu molekulárnu variabilitu LP (Reed a Tishkoff 2006). Najvyššia je pozorovaná vo východnej Afrike, ktorá je zároveň centrom vzniku týchto troch variant: -13 907*G, -14 010*C a -14 009*G, označovaných i ako „východoafrické“ (Itan et al. 2010; Ranciaro et al. 2014; Tishkoff et al. 2007). Genetickú mozaiku dopĺňajú i varianty s pôvodom v Eurázii, a to už zmieňovaná „európska“ -13 910*T varianta (Černý et al. 2018; Lokki et al. 2011; Priehodová et al. 2020; Ranciaro et al. 2014) a „arabská“ -13 915*G varianta (Priehodová et al. 2014). Výsledkom tejto komplexnej histórie a migračných procesov je prítomnosť všetkých dnes známych LP variant na africkom kontinente (Campbell a Tishkoff 2008; Tishkoff et al. 2009). Preto bude výskyt LP v Afrike popísaný podrobnejšie ako v zbytku sveta.

Západná a severná Afrika

V severnej Afrike je najvyššia variabilita LP sústredená v oblasti pásu sahel-savana, kde jazero Čad historicky zohrávalo úlohu hlavného migračného uzla. Tento región slúžil ako dôležitý spojovací koridor medzi západnou a východnou Afrikou (Černý et al. 2011), čím vznikli podmienky pre vznik viacerých mutácií.

Na západe sahelu dominujú Fulbovia, najpočetnejšia etnická skupina regiónu, dnes rozšírená od Guiney až po Modrý Níl v Etiópii a Sudáne. V tejto populácii sa vyskytuje „európska“ LP varianta -13 910*T (Černý et al. 2018) s frekvenciami od 18 do 60 % (Černý et al. 2018; Lokki et al. 2011; Priehodová et al. 2020; Ranciaro et al. 2014). Populácia ju zrejme získala miešaním so severoafrickými populáciami s čiastočným európskym pôvodom (Coelho et al. 2005; Mulcare et al. 2004; Ranciaro et al. 2014; Vicente et al. 2019). Tomu odpovedajú aj vysoké frekvencie -13 910*T, dosahujúce cez 60 % aj v susednej populácii Fulbov – Tuarégov (Itan et al. 2010; Priehodová et al. 2020). Prekvapivo vysoké frekvencie LP fenotypu sa vyskytujú aj v usadlej populácii Serenov zo Senegalu, kde dosahujú hodnôt až 71 % (Itan et al. 2010).

Alela -13 910*T sa v nižších frekvenciách nachádza aj u ďalších populácii regiónu, ako sú Alžírci, Bulala z Čadu (Lokki et al. 2011) či niektoré skupiny v Kamerune (Mulcare et al. 2004). Rovnako tak v Egypte a Tunisku, kde sa frekvencie LP fenotypu pohybujú medzi 15 až 40 % (Itan et al. 2010).

Východná Afrika

Ako už bolo uvedené, východná Afrika v dôsledku svojho pôsobenia ako križovatka migrácií z i do Afriky, vykazuje najvyššiu molekulárnu variabilitu LP a je centrom vzniku týchto troch variant -13 907*G, -14 010*C a -14 009*G. Táto diverzita je obzvlášť výrazná medzi populáciami pastoralistov, u ktorých sa vyskytujú všetky dnes známe LP varianty (Campbell a Tishkoff 2008; Tishkoff et al. 2009).

Prehľad výskytu jednotlivých alel a populácií s ich najvyšším výskytom je uvedený v Tabuľke 2.

Tabuľka 2: Prehľad výskytu jednotlivých LP asociovaných variant v krajinách východnej Afriky s uvedenými populáciami s ich najvyšším výskytom

MUTÁCIA	KRAJINA	POPULÁCIA	ZDROJ
-13915*G	Sudán, Keňa	Rašajdskí Beduíni (76,9 %), Garba (19 %)	Priehodová et al., 2014; Enattah et al., 2008; Ranciaro et al., 2014
-14010*C	Etiópia, Keňa, Tanzánia	Yaaku (53,6 %), Boni (20,8 %)	Tishkoff et al., 2007; Ranciaro et al., 2014
-14009*G	Sudán, Keňa, Somálsko	Beja Banuamir (42,6 %), Gaali (7 %)	Campbell a Ranciaro, 2021; Enattah et al., 2008; Ranciaro et al., 2014
-13907*G	Sudán, Etiópia, Keňa	Afar, Beja Banuamir (25 %), Beja Hadandawa (18,2 %)	Ingram et al., 2007; Ranciaro et al., 2014
-13910*T	Keňa	Fulbovia (nízky výskyt)	Itan et al., 2010; Campbell & Ranciaro, 2021

Výnimky z očakávanej vysokej frekvencie LP možno pozorovať u niektorých pastoralistických populácií, ako sú Herero, Nuer a Dinka z Južného Sudánu, kde chov dobytká predstavuje skôr symbol statusu než zdroj obživy. Okrem kultúrnych faktorov by mohla absenciu genetickej LP kompenzovať adaptácia črevnej mikrobioty (Campbell a Ranciaro 2021).

Naopak sú známe i lovecko-zberačské populácie bez evidencie mliečnej konzumácie s prekvapivo vysokými frekvenciami LP, ako Yaaku z Kene či už spomínaní Hadzovia z Tanzánie (s 50% LP fenotypom) (Ranciaro et al. 2014; Tishkoff et al. 2007). I napriek sekvenčným analýzám sa u Hadzov nepodarilo identifikovať žiadnu LP asociovanú variantu a niektorí autori vysvetľujú tieto vysoké frekvencie epigenetickými procesmi, prípadne prítomnosťou phlorizínov v ich strave, ktorá môže ovplyvňovať metabolizmus laktózy (viď kapitoly 2.1 a 2.2.3) (Ranciaro et al. 2014).

Južná Afrika

V oblasti južnej Afriky sa najčastejšie vyskytujú alely -13 910*T a -14 010*C (Breton et al. 2014). Alela -14 010*C dosahuje vysokú frekvenciu (i viac ako 20 %) v pastoralistickej populácii Khoisanov (Breton et al. 2014) a predpokladá sa, že sa do regiónu dostala migráciou nilo-saharských a afroázijských populácií z východnej Afriky, ktoré sa približne pred 2 400 rokmi zmiešali s miestnymi khoisanskými skupinami (Ranciaro et al. 2014; Scheinfeldt, Soi, a Tishkoff 2010)

Ďalším možným zdrojom alely -14 010*C boli i bantusky hovoriace populácie, ktoré pravdepodobne získali túto alelu predchádzajúcim miešaním s východoafrickými populáciami (Herbert a Huffman 1993; Schlebusch a Jakobsson 2018).

Alela -13 910*T sa v regióne najčastejšie vyskytuje u jedincov so zmiešaným pôvodom (tzv. Wellington Coloured), ktorí majú určitý podiel európskeho dedičstva, napríklad populácia Nama z Namíbie ((Breton et al. 2014).

3.3.3 LP – hypotézy vzniku

Ako preukázala predchádzajúca kapitola, rozšírenie LP a jej frekvencie sú vo svete nepravidelné, čo naznačuje, že schopnosť tráviť laktózu v dospelosti sa vyvinula nezávisle v rôznych populáciách. Predpokladá sa, že súčasné frekvencie sú výsledkom pozitívnej selekcie schopnosti tráviť laktózu bez rizika prejavu symptómov (Bersaglieri et al. 2004; Gallego Romero et al. 2012; Gerbault et al. 2009; Tishkoff et al. 2007).

Selekčný tlak na LP patrí medzi najsilnejšie zaznamenané v ľudskom genóme za posledných 30 000 rokov (Sabeti et al. 2006). Proces prírodného výberu však mohol byť spustený až po nástupe mliečneho hospodárstva. I napriek týmto faktom stále ostáva otázne, aká je selekčná výhoda mliečnej konzumácie a prečo dochádza k rozdielom vo frekvenciách LP. V nasledujúcej kapitole sa zameriam na hlavné hypotézy, snažiac sa objasniť tieto rozdiely.

3.3.3.1 Hypotéza asimilácie vápnika (Flatz&Rotthauwe, 1973)

Hypotéza asimilácie vápnika predpokladá, že selekčná výhoda mlieka spočíva v jeho úlohe dôležitého zdroja vápnika, vitamínu D a laktózy, pričom posledné dve zložky uľahčujú absorpciu vápnika v ľudskom tele. Podľa tejto hypotézy by mlieko poskytovalo selekčnú výhodu predovšetkým populáciám vyšších zemepisných šírok, ktoré v dôsledku prechodu primárne na obilnú stravu značne obmedzili svoje možnosti prísunu vitamínu D z potravy a taktiež sú vystavené len nízkemu UV žiareniu, ktoré stimuluje produkciu vitamínu D v tele (Flatz a Rotthauwe 1973).

I keď hypotéza spoľahlivo vysvetľuje prítomnosť LP v Európe, kde je v severne situovaných populáciách so svetlejšou pigmentáciou možné pozorovať nižšiu produkciu vitamínu D v dôsledku slabšieho UV žiarenia (tzv. klinálna distribúcia) (Gerbault et al.

2009), nevysvetľuje výskyt LP v Afrike a na Blízkom východe, kde je UV žiarenie dostatočne vysoké (Leonard a Crawford 2002).

3.3.3.2 Kultúrne-historická hypotéza (nezávisle Simoons 1969,1970 a McCracken 1971)

Kultúrne-historická hypotéza tvrdí, že genetický znak LP vznikol ako adaptácia na kultúrne prostredie – pastoralistický životný štýl a s ním spojenú mliečnu konzumáciu (McCracken 1971; Simoons 1969, 1970). V rámci hypotézy by sa populácie, ktoré síce chovajú dobytok, ale nevyužívajú z neho mlieko (napr. populácie Číny a juhovýchodnej Ázie (Simoons 1970) nemali prejavovať vysokou frekvenciou LP (Simoons 1979).

Na testovanie tejto hypotézy boli vytvorené viaceré evolučné modely simulujúce vývoj LP, pričom bola skúmaná selekcia samotného LP znaku (Bodmer a Cavalli-Sforza 1976), ale i jeho ko-evolúcia s kultúrnou praxou pitia mlieka (Aoki 1986). Hoci Aokiho (1986) modely ukázali neúplnú koreláciu medzi LP a mliečnou konzumáciou, stále môžu poskytovať podporu hypotézy. Presvedčivejšie dôkazy poskytli Holden a Mace (1997), ktoré fylogenetickou analýzou populácií celého sveta prišli k záveru, že pastoralizmus vysvetľuje väčšinu výskytu LP v dnešnom svete. Beja-Pereira et al. (2003) navyše preukázali geografickú zhodu medzi vysokou diverzitou v génoch pre dobyčie mlieko, lokáciami európskych neolitických farmárov dobytku (> 5 000 rokov dozadu) a dnešnými LP Európanmi.

Hlavnou námietkou voči tejto hypotéze je otázka, či a prečo (ak vôbec) by mala mať schopnosť konzumovať mlieko takú selekčnú výhodu a rozhodujúci efekt na fitness (Flatz a Rothauwe 1971; Gerbault et al. 2011).

Mlieko síce obsahuje dôležité živiny, ale i laktózovo intolerantné osoby môžu mať benefit z proteínov a tukov prostredníctvom mliečnych produktov, ktoré majú nižší obsah laktózy, prípadne sú schopné znášať určité množstvo laktózy bez prejavu symptómov (Scrimshaw a Murray 1988). Príkladom sú non-perzistentní Somálčania z Etiópie, u ktorých bola zaznamenaná konzumácia signifikantného množstva čerstvého mlieka (i viac než 500 ml), bez zjavných nepriaznivých efektov, čo by značilo adaptáciu bakteriálnej flóry čreva na trávenie laktózy (Ingram 2008).

Jedným z argumentov v prospech selekčnej výhody konzumácie mlieka je, že mohlo tvoriť 30 % kalorického príjmu u vtedajších konzumentov, čo by výrazne zvýhodňovalo

jedincov s LP oproti intolerantným. Flatz a Rotthauwe (1971) však namietajú, že vtedajšie populácie mali dostatok iných zdrojov sacharidov, takže takýto tlak na kalorický prísun bol pravdepodobne zanedbateľný. Ďalší autori tvrdia, že mlieko mohlo byť kľúčovým zdrojom vody a živín počas období sucha a hladomorov, no nepriaznivé podmienky zároveň obmedzujú produkciu mlieka, čím sa oslabuje tento argument (Bernus 1988; Gerbault et al. 2011).

3.3.3.3 *Hypotéza arídneho prostredia (Cook&Al-Torki 1975, Cook 1978)*

Podľa hypotézy arídneho prostredia sila selekčného tlaku konzumácie mlieka spočíva v tom, že pôsobí ako nekontaminovaný zdroj vody a elektrolytov. To by predstavovalo značnú výhodu pre populácie obývajúce suché, arídne oblasti (i napríklad potýkajúce sa s cholerou), akými sú i populácie Afriky a Arábie (Cook a Al-Torki 1975). Obzvlášť výhodná by bola pre kočovné kmene (primárne Beduínov), ktoré mali počas transportov karavány značne obmedzený prístup k pitnej vode a spoliehali sa hlavne na konzumáciu ťavieho mlieka (Priehodová et al. 2014).

Táto hypotéza, spolu s hypotézou asimilácie vápnika, ale vysvetľuje výskyt LP len v určitých regiónoch.

3.3.3.4 *Hypotéza akcelerácie rastu (Wiley 2018)*

Jednou z novších hypotéz vysvetľujúcich vznik LP ponúka hypotéza akcelerácie rastu. Tá tvrdí, že konzumácia mlieka po detstve prispieva k zvýšeným hladinám rastového hormónu IGF-1 (*insulin-like growth factor I*), čo môže podporovať akceleráciu rastu a skoršiu sexuálnu maturáciu (Wiley 2018). Wells et al. (2021) hypotézu rozšíril ďalej a tvrdí, že LP v kombinácii s konzumáciou mlieka mohla urýchliť rast skeletu, vrátane panvy, po odstavení, čo by mohlo prinášať výhodu najmä v prostrediach, kde došlo k zhoršeniu ekologických podmienok. V takýchto podmienkach by jednotlivci schopní rýchlejšie dosiahnuť adekvátnu výšku a rozmery panvy mohli znížiť riziko obštrukčného pôrodu a tým aj úmrtnosti matiek.

I napriek tomu, že každá z hypotéz ponúka dôležitý pohľad na vývoj LP, žiadna z nich sama o sebe nedokáže uspokojivo vysvetliť celosvetové rozšírenie tejto adaptácie a na komplexné vysvetlenie LP vo svete bude zrejme potrebná integrácia viacerých hypotéz.

Na základe výsledkov analýz Holden a Mace (1997) sa dá konštatovať, že dáta sú v súlade najmä s kultúrno-historickou hypotézou, keďže LP frekvencie signifikantne korelujú s pastoralizmom a nie s ďalšími dvoma faktormi. Potvrdením sú i výsledky práce Itan et al. (2009), ktoré nepreukázali, že by bol selekčný tlak na LP silnejší v oblastiach vyšších zemepisných šírok v porovnaní s nižšími. Gerbault et al. (2009) naopak tvrdí, že najpravdepodobnejším scenárom v Európe je démická difúzia farmárstva spolu s výhodou asimilácie vápnika vo vysokých zemepisných šírkach, zatiaľ čo v Afrike je preferovanou kultúrno-historická hypotéza.

3.3.4 LP – historicko-kultúrny kontext

Hoci konkrétne výhody konzumácie mlieka ešte nie sú jednoznačne objasnené, najpravdepodobnejším scenárom vzniku LP – minimálne v Afrike, na ktorú sa táto práca primárne zameriava – je jej vývoj ako adaptácie na pastoralistický životný štýl, úzko spätý s konzumáciou mlieka. Tento proces si však vyžadoval zásadnú kultúrnu zmenu – prechod k mliečnemu hospodárstvu. Nasledujúca kapitola sa preto venuje mechanizmom, ktoré umožnili vznik a rozšírenie pastoralizmu, čím vytvorili selekčný tlak na vývoj LP.

3.3.4.1 Neolitická tranzícia

Vznik LP bol historicky umožnený v dôsledku neolitickej tranzície. Neolitizácia je kultúrny proces prechodu z paleoliticko-mezolitického semi-nomádskeho životného štýlu s ekonomikou založenou na lovečstve-zberačstve na neolitickú sedentárnu kultúru, ktorej dominantou je agrikultúra a domestikácia zvierat (Childe 1953; Leonardi et al. 2012). Tranzícia bola spojená i s komplexnou zmenou sociálneho správania a usporiadania, rozvojom nových ekonomických stratégií a technických inovácií, ktoré viedli k štruktúrovanejšej spoločnosti. Začiatok procesu je datovaný do obdobia 12 000 BP prvýkrát v oblasti Blízkeho Východu a Anatólie, odkiaľ sa následne šírila na Stredný Východ, Kaukaz, do Európy a Afriky (Leonardi et al. 2012).

3.3.4.2 Domestikácia

Neolitická tranzícia úzko súvisí s procesom domestikácie, teda procesom pretvárania divokých druhov na druhy vhodné na chov. Jej počiatok je možné lokalizovať v regióne

medzi pohoriami Zagros a Taurus, pravdepodobne v údolí Stredného Eufratu, kde sa prvé zdomácnené druhy, kozy a ovce, objavili približne 11 000 BP, zatiaľ čo dobytok a prasatá približne o 500 rokov neskôr (Peters et al. 1999). V období okolo 9 000 BP bola už domestikácia rozšírená vo väčšine Blízkeho a Stredného Východu, ako i v Anatólii (Phillipson 1993; Vigne et al. 1999) až do oblasti dnešného Grécka a Balkánu po 8 400 BP (Itan et al. 2009).

Predpokladá sa, že domestikácia kopytníkov ovce (*Ovis aries*) a kozy (*Capra hircus*) prebehla na severe Úrodného polmesiaca, pričom ich najbližšími divokými príbuznými boli orientálny muflón (*Ovis orientalis*) a bezoárová koza (*Capra aegagrus*) (Leonardi et al. 2012; Vigne et al. 2005). Z juhozápadnej Ázie sa tieto domestikované druhy rozšírili do severnej Afriky dvoma trasami: buď z Levanty severným pobrežím Afriky zo Sinaja ku delte Nílu alebo lodnou cestou z Arabského polostrova cez prieliv Bab-el Mandeb. Ovicapridi (spoločný názov pre ovce a kozy) sa teda stávajú prvým typom domestikácie v oblasti severnej Afriky a spolu s nimi došlo i k rozšíreniu neolitických inovácií, preto sa tento prechod označuje i ako neolitická expanzia (Hanotte et al. 2002; Newman 1995; Phillipson 1993).

Zrejme významnejšou domestikačnou udalosťou v kontexte vzniku LP, bolo zdomácnenie dobytky a genetické dáta ukazujú, že došlo k minimálne 2 nezávislým domestikáciám dobytky. Prvá domestikačná udalosť viedla k vzniku dnešného tura domáceho – *Bos taurus*, ktorý bol zdomácnený z tura divokého *Bos primigenius primigenius* v oblasti Úrodného polmesiaca (Blízky východ) pred viac ako 10 000 rokmi. Išlo zároveň o prvý v Afrike predstavený druh dobytky, rozšíreným prevažne v západnej časti kontinentu (Bruford et al. 2003).

Druhá, nezávislá domestikácia, prebehla v oblasti údolia Indu (dnešný Pakistan) pred viac ako 8 000 rokmi, kde sa z tura *Bos primigenius nomadicus* vyvinul *Bos indicus*, známy ako hrbatý zebu (Bradley et al. 1998; Loftus et al. 1994). Do Afriky bol predstavený v období pred 3 000 – 4 000 rokmi a je rozšírený vo východnej Afrike, v trávnatých oblastiach Kene a Tanzánie, hlavne kvôli jeho odolnosti voči kliešťom (Bruford et al. 2003; Hanotte et al. 2002). V súčasnosti oba druhy dobytky na africkom kontinente vykazujú vysoký level miešania, najmä v dôsledku introgresie zebu primárne cez samčiu líniu (Bradley et al. 1998).

Niektoré hypotézy však naznačujú, že najstaršie nálezy domestikácie dobytká pochádzajú zo samotnej Afriky, z oblasti pohoria Acacus v Lýbii a z regiónu Nabta-Keseiba v južnom Egypte, datované do obdobia 7 000 – 8 000 BP a 6 500 – 7 000 BP a predstavujú tak tretiu, nezávislú domestikáciu udalosť (Gifford-Gonzalez a Hanotte 2011).

3.3.4.3 Revolúcia druhotných produktov

Len samotná prítomnosť dobytká nestačila na vytvorenie selekčného tlaku pre rozvoj LP a významným míľnikom bol proces Revolúcie druhotných produktov (Sherrat 1983), teda využívanie produktov získaných za života domestikovaného zvieratá, akými sú napríklad vlna, mlieko či využitie zvierat na prácu.

Hoci domestikácia oviec a kôz v juhozápadnej Ázii sa datuje približne 8 000 BP (Uerpmann 1989). Sherrat (1983) verí, že využívanie sekundárnych produktov sa objavilo až o 1 – 2 tisícročia neskôr. Novšie výskumy však tento názor vyvracajú a poukazujú na to, že praktizovanie mliečneho hospodárstva mohlo byť bežným už oveľa skôr. Vigne a Helmer (2007) na základe vekovo-pohlavných profilov zvierat z archeologických nálezísk (tzv. mortalitných či *kill-of* profilov) datujú využívanie mlieka už do obdobia okolo 9 000 BP v oblasti Blízkeho východu. Vigne (2008) dokonca poukazuje na to, že už približne pred 10 500 rokmi bolo pri živote udržiavaných viacero samíc kvôli dojeniu a tvrdí tak, že mliečne hospodárstvo bolo praktizované už u skorých neolitických populácií, ešte predtým, ako sa LP stala bežnou.

Ďalšie dôkazy poskytli analýzy rezíduí mastných kyselín a mliečneho tuku na keramike z nálezísk v severozápadnej Anatólii (dnešné Turecko), ktoré dokladujú spracovanie mlieka už pred 8 500 rokmi (Evershed et al. 2008). Na základe nálezov keramiky z Chorvátska bolo využívanie mlieka na juhu Európy spoľahlivo dokázané 7 200 BP (McClure et al. 2018).

Pomocou LC-MS/MS (kvapalinová chromatografia spojená s tandemovou hmotnostnou spektrometriou) analýzy proteínov zubného kameňa z nálezísk východnej Afriky bol najstarší dôkaz mliečnej konzumácie zaznamenaný v Sudáne 6 000 BP a v Keni boli mliečne proteíny zaznamenané v období 3 600 BP. Tieto zistenia sú v súlade s kultúrno-historickou hypotézou, keďže ukazujú, že kultúrna prax mliečnej konzumácie vznikla skôr ako genetická adaptácia (Bleasdale et al. 2021).

3.3.4.4 Objav pastoralizmu v Afrike

Africký pastoralizmus vznikol v oblasti dnešnej saharskej púšte a priľahlom trávnom území sahelu, kde podnebie prešlo v holocéne dramatickými zmenami. Africký pastoralizmus sa primárne spája s chovom hovädzieho dobytku. Ten sa objavil ešte pred rozvojom poľnohospodárstva a rané komunity kombinovali lovecko-zberačské stratégie s chovom zvierat alebo sa venovali nomádkemu pastoralizmu (Marshall a Hildebrand 2002). Tento spôsob života sa prispôbil sezónnym zmenám podnebia Afriky, pričom skupiny sa presúvali naprieč veľkými územiami medzi trávnatými pastvinami podľa potrieb svojho dobytku (Leonard a Crawford 2002).

Počas posledného glaciálneho maxima (*last glacial maximum*, LGM, 21 000 rokov dozadu) bola Sahara výrazne vysušená (Maley et al. 1993), no v období okolo 14 000 BP došlo k výraznému klimatickému obratu. Radikálny nárast zrážok od oblasti centrálnej Sahary po juh rovníka, viedol k expanzii vegetácie a k premene Sahary z púšte na savanu. Spolu s tým došlo i k výraznému zväčšeniu vodných plôch, ako bolo jazero Čad alebo rieka Níl (Grove 1997). Toto obdobie označované ako tzv. „Zelená Sahara“, vytvorilo priaznivé ekologické podmienky pre prvé skupiny chovateľov zvierat – pastoralistov (Gifford-Gonzalez 2005; Hanotte et al. 2002).

Rozšírenie pastoralizmu ovplyvnila migrácia populácií z oblasti Blízkeho východu počas Afrického vlhkého obdobia (*African Humid Period*, AHP) približne pred 6 500 až 7 400 rokmi. Títo migranti priniesli chov dobytku do severnej Afriky, odkiaľ sa rozšíril smerom do centrálnej časti kontinentu (Dunne et al. 2018; Jesse et al. 2013). Dôkazom mobilného pastoralizmu v tomto období je populácia južnej Líbye, ktorá došla svoje hospodárske zvieratá už v období 7 000 BP a presúvala sa naprieč „Zelenou Saharou“ (Phelps et al. 2020).

Približne pred 5 500 rokmi sa začal proces finálnej aridifikácie Sahary (Dunne et al. 2018; Kuper a Kröpelin 2006), ktorý viedol k postupnému posunu pastoralistických skupín zo severu na juh v pomerne dlhom časovom intervale 5 000 rokov (Kuper a Kröpelin 2006). Archeologické dôkazy naznačujú, že nomádski pastoralisti prišli do oblasti sahelu z oblasti severovýchodnej Sahary (Magrheb a vnútrozemie Nílu) približne pred 5 000 rokmi (Garcea 2004; Kuper a Kröpelin 2006; Marshall a Hildebrand 2002), pričom údolie rieky Níl pôsobilo ako koridor medzi severnou a východnou Afrikou pre šírenie neolitických inovácií (Newman 1995). Posun podporujú i nálezy pochádzajú aj z Čadu a Sudánu (Jesse et al.

2013). Podľa archeologických údajov sa pastoralizmu nerozšíril z juhu Sahary do severnej Kene skôr ako pred 4 500 rokmi a do južnej Kene a severnej Tanzánie pred 3 300 rokmi (Gifford-Gonzalez a Hanotte 2011).

Migrácia pokračovala ďalej smerom na juh a západ, pričom okolo 2 500 sa pastierske skupiny rozšírili pozdĺž údolia Nigeru (Gifford-Gonzalez a Hanotte 2011; Jesse et al. 2013). Na základe Y-chromozomálnej analýzy (skúmajúcej genetickú informáciu prenášanú mužskou líniou) Henn et al. (2008) tvrdí, že rozšírenie pastoralizmu na juh Afriky bolo spojené s migráciou východo-afrických pastoralistov približne pred 2 000 rokmi. Tieto migrácie predchádzali príchodu bantusky-hovoriacich poľnohospodárov (cca 1 500 BP) a naznačujú, že Bantu pravdepodobne neboli prví, ktorí do oblasti priniesli pastiersky spôsob života.

3.4 Východná Afrika

Východná Afrika je považovaná za jedno z centier vzniku moderného človeka, kdeže je miestom nálezov jedných z prvých dnes známych moderných ľudských fosílií a predpokladaného zdroja migrácie *Out of Africa* (Newman 1995; Tishkoff et al. 2009).

Geograficky zahŕňa Somálsky polostrov, známy aj ako Roh Afriky, do ktorého patria Etiópia, Eritrea, Džibutsko a Somálsko, a v širšom zmysle i časti Kene, Sudánu, Južného Sudánu a Ugandy

Východná Afrika patrí medzi geneticky a lingvisticky najdiverzifikovanejšie regióny sveta, k čomu zrejme značne prispieva jeho poloha predstavujúca dôležitý bod stretu severnej a sub-saharskej Afriky, Arábie a juhozápadnej Ázie. Táto diverzita sa samozrejme odráža i v zastúpení variant asociovaných s LP, ako už bolo uvedené v kapitole 2.3.2. V tejto kapitole sa preto budem snažiť predstaviť jednotlivé etniká a populácie východnej Afriky a taktiež objasniť vzťahy medzi nimi.

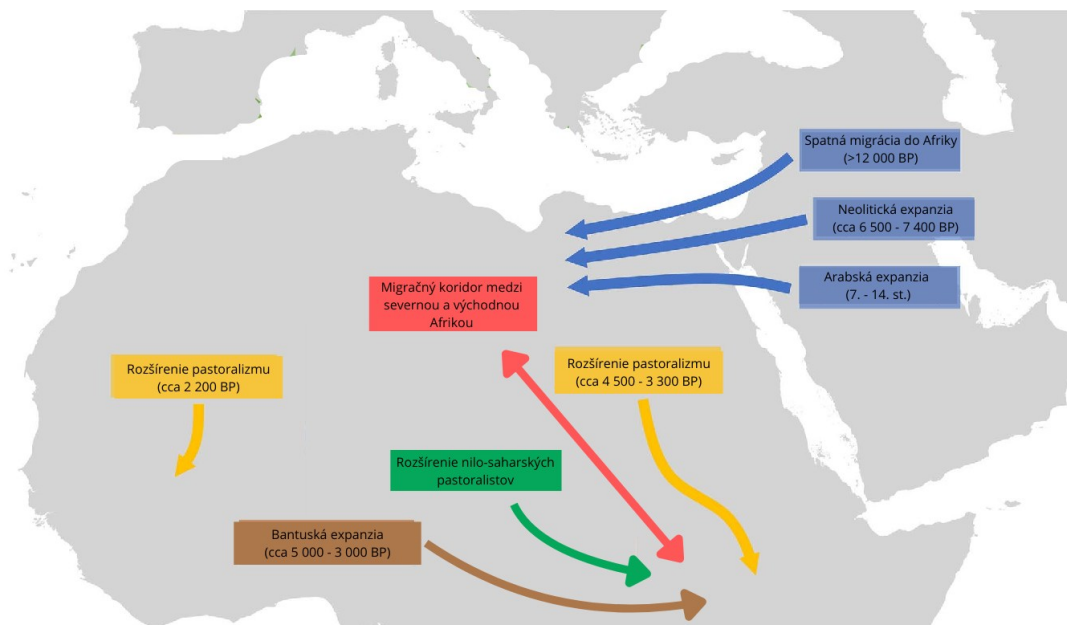
3.4.1 Genetická a jazyková diverzita východnej Afriky

Dlhodobá prítomnosť človeka spolu s environmentálnou variabilitou a migračnými procesmi prispela k vzniku komplexnej genetickej štruktúry populácií východnej Afriky (Boattini et al. 2013). V tomto regióne sa vyskytujú vysoké frekvencie pôvodne afrických mtDNA haploskupín L3 a L2, ako i haploskupín M1a a U6, ktoré sú výsledkom spätných

migrácií z Eurázie do Afriky (Kivisild et al. 2004; Poloni et al. 2009). Tieto haploskupiny predstavujú genetické línie odovzdávané výlučne po ženskej línii, teda z matky na deti. Rovnako významné sú aj Y-haploskupiny – genetické markery na Y chromozóme, ktoré sa prenášajú po otcovskej línii a mapujú mužský pôvod. Najstaršia Y-haploskupina (A) bola identifikovaná u východných Sudáncov, Etiópcanov a khoisanských populácií na juhu Afriky (Semino et al. 2002).

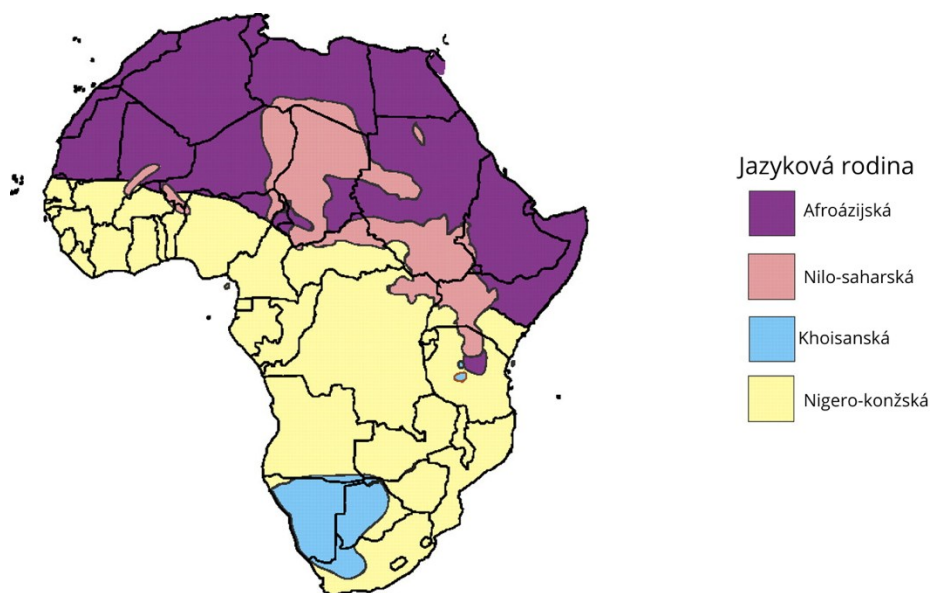
Genetickú štruktúru regiónu výrazne ovplyvnili početné ľudské migrácie, pričom Etiópia sa javí ako hlavné centrum týchto pohybov (pre prehľad migrácií v rámci regiónu vid' Obrázok 11). Medzi najvýznamnejšie patrí už spomínaná neolitická expanzia, prehistorický prechod z Levanty a Arabského polostrova do oblasti severnej a východnej Afriky, ku ktorým došlo minimálne pred 6 500 – 7 400 rokmi (Černý et al. 2011; Diallo et al. 2022; Kivisild et al. 2004; Musilová et al. 2011; Newman 1995; Phillipson 1993). Táto expanzia okrem rozšírenia pastoralizmu prispela i k rozšíreniu genetickej variability o mitochondriálnu haploskupinu J, ktorá vznikla na Strednom východe (Semino et al. 2004) a taktiež o euroázijsky špecifické haploskupiny M a N (konkrétne HV1) bežné v oblasti Blízkeho východu a južného Kaukazu (Kivisild et al. 2004; Musilová et al. 2011).

V rámci samotného územia Afriky bolo dôležitou migračnou trasou údolie rieky Níl (oblasť sahelu), ktoré spájalo severnú Afriku s východnou a umožnilo tak šírenie neolitických inovácií, vrátane pastoralizmu a agrikultúry, ktoré boli na území Etiópie prítomné už pred 5 000 rokmi (Newman 1995). Význam tohto územia ako hlavného koridoru migrácií bol ilustrovaný aj silnou mierou miešania medzi populáciami centrálného a východného sahelu so severoafrickými a blízkovýchodnými či arabskými populáciami (Diallo et al. 2022; Triska et al. 2015).



Obrázok 11: Prehľad migrácií v oblasti východnej Afriky (upravené Lucas-Sánchez, et al. 2021)

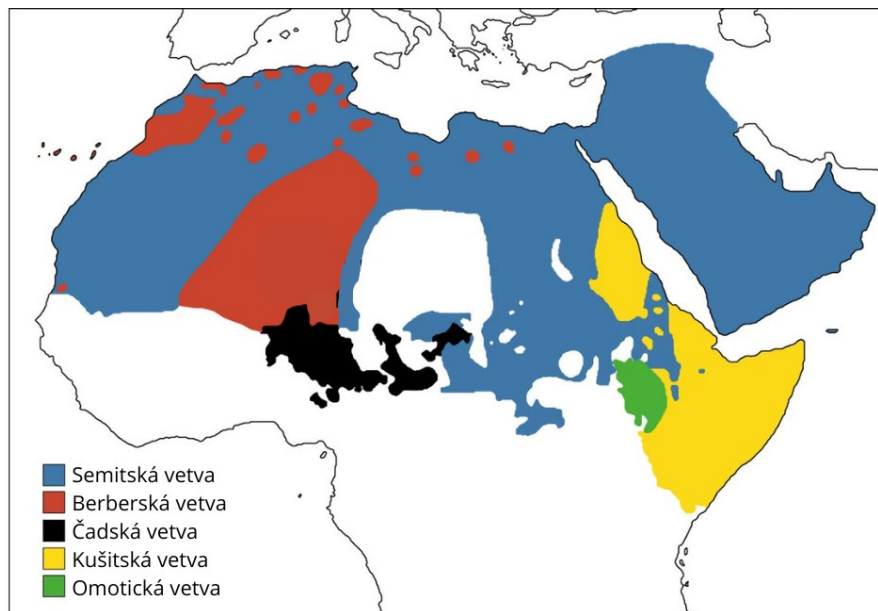
I tieto presuny výrazne prispeli k formovaniu lingvistickej diverzity, ktorá odráža tú genetickú (Pagani et al. 2012). Východná Afrika je v praxi zastúpená všetkými hlavnými jazykovými rodinami Afriky: afroázijskou (AA), nilo-saharskou (NS), nigero-konžskou (NK) a khoisanskou (viď Obrázok 12) (Boattini et al. 2013).



Obrázok 12: Rozšírenie jednotlivých jazykových rodín v Afrike (Scheinfeldt et al. 2010)

Afroázijská rodina dosahuje najvyšší stupeň internej diverzifikácie práve vo východnej Afrike (Boattini et al. 2013), kde je zastúpená omotickou, kušitskou, semitskou. Hoci čadská vetva sa dnes vo východnej Afrike nevyskytuje, predpokladá sa, že jej pôvod siaha práve do tohto regiónu (viď Obrázok 13). Predpokladaný pôvod AA jazykov

je v severovýchodnej Afrike v pre-neolitickej dobe, odkiaľ dvoma migračnými trasami došlo k ich rozšíreniu. Migrácia smerom na západ prispela k oddeleniu a diverzifikácii čadskej vetvy v okolí jazera Čad a severná migrácia vyústila v diverzifikáciu kušitskej vetvy vo východnej Afrike (Černý et al. 2009)



Obrázok 13: Rozšírenie vetiev afroázijskej jazykovej rodiny v rámci Afriky (Černý et al. 2009)

Omotická a kušitská vetva sú považované za najstaršie a vyskytujúce sa výlučne v Rohu Afriky (Fleming 2006), pričom omotická vetva vykazuje prevažne africký pôvod s minimálnym euroázijským príspevkom (Pagani et al. 2012). Na rozdiel od toho kušitská vetva zdieľa pomerne vysoký podiel ne-afrického dedičstva (40 – 50 %), rovnako ako i semitská vetva (Pagani et al. 2012), ktorej pôvod je diskutovaný a uvádza sa, že by mohol byť i na území Blízkeho východu či Levanty (Kitchen et al. 2009).

Afroázijské populácie patria medzi najstarších nositeľov LP mutácií v Afrike, pričom ich genetická kompozícia naznačuje vysoký podiel migrácií z Blízkeho východu. Dokladom je i predpokladaný vznik varianty -13 907*G práve v kušitsky hovoriacich populáciách AA rodiny z východnej Etiópie, odkiaľ následne migrovala do severnej Kene a Sudánu v priebehu posledných 5 000 rokov (Tishkoff et al. 2009). Rovnako sa do oblasti Etiópie lokalizuje i pôvod alely -14 010*C (Tishkoff et al. 2007), približne do obdobia pred 5 500 rokmi, odkiaľ sa ďalej rozšírila prostredníctvom jej nositeľov – kušitsky hovoriacich populácií do oblasti Kene a Tanzánie (Newman 1995).

Varianta -14 010*C sa neskôr génovým tokom dostala i k populáciám nilo-saharskej jazykovej rodiny, čoho dôkazom je i vek samotnej alely, ktorý je odhadovaný na 3 000 až 7 000 BP, pričom najstarší odhad (6 000 – 7 000 BP) je u nilo-saharskej jazykovej rodiny v Keni a u afroázijskej v Tanzánii (Tishkoff et al. 2007)

Nilo-saharská jazyková rodina zrejme vznikla na území dnešného východného Sudánu pred viac ako 10 000 rokmi a jej členovia sa následne rozšírili na západ k jazeru Čad a na juh do Južného Sudánu (Tishkoff et al. 2009). Nilo-saharská jazyková rodina sa ďalej delí na sudánsku, saharskú a songhajskú vetvu a zdá sa, že vykazuje prevažne africké dedičstvo s minimálnym eurázijským príspevkom (Pagani et al. 2012).

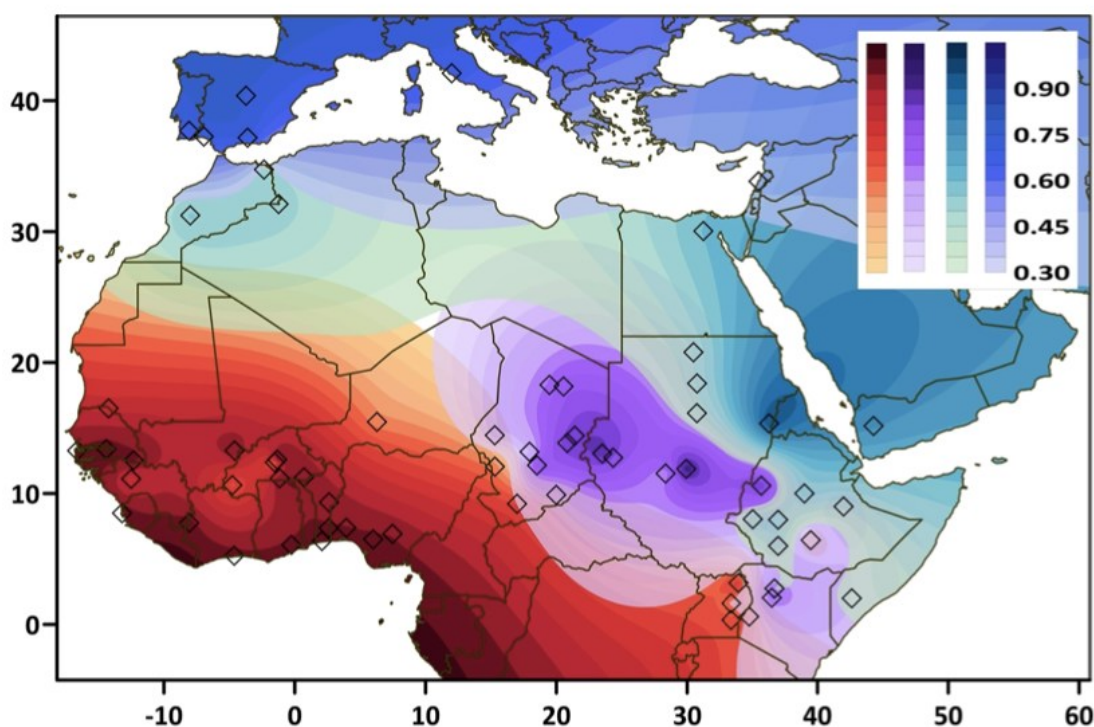
Genetická štúdia od Breton et al. (2014). ilustrujúca ďalšie šírenie varianty -14 010*C do južnej Afriky ukazuje, že jej pôvod je možno hľadať u AA východoafrických pastierskych populácií, ktoré sa počas svojej migrácie na juh zmiešali s miestnymi lovcami-zberačmi a vytvorili tak ancestrálnu skupinu Khoe Khoe je súčasťou širšej khoisanskej jazykovej rodiny, ktorá je charakteristická výskytom mľaskavých spoluhlások a je dodnes prítomná najmä medzi lovecko-zberačskými populáciami v južnej a čiastočne aj vo východnej Afrike. Khoisanská jazyková rodina sa tradične rozdeľuje na tri hlavné vetvy: Khoe, Tuu (známa aj ako !Ui-Taa) a Kx'a (označovaná aj ako Ju) a ku khoisanskému jazykovému komplexu sú často priradované i východoafrickí zástupcovia, ako Hadza a Sandawe, hoci ich zaradenie je lingvisticky sporné a pravdepodobne ide o pozostatky veľmi starých jazykových línií (Scheinfeldt et al. 2019).

Významným migračným procesom regiónu bola i expanzia Bantu hovoriacich agrikultúrnych populácií (cca 5 000 – 3 000 BP) z Kamerunu do oblasti medzi Keňou, Tanzániou, Ugandou a Sudánom (Nurse a Philippson 2003), ktorá zapríčinila prítomnosť nigero-konžského kultúrneho, ale i genetického dedičstva v centrálnej a východnej Afrike (de Filippo et al. 2011; Tishkoff et al. 2009). Táto migrácia zrejme značne prispela k homogenizácii populačnej diverzity v sub-saharskej Afrike (Triska et al. 2015).

Oblasť východnej Afriky ďalej ovplyvnila i Arabská expanzia v 7. st., ktorá viedla k rozšíreniu beduínskych pastierskych komunít z Arábie do Afriky, pričom prví Arabi zrejme vstúpili cez Egypt a pokračovali až k pásu sahel-savana a dnešnému Sudánu (Černý et al. 2006). Okrem euroázijsky špecifického genetického príspevku (Kivisild et al. 2004; Musilová et al. 2011) bola spolu s Beduínmi do východnej Afriky predstavená i tzv. „arabská“ varianta -13 915*G (Ingram et al. 2007; Priehodová et al. 2020).

3.4.1.1 Genetické klastre

Na základe štúdií možno populácie východnej Afriky rozdeliť do viacerých genetických skupín (tzv. klastrov), ktoré – až na niekoľko výnimiek – vo veľkej miere korešpondujú s jazykovými rodinami. Klastre boli identifikované pomocou viacerých genetických metód vrátane genotypizácie (mtDNA či mikrosatelitov), analýzy hlavných komponent (PCA), ako aj modelovo založeného klastrovania (Tishkoff et al. 2009) a multidimenzionálneho škálovania (MDS) (Scheinfeldt et al. 2010). Okrem genetických dát boli v rámci interpretácie zahrnuté i lingvistické afinity, ktoré umožnili lepšie pochopenie prepojenia jazykovej a genetickej diverzity regiónu. Odhadované príspevky jednotlivých ancestrálnych komponentov, získané na základe genome-wide SNP analýzy, sú prehľadne ukázané na Obrázku 14.



Obrázok 14: Mapa zobrazujúca jednotlivé priemerné komponenty v rámci populácií Afriky. Červená farba reprezentuje západoafrické dedičstvo, fialová farba reprezentuje centrálna-africké dedičstvo, tyrkysová farba reprezentuje blízko-východné dedičstvo a modrá farba reprezentuje európske dedičstvo (Fortes-Lima et al. 2022)

(1) *Afroázijský klaster* zahŕňa populácie severnej, severovýchodnej Afriky a Rohu Afriky, konkrétne populácie Egypta, Etiópie, Somálska a severnej Kene. Tieto populácie patria do semitskej a kušitskej vetvy AA rodiny.

Tento klaster je možné ďalej rozdeliť na dve podskupiny: *Etiópsko-semitskú podskupinu* zahŕňajúcu populácie Rohu Afriky akými sú Somálčania, Oromo, Afari, Beja,

Tigray a Amhara, ktoré sú geneticky odlišné od ostatných afroázijských skupín a vykazujú silnú väzbu na Blízky východ (Kivisild et al. 2004) a *Severoafrickú podskupinu* zahŕňajúcu populácie patriace do berberskej a semitskej vetvy AA rodiny (Egyptania, Berberi, líbyjskí Arabi či Židia).

(2) *Nilo-saharský a čadský klaster* je rozšírený na území Čadu, severného Kamerunu, Sudánu, Kene a Tanzánie (čiže sahel a centrálna Afrika) a dá sa ďalej rozčleniť na 2 podskupiny. Prvá zahŕňa čadsky hovoriace populácie AA rodiny, ktoré sú geneticky blízke NS skupinám. Druhá podskupina zahŕňa populácie, ktoré sa vyskytujú v oblasti medzi Sudánom, Keňou a Tanzániou, kde dochádza k miešaniu medzi NS a AA skupinami, príkladmi sú Niloti, Shilluk, Dinka, Nuer či Núbijci (Henn et al. 2008) alebo Turkana (Castrì et al. 2008). Okrem toho niektoré populácie vykazujú i určitý stupeň bantuského genetického príspevku, príkladom je populácia Luo, nesúca haploskupiny viažuce sa k expanzii Bantu (L0a2, 3e, L1b, L1c) (Castrì et al. 2008).

(3) *Fulbovia* patria do NK jazykovej rodiny, avšak geneticky sú odlišní od ostatných skupín danej rodiny. Na základe mtDNA vykazujú prevažne západo-africký pôvod a analýzy Y-DNA naznačujú stredovýchodný pôvod, pričom najviac príbuzní sa zdajú s čadskými (AA rodina) a centrálně-sudánskymi populáciami (NS rodina), ako Baggara (Hassan et al. 2008). Recentná štúdia ukazuje ich pôvod v západne Afrike s prímiesou severoafrických populácií (Fortes-Lima et al. 2025). Charakteristickí sú vysokým eurázijským genetickým podielom, čo potvrdzuje i prítomnosť európskej LP -13 910*T varianty, ktorá sa sem pravdepodobne dostala práve génovým tokom od susedných severoafrických populácií (Černý et al. 2018; Mulcare et al. 2004; Priehodová et al. 2020; Vicente et al. 2019).

(4) *Arabizované populácie* (oblasti centrálného a východného sahelu) vznikli v dôsledku arabizácie, teda rozšírenia populácií z Arabského polostrova. Genetické dôsledky tohto procesu sú pozorovateľné napríklad na diverzite mtDNA, keďže arabskí pastoralisti získavali genetický materiál miešaním s lokálnymi sub-saharskými populáciami – predovšetkým agrikultúrnymi a agro-pastoralistickými skupinami afroázijskej a nilo-saharskej jazykovej rodiny (Triska et al. 2015). Toto spojenie vytvorilo špecifickú genetickú štruktúru, ktorá zahŕňa aj prítomnosť arabskej LP varianty -13 915*G (Fortes-Lima et al. 2022; Priehodová et al. 2017).

V rámci arabských kmeňov v Čade a Sudáne je možné identifikovať tri hlavné skupiny: Abbala, Baggara, Ghannama (Levy a Holl 2002; Zeltner 2002). Patrí sem viacero

etník, ako Gaalien, Meseria, Copti, Halfawien, Jaali, Kababiš, Zaghava, Baggara, Abbalskí Arabi či Rašajdskí Arabi, prevažne zo Sudánu a určitý podiel genetického príspevku bol dokumentovaný a v Rohu Afriky (Hassan et al. 2008; Pagani et al. 2012).

(5) *Lovečsko-zberačské populácie* Špecifiká predstavujú populácie východoafrických lovcov-zberačov: Hadza a Sandawe z Tanzánie, patriace do khoisanskej jazykovej rodiny, či Dahalo z Kene a Sabue z Etiópie. Tieto populácie i napriek geografickej vzdialenosti vykazujú spoločné dedičstvo. Okrem menovaných vo východnej Afrike praktizujú lovečstvo-zberačstvo i populácie Boni, Yaaku, Sengwer či Ogiek z Kene alebo Wata z Etiópie. Tieto populácie hovoriace AA či NS jazykmi však vykazujú vyššiu genetickú podobnosť so susednými populáciami ako s ďalšími LZ (Scheinfeldt et al. 2019).

3.4.2 Somálsko a Somaliland – história a genetická diverzita

Ako už bolo uvedené vyššie, Somálsko patrí ku krajinám Rohu Afriky, rozprestierajúc sa na juh od rovníka po Adenský záliv (viď Obrázok 15). Jeho história je, i vďaka vzájomnej blízkosti, úzko spätá s arabským svetom, kdeže už v 7. st. prijalo Islam aj s jeho štruktúrou organizácie krajiny. V 19. storočí bolo, podobne ako mnohé africké územia, kolonizované európskymi mocnosťami – Francúzskom, Veľkou Britániou a Talianskom. Nezávislosť získalo v roku 1960, zjednotením talianskeho Somalilandu a územia ovládaného Britmi. Po občianskej vojne v 80-tych rokoch 20. storočia a zvrhnutí režimu v roku 1991, sa severná časť, bývalý britský Somaliland, odtrhla a vyhlásila nezávislú Somalilandskú republiku. I napriek jej funkčnej samostatnosti ostáva medzinárodne neuznaným štátom (zhrnuté v Chonka a Healy (2021)) a podľa FAO (FAO 2021a) bol jeho počet obyvateľov v roku 2021 odhadovaný na približne 3 milióny.



Obrázok 15: Mapa Somalilandu

Somálsko je etnicky homogénne, pričom až 98 % obyvateľov sa identifikuje ako Somálčania. Zvyšné 2 % zahŕňajú potomkov Arabov, Peržanov, Indov a Afričanov z oblasti Kene (Levinson 1998). Potvrdením homogenity sú i výsledky práce Ceballos et al. (2019), ktoré na základe ROH (*runs of homozygosity*) u Somálčanov identifikovali najvyšší genomický koeficient inbreedingu v rámci Rohu Afriky. Okrem Somálska je možné etnických Somálčanov nájsť i na území Etiópie, Jemenu, Kene, Džibuti a severnej časti Tanzánie. Neznámy počet imigrantov sa vyskytuje i na územiach Stredného východu, Európy a Severnej Ameriky (Lewis a Jorg 2024)

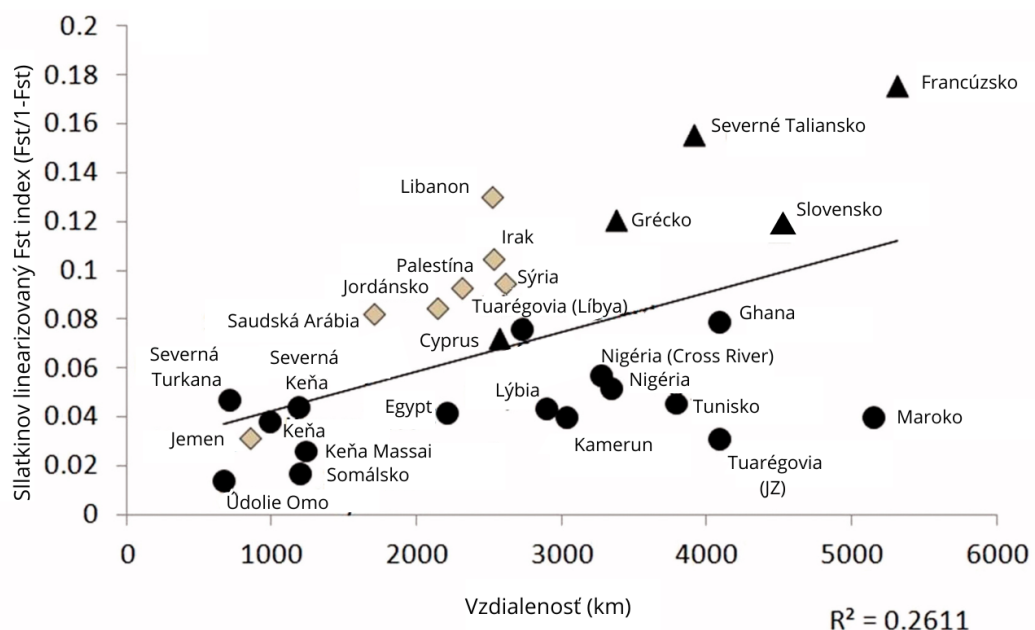
Jazykovo patria Somálčania do kušitskej vetvy afroázijskej jazykovej rodiny a ich spoločenská organizácia je založená na klanovej štruktúre.

Približne 2/5 obyvateľov žije v permanentných usadlých komunitách (hlavne na juhu a severo-západe krajiny), zatiaľ čo 65 % praktizuje nomádsky pastoralizmus alebo agro-pastoralizmus (Ginnetti a Franck 2014). Dôkazy o prítomnosti pastoralizmu v tejto oblasti poskytujú nástenné maľby zobrazujúce, že medzi tretím a druhým tisícročím BP, bolo bežné pasenie oviec a kôz (Mire 2008). Náleziská taktiež poskytujú dôkazy o najskorších pastoralistoch v oblasti Rohu Afriky z obdobia 5 000 BP (Mire 2015).

Dnes sa verí, že pôvodným miestom vzniku Somálčanov je práve región Somalilandu, čo znamená, že Somálčania sú domorodí obyvatelia Rohu Afriky po dobu posledných 7 000 rokov (Abdullahi 2017). Ich genetické zloženie odráža historické migrácie, pričom sa u nich nevyskytuje signifikantný vplyv Bantu expanzie (Newman 1995;

Sanchez et al. 2005). Štúdia Triska (2015) však ukazuje na 27% príspevok západného či centrálného dedičstva u niektorých Somálčanov, potenciálne získaného v rámci Bantu expanzie. Čím ale genetické zloženie bolo ovplyvnené je spätná migrácia z Eurázie a Arabského polostrova do Afriky, čo vedie k ich genetickej príbuznosti skôr s eurázijskými než sub-saharskými populáciami, pričom Sanchez et al. (2005) ukazuje, že len 5 % somálskych haploskupín bol priradený sub-saharský pôvod.

Približne 80 % somálskych mužov nesie Y-DNA haploskupinu E1b1b1, považovanú za pôvodnú pre severovýchodnú Afriku, pričom do somálskej populácie bola predstavená pred 4 000 – 5 000 rokmi. Rovnaká haploskupina tvorí výraznú proporciu Y-DNA Etiópcanov, Sudáncov, Egyptanov, Berberov, severoafrických Arabov, ale i populácií oblasti Stredozemného mora (Cruciani et al. 2004; Hassan et al. 2008) a jej šírenie je spájané s migráciami z Egypta a Líbye (Cruciani et al. 2007). V rámci haploskupiny E1b1b1 je v somálskej populácii definovaný i STR γ klaster, charakterizovaný prítomnosťou zriedkavej alely 11 v lokuse DYS19 (DYS19-11), takmer unikátny pre populácie Rohu Afriky, teda Somálčanov, Oromo a Borana (Sanchez et al. 2005). Dôkaz blízkeho vzťahu Somálčanov k obyvateľstvu Rohu Afriky poskytuje i výskum Messina et al. (2017) sledujúci genetické vzdialenosti populácií Afriky a Eurázie, zobrazené prostredníctvom principiálnej komponentnej analýzy (PCA) (viď Obrázok 16).



Obrázok 16: PCA analýza genetických vzdialeností populácií Afriky a Eurázie založená na interpolácii Slatkinových lineárizovaných F_{st} hodnôt získaných z mitochondriálnej DNA. Analýza zobrazuje vzťah medzi genetickou a geografickou vzdialenosťou populácií a poukazuje na koreláciu medzi priestorovou vzdialenosťou a genetickou diferenciáciou ($R^2 = 0.2611$) (Messina et al. 2017)

Druhou najviac vyskytujúcou sa Y-DNA haploskupinou je západoázijská haploskupina T, pozorovaná u viac ako 10 % somálskych mužov (Sanchez et al. 2005), pričom haploskupinu je možné nájsť i u populácií severovýchodnej Afriky, Maghrebu, Blízkeho východu a Mediteránnu (Cabrera et al. 2010).

Analýzy mitochondriálnych línií ukazujú na 60 % africký pôvod (L haploskupiny), 25% ázijský (M1 a N1 haploskupiny) a približne 15 % vykazovalo západo-euroázijský pôvod haploskupín (R, U a K haploskupiny) (Mikkelsen et al. 2012).

3.4.2.1 Somálsko a LP

Známe údaje o frekvenciách LP v Somálsku naznačujú relatívne nízke hodnoty pohybujúce sa v rozmedzí 5 – 12 % (Enattah et al. 2008; C. Ingram et al. 2007). Príkladom sú Somálčania žijúci v Etiópii, ktorí i napriek závislosti na mliečnych produktoch, nevykazujú vysokú mieru LP. Zaujímavé sú záznamy o pravidelnej konzumácii čerstvého mlieka i u laktózovo inotolerantných jedincov v Somálsku bez výrazných nežiaducich účinkov, čo by mohlo naznačovať adaptáciu črevnej mikrobioty (Ingram 2008).

Medzi zaznamenanými LP variantami u Somálčania sú -13 915*G, ktorá sa v regióne rozšírila spolu s rozšírením Islamu v posledných 1 400 rokoch (Al-Abri et al. 2012) či pôvodné východoafrické varanty -14 010*C a -13 907*G (Ingram et al. 2009a). Štúdie taktiež identifikovali mutáciu -13 779 G>C, vyskytujúca sa u jedného somálskeho jedinca, ktorá ale nie je preukázateľne asociovanou s LP (Ingram et al. 2009a).

Geografická poloha Somalilandu na východe Afriky – v oblasti vzniku troch LP asociovaných variant, a zároveň v dôležitom migračnom uzle medzi Áziou a Afrikou – z neho robí významnú lokalitu pre výskum šírenia a vzniku LP. Napriek vysokému zastúpeniu pastoralistického spôsobu života a bežnej konzumácii mlieka, výskyt LP v somálskej populácii zostáva relatívne nízky (5–12 %), čo môže naznačovať alternatívne adaptácie, ako napr. úloha črevnej mikrobioty. Význam ďalšieho výskumu v tejto oblasti zdôrazňuje i novšia štúdia Ali et al. (2020), ktorá prostredníctvom PCA analýzy SNP dát jedincov zo severovýchodného Somálska ukazuje, že približne 60 % somálskeho genetického dedičstva je východoafrického a 40 % západoázijského pôvodu, čo naznačuje blízky vzťah Somálčanov s kušitsky a semitsky hovoriacimi etiópskymi populáciami, pričom tieto skupiny sú ako súčasť afroázijskej jazykovej rodiny, považované za jedných z najstarších nositeľov LP mutácií v Afrike.

Prepojenie genetických predispozícií, kultúrneho správania, historických súvislostí a ekologického kontextu v oblasti, kde sa križujú migračné toky medzi Afrikou a Áziou, poskytuje komplexné východisko pre analýzu výskytu LP v rámci vybranej vzorky populácie Somalilandu.

4 PRAKTICKÁ ČASŤ

4.1 Materiál

4.1.1 Vzorky populácie Somalilandu

Materiálom na spracovanie v mojej práci boli vzorky slín s už vyizolovanou DNA 100 jedincov z oblasti Somalilandu, poskytnuté Archeologickým ústavom AV ČR v Prahe. Vzorky boli odobrané tímom prof. Daniela Frynty v roku od dobrovoľníkov z vybranej lokality, ktorí boli informovaní o účele štúdie a dali súhlas k anonymnému spracovaniu ich DNA. Odber splnil všetky náležitosti výskumu, tj. bol schválený etickou komisiou Univerzity Karlovy v Prahe a obsahoval všetky potrebné povolenia.

Počas prepravy vzoriek došlo k strate vzorky s označením SML 2, teda mnou spracovaných bolo 99 vzoriek. V dôsledku získania nedostatočne kvalitných výsledkov i po opakovanej analýze, bola vzorka s označením SML 77 vyradená zo skúmania (viď kapitola 3.3.3.).

4.1.2 Dataset

Okrem spracovania vzoriek populácie SML, bolo mojou úlohou i zasadenie týchto výsledkov do kontextu s už existujúcimi dátami. Pre tieto potreby som z už publikovaných dát vytvorila dataset, obsahujúci 106 populácií východnej Afriky. Pomyselným predelom medzi východnou a západnou Afrikou bola poloha jazera Čad s koordinátami 13°01' zemepisnej šírky a 14°34' zemepisnej dĺžky, na základe ktorej boli populácie selektované do datasetu.

Tento dataset s frekvenciami jednotlivých SNP variant, bol doplnený o frekvenčné dáta mnou vyhodnocovanej populácie Somalilandu (viď Príloha 1).

Na základe nedostupnosti frekvenčných dát týkajúcich sa mutácie -14 009*G pre všetkých 106 populácií, bola táto mutácia vynechaná z časti analýz. Ďalej sme si stanovili kritérium o sledovaní len populácií s vyšším počtom jedincov (n), teda s n väčším alebo rovným 15. Tento počet bol zvolený pre zachovanie čo najväčšieho počtu populácií,

ale zároveň pre zachovanie čo najväčšej významnosti hodnôt výsledkov. Finálny dataset teda obsahuje 70 populácií (vid Tabuľka 3).

Dataset bol následne vyhodnocovaný ako celok, ale i na základe rozdelenia populácií do skupín podľa uplatnenia nasledujúcich kritérií:

- 1.) Praktizujúca subsistencia – rozdelenie do skupín *Pastoralisti* (n = 33) a *Ostatné formy subsistencie* (n = 37), kde boli po zvážení, okrem farmárov, lovcov-zberačov a jednej populácie rybárov, zaradené aj populácie praktizujúce agro-pastoralizmus, ktorý nie je čistou formou pastoralizmu
- 2.) Jazyková rodina – rozdelenie do skupín *Afroázijská* (n = 45), *Nilo-saharská* (n = 19) a *Nigero-konžská jazyková rodina* (n = 6)
- 3.) Geografická lokalita
 - a. Vertikálna os – rozdelenie do skupín *Populácie oblasti sahelu* (n = 23), kde boli zaradené populácie z Čadu, Sudánu, Južného Sudánu, a Eritrei a *Populácie oblasti južne od sahelu* (n = 47), kam patria populácie Etiópie, Kene, Kamerunu a Somálska
 - b. Horizontálna os – i napriek vyššie uvedenej selekcii populácií východnej Afriky na základe polohy jazera Čad, sa v datasete nachádzali aj populácie priamo z tejto oblasti. Práve tieto populácie, pôvodom z Čadu a Kamerunu, boli následne zaradené do skupiny *Západ* (n = 15), zatiaľ čo ostatné populácie tvorili skupinu *Východ* (n = 55)

Dataset bol vizualizovaný i prostredníctvom mapy vytvorenej v programe QGIS, kde bolo zaznamenané izastúpenie jednotlivých LP variant v jednotlivých populáciách vo forme koláčových grafov (vid' Obrázok 21).

Tabuľka 3: Prehľad populácií datasetu použitých pre následné štatistické vyhodnotenie s uvedenými frekvenciami jednotlivých LP variant. n. je počet jedincov v mutácii a

n.	POPULÁCIA	SKRATKA	KRAJINA	-14 010*C	-13 915*G	-13 910*T	-13 907*G	SUBSISTENCIA	JAZYKOVÁ RODINA
26	Abbala	ACH	Čad	0,00	0,44	0,02	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
37	Afar	AF1	Etiópia	0,00	0,12	0,01	0,30	pastoralizmus	Afroázijská
26	Afar	AFA	Džibuti	0,00	0,14	0,00	0,14	pastoralizmus	Afroázijská
76	Afar	AF3	Etiópia	0,01	0,18	0,01	0,24	pastoralizmus	Afroázijská
54	Amhara	AMR	Etiópia	0,00	0,04	0,00	0,02	farmárstvo	Nilo-saharská
19	Amhara	AMH	Etiópia	0,00	0,13	0,00	0,05	farmárstvo	Afroázijská
69	Anuak	ANU	Etiópia	0,00	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
31	Arabskí Baggara	AB1	Kamerun	0,00	0,03	0,08	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
53	Arabskí Baggara 1	ABG	Čad	0,00	0,20	0,02	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
50	Arabskí Baggara 2	ABA	Sudán	0,00	0,26	0,04	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
37	Bani Amir	BA1	Sudán	0,00	0,34	0,00	0,15	pastoralizmus	Afroázijská
47	Beja	BEJ	Sudán	0,00	0,17	0,00	0,05	pastoralizmus	Afroázijská
81	Beni Amer	BA2	Sudán	0,00	0,25	0,01	0,01	pastoralizmus	Afroázijská
77	Beni Amer	BA3	Sudán	0,00	0,24	0,01	0,13	pastoralizmus	Afroázijská
18	Beta Izraelci	BTI	Etiópia	0,00	0,03	0,00	0,08	agro-pastoralizmus	Afroázijská
24	Boni	BON	Keňa	0,21	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Afroázijská
17	Borana	BOR	Keňa	0,09	0,09	0,00	0,12	pastoralizmus	Afroázijská
22	Boulala	BOU	Čad	0,00	0,00	0,02	0,00	farmárstvo	Nilo-saharská
39	Copti	COP	Sudán	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
50	Daju	DAJ	Sudán	0,00	0,01	0,00	0,00	farmárstvo	Nilo-saharská
49	Dangaleat	DNG	Čad	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
49	Darfurian	DAR	Sudán	0,00	0,01	0,00	0,00	farmárstvo	Nilo-saharská
34	Egyptania	EGY	Egypt	0,00	0,02	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
16	Elmolo	ELM	Keňa	0,22	0,03	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Afroázijská
40	Etiópani	ET5	Etiópia	0,00	0,10	0,00	0,11	agro-pastoralizmus	Afroázijská

24	Fulbovia	FU2	Kamerun	0,00	0,00	0,23	0,00	pastoralizmus	Nigero-konžská
39	Fulbovia	FU3	Sudán	0,00	0,01	0,27	0,01	pastoralizmus	Nigero-konžská
49	Fulbovia Bongor	FBO	Čad	0,00	0,00	0,57	0,00	pastoralizmus	Nigero-konžská
27	Fulbovia Linia	FLI	Čad	0,00	0,00	0,50	0,00	pastoralizmus	Nigero-konžská
20	Gaali	GAA	Sudán (S)	0,00	0,00	0,00	0,05	farmárstvo	Afroázijská
40	Gaalien	GAL	Sudán	0,00	0,13	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
41	Gabra/Gabramigos	GAB	Keňa	0,05	0,20	0,00	0,09	pastoralizmus	Afroázijská
19	Garreh	GAR	Keňa	0,00	0,16	0,00	0,08	pastoralizmus	Afroázijská
39	Halfawien	HAL	Sudán	0,00	0,12	0,00	0,01	farmárstvo	Nilo-saharská
86	Jaali	JAA	Sudán	0,00	0,13	0,01	0,01	farmárstvo	Afroázijská
27	Kababish	KAB	Sudán	0,00	0,33	0,00	0,02	pastoralizmus	Afroázijská
47	Kotoko	KOT	Kamerun	0,00	0,02	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
23	Laka	LAK	Čad	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Nilo-saharská
22	Luo	LUO	Keňa	0,05	0,00	0,00	0,00	rybárstvo	Nilo-saharská
66	Maale	MAA	Etiópie	0,00	0,04	0,00	0,02	pastoralizmus	Afroázijská
15	Mahas	MA2	Sudán	0,00	0,17	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
39	Mahas	MA1	Sudán	0,00	0,04	0,00	0,01	farmárstvo	Nilo-saharská
21	Mandara	MAN	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
40	Manjo	MAJ	Etiópie	0,00	0,00	0,01	0,01	farmárstvo	Afroázijská
35	Masa	MAS	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
24	Ngambay	NGA	Čad	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Nilo-saharská
48	Nilotes	NIL	Sudán (J)	0,00	0,00	0,00	0,00	agro-pastoralizmus	Nilo-saharská
40	Nuba	NUB	Sudán	0,00	0,03	0,00	0,00	agro-pastoralizmus	Nilo-saharská
37	Nuer	NU2	Etiópie	0,00	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
24	Orma	ORM	Keňa	0,23	0,13	0,00	0,02	pastoralizmus	Afroázijská
75	Oromo	ORO	Etiópie	0,01	0,07	0,00	0,05	pastoralizmus	Afroázijská
19	Ouldoume	OUL	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská

18	Pare Keňa	PAR	Keňa	0,20	0,00	0,00	0,00	agro-pastoralizmus	Nigero-konžská
109	Fenotypovaní Somálčania	SO1	Etiópia	0,01	0,05	0,02	0,06	pastoralizmus	Afroázijská
18	Pygmy	PYG	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Nigero-konžská
51	Rašajdskí Arabi	RAS	Sudán	0,00	0,77	0,00	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
16	Sengwer	SEN	Keňa	0,06	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Nilo-saharská
24	Shabo	SHB	Etiópia	0,00	0,00	0,00	0,00	farmárstvo	Nilo-saharská
40	Shokrya	SHO	Sudán	0,00	0,30	0,01	0,03	pastoralizmus	Afroázijská
38	Shwaiga	SHW	Sudán	0,00	0,13	0,00	0,03	farmárstvo	Afroázijská
37	Somálčania	SO3	Etiópia	0,03	0,04	0,00	0,10	pastoralizmus	Afroázijská
62	Somálčania	SO2	Somalia	0,00	0,02	0,00	0,00	farmárstvo	Afroázijská
98	Somálčania	SML	Somaliland	0,01	0,05	0,00	0,06	pastoralizmus	Afroázijská
46	Sudánci	ARS	Sudán	0,00	0,09	0,00	0,01	farmárstvo	Afroázijská
50	Suri	SUR	Etiópia	0,04	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
44	Tigray	TIG	Etiópia	0,00	0,11	0,00	0,19	farmárstvo	Afroázijská
15	Tugen	TUG	Keňa	0,23	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
22	Wata	WAT	Keňa	0,16	0,16	0,00	0,02	lovečstvo-zberačstvo	Afroázijská
26	Wolayta	WOL	Etiópia	0,02	0,12	0,00	0,08	farmárstvo	Afroázijská
48	Zaghawa	ZGW	Sudán	0,00	0,03	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská

4.2 Metódy práce

4.2.1 Izolácia DNA

Skúmané vzorky slín jednotlivcov zo Somalilandu mi boli predané s už vyizolovanou DNA. Izolácia bola prevedená podľa protokolu k izolácii slín z kitu Oragene (viď <https://www.dnagenotek.com/us/pdf/PD-HB-00002.pdf>).

4.2.2 Sekvenovanie DNA

Pred samotným sekvenovaním bolo potrebné previesť amplifikáciu prostredníctvom PCR a následne elektroforézu.

4.2.2.1 PCR

PCR (*Pomylase Chain Reaction*) je laboratorná technika rýchlej a jednoduchej amplifikácie DNA, teda tvorby miliónov kópií špecifického segmentu DNA.

PCR som zhotovila podľa protokolu overeného na predchádzajúcich vzorkách laboratóriom genetiky Archeologického ústavu AV ČR, Praha v. v. i (ARÚ). Súčasťou PCR zmesi, do ktorej sa pridávala vyizolovaná DNA, bola denaturovaná voda, komerčné LP primery forward a revers (navrhnuté podľa Coelho et al. (2005) od firmy Geneti Biotech) a GoTaq® Green Master Mix od firmy Promega s celkovým objemom PCR zmesi 25 µl. Master Mix je predpripravený roztok obsahujúci bakteriálnu *Taq* DNA polymerázu, dNTPs, MgCl₂, reakčné bufre a dva druhy farbív – modré a žlté – pre umožnenie monitorovania progresu počas elektroforézy, a okrem iného je vhodný pre následnú aplikáciu na agarózový gél. Práca prebiehala v pre-PCR boxe.

Pripravená PCR zmes bola vložená do cycleru Eppendorf Mastercycler na samotnú amplifikáciu s programom:

Pre-inkubácia:	94 °C – 5 min
Amplifikácia (35x):	94 °C – 1 min
	54,5 °C – 1 min
	72 °C – 1 min
Extenzia:	72 °C – 20 min

4.2.2.2 Elektroforéza

Elektroforéza je laboratórna technika používaná na separáciu zložiek (DNA, RNA či proteínov) na základe ich veľkosti a elektrického náboja. Pohyb molekúl cez gél či matrix je zaistený prechodom elektrického prúdu, pričom póry gélu/matrix pôsobia ako sito umožňujúce rýchlejší pohyb menších molekúl a pomalší väčších molekúl.

V rámci diplomovej práce som využila horizontálnu agarózovú elektroforézu zhotovenú podľa protokolu overeného na predchádzajúcich vzorkách laboratóriom genetiky ARÚ. Do 1,5% agarózového uvareného gélu o celkovom objeme 60 ml boli pridané 3 μ l farbiva GelRed od firmy Biotium a po ochladení bol takto pripravený gél naliaty do elektroforetickej vaničky s pripraveným hrebeňom. Po stuhnutí gélu najprv na vzduchu, následne v chladničke bol do vaničky naliaty TBE pufer. Do jamiek bol napipetovaný 1 μ l vzoriek s amplifikovanou DNA, 1 μ l kontrolnej vzorky bez obsahu DNA a 10 μ l rebríčka molekulových hmotností Master Ruler Low range DNA Ladder od firmy Thermo Fisher Scientific obsahujúcim 11 fragmentov o dĺžke 1 031 – 80 bp. Elektroforéza bežala pod 87 mA prúdom po dobu približne 50 minút.

Pre overenie kvality práce bol elektroforetický gél odfotený pomocou počítačového programu GeneSnap a upravený v programe GeneTools. Finálna úprava bola exportovaná do Excelu vo forme tabuľky uvádzajúcej molekulovú hmotnosť (vypočítanú podľa polohy v elektroforetickom géle porovnanú s rebríčkom) a koncentráciu jednotlivých vzoriek.

4.2.2.3 Sekvenovanie

Mutácie navodzujúce LP fenotyp boli genotypované priamym sekvenovaním (Sangerovým sekvenovaním) komerčnou firmou SEQme. Skúmaný bol 359 bp dlhý fragment obsahujúci všetky známe LP varianty (Coelho et al. 2009), lokalizovaný v intróne 13 *MCM6* génu. Sekvencia primerov:

forward 5'-GCAGGGCTCAAAGAACAATC-3'

revers 5'-TGTTGCATGTTTTTAATCTTTGG-3'

4.2.3 Nájdenie mutácií

Výsledky sekvenovania od firmy SEQme boli spracované prostredníctvom softvéru Chromas (Technelysium Pty Ltd, verzia 2.6.6), slúžiaceho na vizualizáciu a editáciu chromatogramov zo Sangerových sekvenátorov DNA. Po úprave a odstránení nekvalitných častí dát v dôsledku pozadia, boli údaje vo fasta formáte exportované do softvéru BioEdit

(verzia 7.2.) (Hall 1999), určeného na editáciu, analýzu a zarovnávanie sekvencií DNA, RNA i proteínov, kde bol vytvorený multi-fasta súbor zahŕňajúci zarovnané sekvencie všetkých vzoriek. Práve v tomto procese bola zo skúmania vyradená vzorka s označením SML 77, u ktorej i napriek opakovanému sekvenovaniu, nebolo možné jednoznačne určiť sekvenciu v dôsledku výrazného rušivého vplyvu pozadia.

Vyhľadanie a identifikácia mutácií bola uskutočnená v programovacom jazyku Python (verzia 3.6.2), prostredníctvom platformy Metacentrum, ktorý zo zostaveného multi-fasta súboru vypísal len jednotlivcov s prítomnými mutáciami.

4.2.4 Štatistické metódy

4.2.4.1 Intra-populačné vyhodnotenie

Pre intra-populačné vyhodnotenie dát týkajúcich sa populácie Somalilandu (SML) bol použitý štatistický balíček GenAlEx (verzia 6.51b2) (Peakall a Smouse 2012).

Konkrétne bola populácia testovaná na zistenie alelových frekvencií jednotlivých prítomných mutácií, heterozygotitu, fixačný a Shannonov index a Hardy-Weinbergerovu rovnováhu.

Alelová frekvencia (F_x) pre kodominantné dáta bola vypočítaná pomocou vzorca:

$$F_x = \frac{2 N_{xx} + N_{xy}}{2N},$$

kde N_{xx} je počet homozygotných jedincov, N_{xy} je počet heterozygotných jedincov a N je celkový počet jedincov (Hartl a Clark 1997).

Heterozygotita je meradlom celkovej genetickej diverzity (Nei 1987). Úroveň heterozygotity predstavuje podiel jedincov, ktorí sú heterozygotní pre určitý gén alebo skupinu génov. Vyššia heterozygotita v populácii značí väčšiu genetickú rozmanitosť. Na vyjadrenie odchýlky od očakávanej heterozygotity sa používa fixačný index (F), ktorý bol vypočítaný na základe vzorca:

$$F = \frac{H_e - H_o}{H_e},$$

kde H_e je očakávaná heterozygotita a H_o pozorovaná. Hodnoty blízke nule značia náhodné páranie, vysoké pozitívne hodnoty indikujú inbreeding či nedetekované nulové alely a negatívne hodnoty naznačujú nadbytok heterozygotity v dôsledku nenáhodného párovania jedincov (Hartl a Clark 1997).

Shannonov index (I) ako pôvodne ekologická metóda na meranie druhovej diverzity, sa v genetike využíva na kvantifikáciu genetickej rozmanitosti v rámci jedného druhu, kedy zohľadňuje počet rôznych alel v populácii a rovnomernosť ich zastúpenia (Sherwin et al. 2006).

Hardy-Weinbergova štatistika (HWE) testuje, či sa pozorovaný výskyt genotypov v populácii zhoduje s tým, čo by sa očakávalo pri náhodnom párení. Na jej vyhodnotenie je potrebné poznať počet vzoriek a počet alel (N_a), z ktorých je vypočítaná frekvencia alel a genotypov, pričom očakávaný výskyt jednotlivých genotypov je odhadnutý na základe veľkosti populácie.

Významnosť rozdielu medzi pozorovanými a očakávanými hodnotami je testovaná pomocou chí-kvadrát testu χ^2 a stupňa voľnosti p-hodnotou, ktoré rozhodujú o tom, či sa pozorované hodnoty odlišujú len na základe náhody. Ak sa p-hodnota pohybuje v intervale od 0,05 až 1,00, výsledok nie je štatisticky významný a predpokladá sa, že v populácii dochádza k páreniu náhodne. V prípade, že je p-hodnota menšia ako 0,05, výsledok je považovaný za štatisticky významný a k páreniu nedochádza náhodne (Hedrick 2009).

4.2.4.2 Inter-populačné vyhodnotenie

Pre inter-populačné vyhodnotenie frekvenčných dát datasetu bol použitý Arlequin (verzia 3.5.2.2), integrovaný softwarový balíček určený na analýzu populačne genetických dát (Excoffier a Lischer 2010). V programe bola prevedená analýza molekulárneho rozptylu AMOVA a analýza genetických vzdialeností F_{ST} .

AMOVA (*Analysis of MOlecular VAriance*) (Excoffier, Smouse, a Quattro 1992) je štatistickou metódou odhadu genetických štruktúrnych indexov na základe využitia, v tomto prípade frekvenčných dát, v rámci rôznych hierarchických úrovní populácií. Umožňuje určiť, aký podiel genetickej variácie možno pripísať rozdielom medzi skupinami populácií (vyjadrenie vo forme FCT indexu), medzi populáciami v rámci skupín (vyjadrenie vo forme FSC indexu) a v rámci celkovej populácie (vyjadrenie vo forme F_{ST} indexu) (Weir a Cockerham 1984). Percento molekulárnej variancie v rámci populácie môže indikovať inbreeding, zatiaľ čo medzi populáciami môže značiť genetický drift.

V rámci diplomovej práce bola využitá štandardná AMOVA, s počtom permutácií 10 000, pričom dataset bol analyzovaný vo viacerých kolách na základe žiadaných kritérií (viď kapitola 3.2.2).

Ďalším testom vykonaným v Arlequine bola F_{ST} štatistika, slúžiaca na vyhodnotenie genetickej diferenciácie medzi populáciami. Pre účely diplomovej práce bol vybratý Reynoldsov F_{ST} index (Reynolds, Weir, a Cockerham 1983) s počtom permutácií 1 000. Tento index je založený na koeficiente príbuznosti (*coancestry coefficient*) a slúži na kvantifikáciu genetickej vzdialenosti medzi populáciami. Jeho hodnota sa pohybuje od 0 do 1, pričom čím vyššia je jeho hodnota, tým silnejší bol vplyv genetického driftu v sub-populácii a čím nižšia je, tým väčšiu rolu hral génový tok (migrácia).

Výsledná matica genetických vzdialeností (Matrix of Coancestry Coefficients) (Reynolds et al. 1983) bola prostredníctvom štatistického balíčka GenAlEx (verzia 6.51b2) (Peakall a Smouse 2012) vizualizovaná vo forme analýzy hlavných koordinát (PCoA, *Principal Coordinate Analysis*) (Gower 1966), multivariačnej techniky umožňujúcej nájsť a zostrojiť hlavných vzorov medzi vzorkami v datasete. Proces je založený na lokalizácii hlavných osí variácie v multidimenzionálnom priestore, pričom každá nasledujúca os vysvetľuje menší podiel variácie a i z toho dôvodu sa pre odhalenie rozdielov používajú hlavne prvé tri osi.

Na záver bola v programe PASSaGE (verzia 2) (Rosenberg a Anderson 2011) vykonaná autokorelačná analýza (Sokal a Oden 1978), metóda skúmania geografických vzorov v genetických dátach, ktorá umožňuje objasnenie evolučných procesov. Na jej vykonanie je nutná znalosť alelových frekvencií, ktoré sú porovnávané medzi všetkým možnými dvojicami vzoriek v umelo definovanom geografickom priestore (napr. medzi 0 až 100 km, 101 až 200 km atď.). Pozitívny autokorelačný koeficient v rámci priestorovej triedy značí, že vzorky oddelené vzdialenosťou danej triedy sú geneticky podobné, naopak negatívny koeficient ukazuje na rozdielne genetické pozadie. Autokorelačná analýza bola v rámci diplomovej práce prevedená pre jednotlivé LP asociované varianty (-13 915*G, -13 907*G, -14 010*C a -13 910*T) samostatne.

4.3 Výsledky

4.3.1 Populácia SML

4.3.1.1 Nájsť mutácií

Sekvenovanie jedincov populácie Somalilandu odhalilo, že žiadny z jedincov nebol homozygotný pre mutované alely LP, teda všetky LP varianty sa vyskytujú výlučne v heterozygotnom stave. Najčastejšie zastúpenou je pôvodná východoafrická varianta -13 907*G s frekvenciou 0,06 (viď Tabuľka 4), nasledovaná arabskou variantou -13 915*G

s frekvenciou 0,05. Mutácie -14 010*C a -14 009*G sa v populácii vyskytli len u jediného jedinca a európska varianta -13 910*T v populácii úplne absentovala.

Tabuľka 4: Identifikované LP varianty s ich frekvenciami u somalilandskej populácie (SML)

VARIANTY:	-13 915*G	-13 907*G	-14 010*C	-14 009*G
počet homozygotov	0	0	0	0
počet heterozygotov	9	12	1	1
frekvencia	0,05	0,06	0,01	0,01

4.3.1.2 Intra-populačné vyhodnotenie

Tabuľka 5: Výsledky intra-populačného vyhodnotenia populácie Somalilandu, kde Na je počet rozdielnych alel, Ne je efektívny počet alel, I je Shannonov index, Ho je pozorovaná heterozygotizita, He je očakávaná heterozygotizita a F je fixačný index

VARIANTA	-13915*G	-13907*G	-14010*C	-14009*G
Na	2	2	2	2
Ne	1,096	1,130	1,010	1,010
I	0,186	0,230	0,032	0,032
Ho	0,092	0,122	0,010	0,010
He	0,088	0,115	0,010	0,010
F	-0,048	-0,065	-0,005	-0,005
Chí-kvadrát	0,227	0,417	0,003	0,003
p-hodnota	0,634	0,519	0,960	0,960

Výsledky intra-populačného vyhodnotenia populácie Somalilandu (SML) sú zhrnuté v Tabuľke 5. Všetky skúmané lokusy sú dimorfné ($N_a = 2$), čo znamená, že v populácii existujú aspoň dve alely na každom lokuse. Efektívny počet alel (N_e) je avšak nízky (1,01 – 1,13), čo naznačuje silnú dominanciu jednej alely. Shannonov index pohybujúci sa v hodnotách $I = 0,032 - 0,230$ a očakávaná heterozygotizita v hodnotách $H_e = 0,010 - 0,115$ potvrdzujú nízku variabilitu v populácii. Pozorovaná heterozygotizita (H_o) sa pohybuje na podobných hodnotách ako H_e , pričom mierne negatívne hodnoty Fixačného indexu (F) (-0,005 až -0,065), naznačujú mierny nadbytok heterozygotov oproti Hardy-Weinbergovej rovnováhe (HWE). Chí-kvadrát testy však ukázali, že pre žiadny zo skúmaného lokusu neboli pozorované odchýlky od očakávaných genotypových frekvencií. Všetky hodnoty pravdepodobnosti (p) sú štatisticky nevýznamné ($p > 0,05$), čo znamená, že populácia je pre tieto lokusy v rovnováhe a dochádza k náhodnému párovaniu.

4.3.2 Dataset

4.3.2.1 Inter-populačné vyhodnotenie – AMOVA

Tabuľka 6: Výsledky AMOVA analýzy. FCT reprezentuje variabilitu medzi jednotlivými skupinami, FST reprezentuje vnútro-populačnú variabilitu (teda variabilitu v rámci populácií) a FSC reprezentuje variabilitu medzi populáciami v rámci skupín

SKÚMANÉ KRITÉRIUM	FCT (%)	FSC (%)	FST (%)
Celková analýza	81,51	18,49	
Subsistencia	6,36	14,69	78,94
Jazyková rodina	10,97	12,30	76,73
Sahel x Južne od sahelu	1,91	17,35	80,74
Východ x Západ	1,57	17,84	80,59

Výsledky AMOVA testovania sú zhrnuté v Tabuľke 6. Celková genetická variabilita sledovaných LP variant (-13 910*T, -13 915*G, -13 907*G, -14 010*C) je z veľkej časti sústredená v rámci jednotlivých populácií (81,51 % podľa FCT), zatiaľ čo medzi-populačné rozdiely predstavujú 18,49 % (FSC).

Vnútro-populačná variabilita je vo všetkých prípadoch vyššia ako medzi-populačná variabilita. Tento trend naznačuje zánik štruktúry, pričom skúmané populácie východnej Afriky nie sú izolované, ale aktívne sa podieľajú na migráciách a génovom toku.

Zvolená subsistencia s 6,36% podielom na genetickej variabilite má na LP asociované varianty len mierny vplyv. Vyššia proporcia variability (10,97 %) je vysvetlená jazykovými rodinami, čo naznačuje, že rovnaký jazykový pôvod by mohol predstavovať i podobné genetické pozadie LP variant. Vplyv geografických faktorov hrá len malú rolu v objasnení genetickej variability, zrejme v dôsledku génového toku, ktorý minimalizuje rozdiely naprieč regiónom.

Hodnoty FSC (variabilita medzi populáciami v rámci skupín) naznačujú, že genetická diverzita je výrazná aj medzi populáciami, ktoré patria do rovnakej jazykovej rodiny (12,3 %), subsistenčnej skupiny (14,69 %) alebo geografického regiónu – ako napríklad medzi populáciami vo východnej a západnej Afrike (17,84 %) či medzi populáciami obývajúcimi oblasť sahelu a južnejšie položené regióny (17,35 %).

4.3.2.2 Inter-populačné vyhodnotenie – PCoA

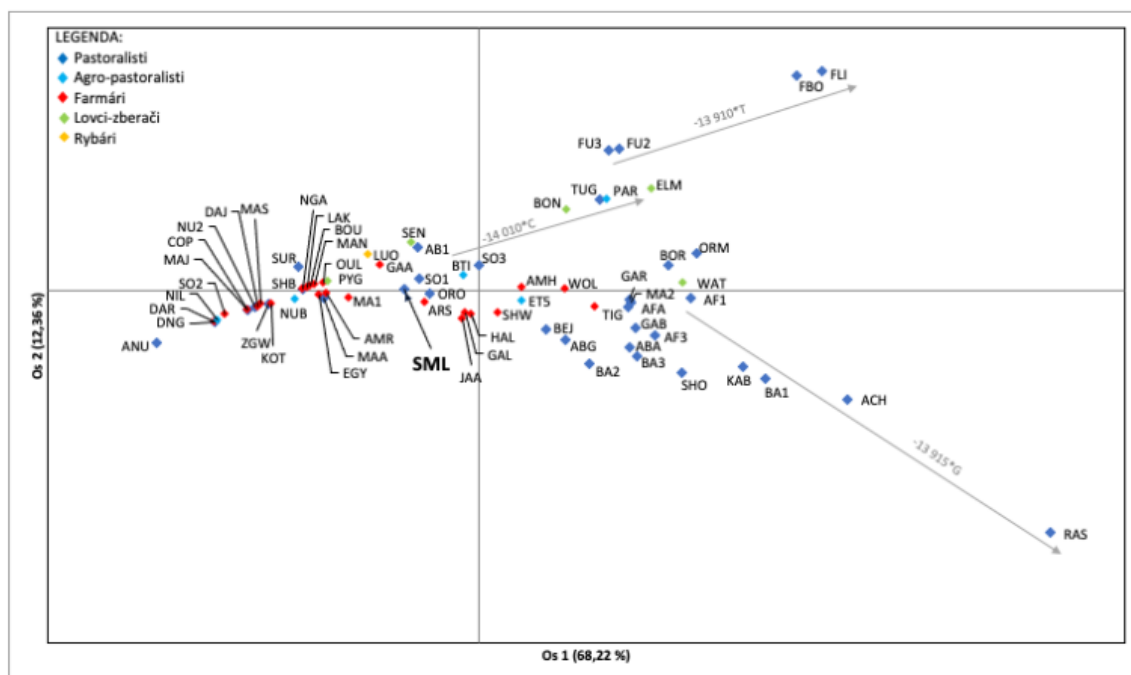
Výsledky PCoA analýzy pre jednotlivé skúmané kritériá, teda subsistenciu, jazykovú príslušnosť a geografickú lokalitu sú zobrazené v nasledujúcich grafoch (viď Graf 1 – 5).

Vo všetkých prezentovaných grafoch os x predstavuje 68,22 % nájdenej variability, teda väčšinu a os y vysvetľuje 12,35 % variability.

V grafoch je ďalej možné pozorovať niekoľko trendov. V ľavej oblasti grafu je zhhluk populácií s nízkymi, respektíve nulovými frekvenciami všetkých pozorovaných alel a vpravo sa vyskytujú populácie s vyššími frekvenciami LP variant.

Trend nárastu frekvencie alely -13 910*T je možné pozorovať v smere k pravému hornému rohu, podobne taktiež v menšej miere u varianty -14 010*C. Zhhlukovanie populácií s vysokou frekvenciou varianty -13 915*G je pozorovateľný smerom k pravému dolnému rohu.

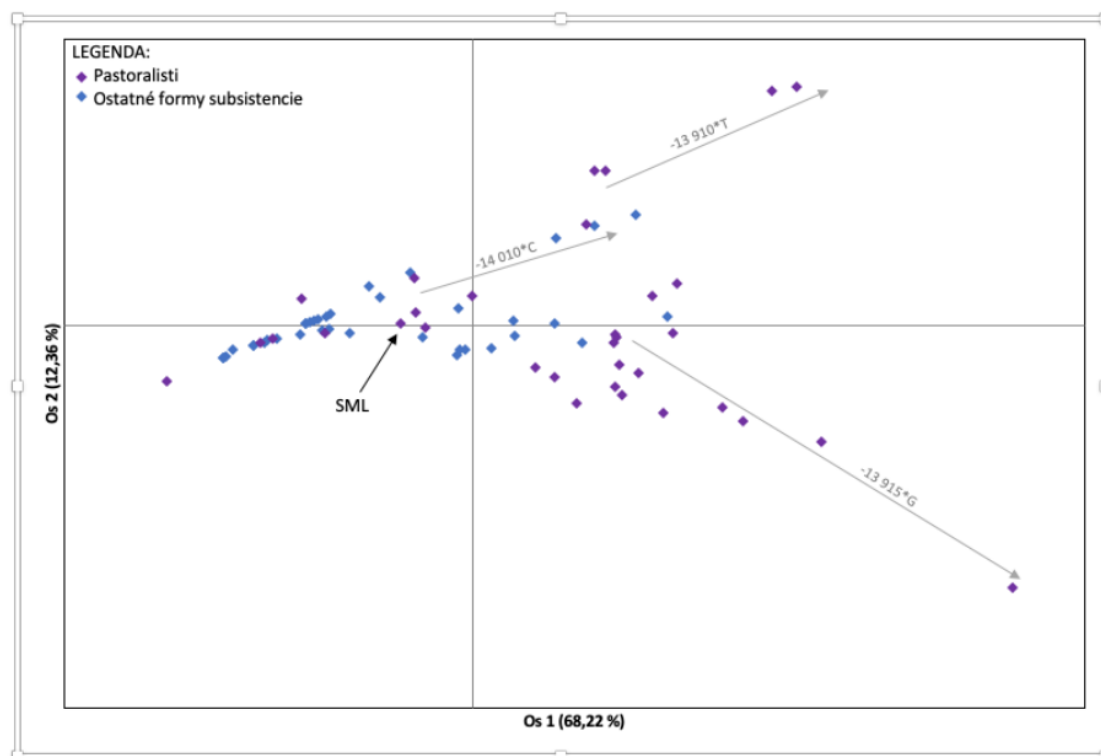
Populácia SML sa na grafe (viď Graf 1) vyskytuje v blízkosti populácií s označením ASR, ORO, SO1. Tieto skratky reprezentujú populácie Somálčanov (SO1) a Oromov (ORO), ktoré obe praktizujú pastoralizmus, patria do afroázijskej jazykovej rodiny a vyskytujú sa na území Etiópie a Sudáncov (ARS), praktizujúcich farmárstvo taktiež patriacich do afroázijskej jazykovej rodiny (viď Tabuľka 3).



Graf 1: PCoA vizualizujúca skúmané populácie rozdelené na základe praktizovanej subsistencie s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G.

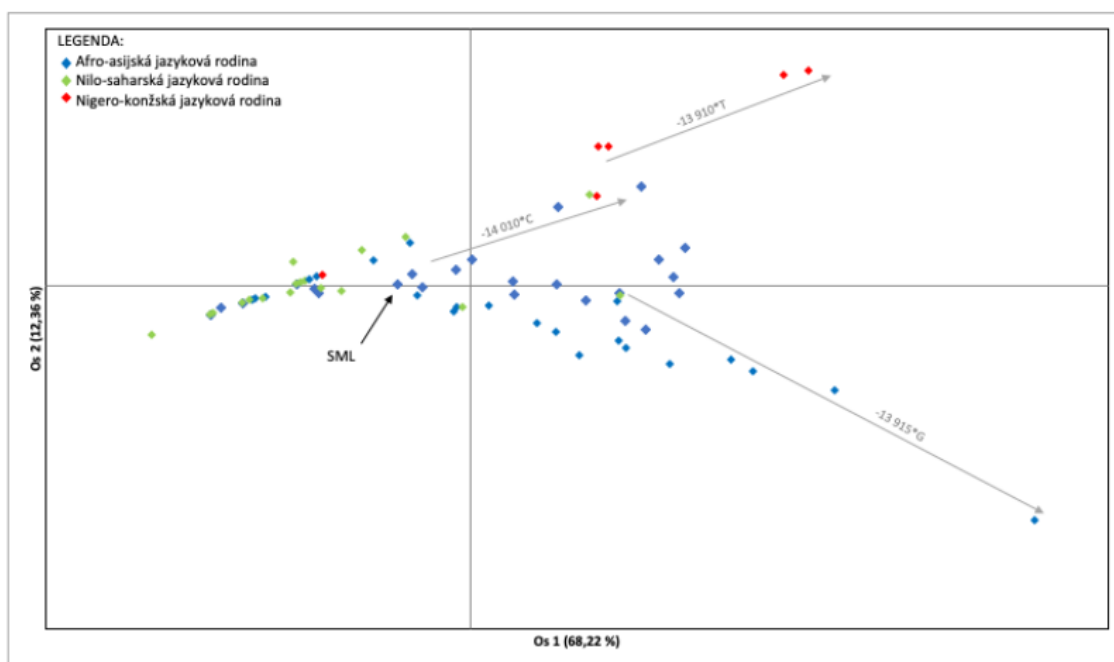
Graf 2 zobrazujúci zadelenie populácií na základe životnej stratégie ukazuje, že populácie praktizujúce pastoralizmus sa zhľukujú prevažne v centrálnej a pravej časti grafu, teda v oblasti bohatej na LP varianty, primárne -13 915*G, -13 910*T a -13 907*G). Ostatné formy subsistencie sú viac rozptýlené, ale všeobecne sú zhľuknuté prevažne v ľavej časti

grafu (oblasti nižších LP frekvencií). Toto rozdelenie by podporovalo hypotézu selekcie LP na základe mliečnej konzumácie spojennej s pastoralistickým životným štýlom, i keď korelácia nie je jednoznačná.



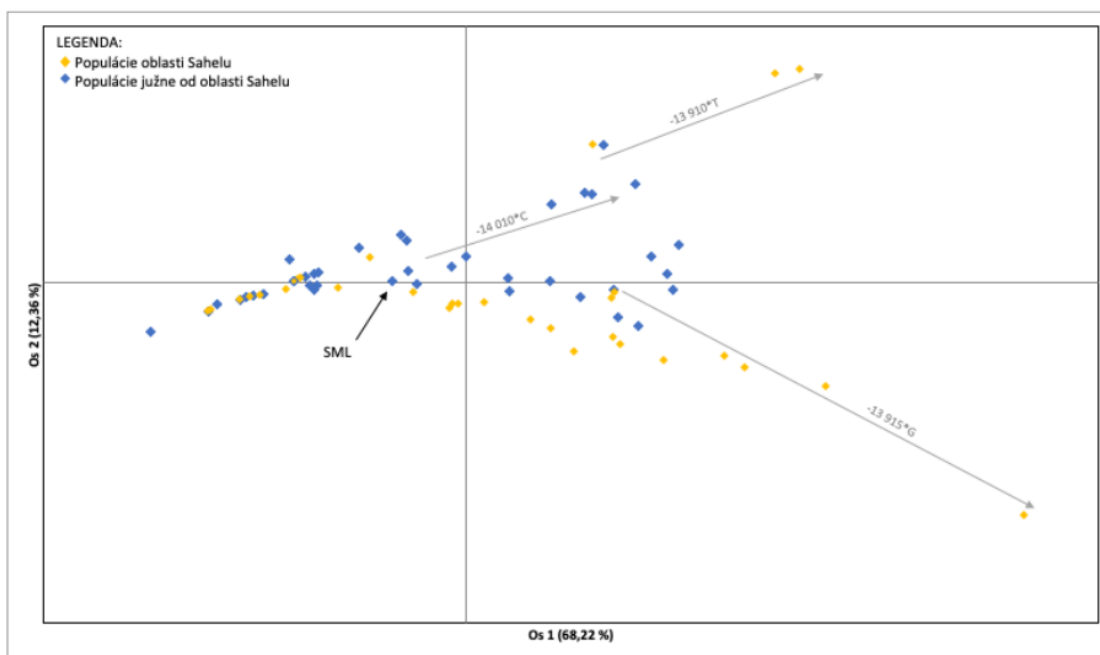
Graf 2: PCoA vizualizujúca skúmané populácie rozdelené do skupín Pastoralisti a Ostatné formy subsistencie s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu

Vizualizácia genetických vzdialeností na základe jazykovej príslušnosti ukazujú zaujímavejšie trendy (viď Graf 3). Populácie patriace do afroázijskej jazykovej rodiny sa vyskytujú na grafe hlavne v centrálnej a pravej časti, teda v oblasti vyšších LP frekvencií, zastúpené primárne variantami -13 915*G a -13 907*G, doplnené o -14 010*C variantu. Rovnako sa v oblasti vysokých LP frekvencií vyskytujú i populácie nigerokonžskej jazykovej rodiny, reprezentované Fulbami, zastúpené variantou -13 910*T. Naopak populácie patriace do nilo-saharskej jazykovej rodiny sa vyskytujú hlavne v oblasti nízkych LP frekvencií.

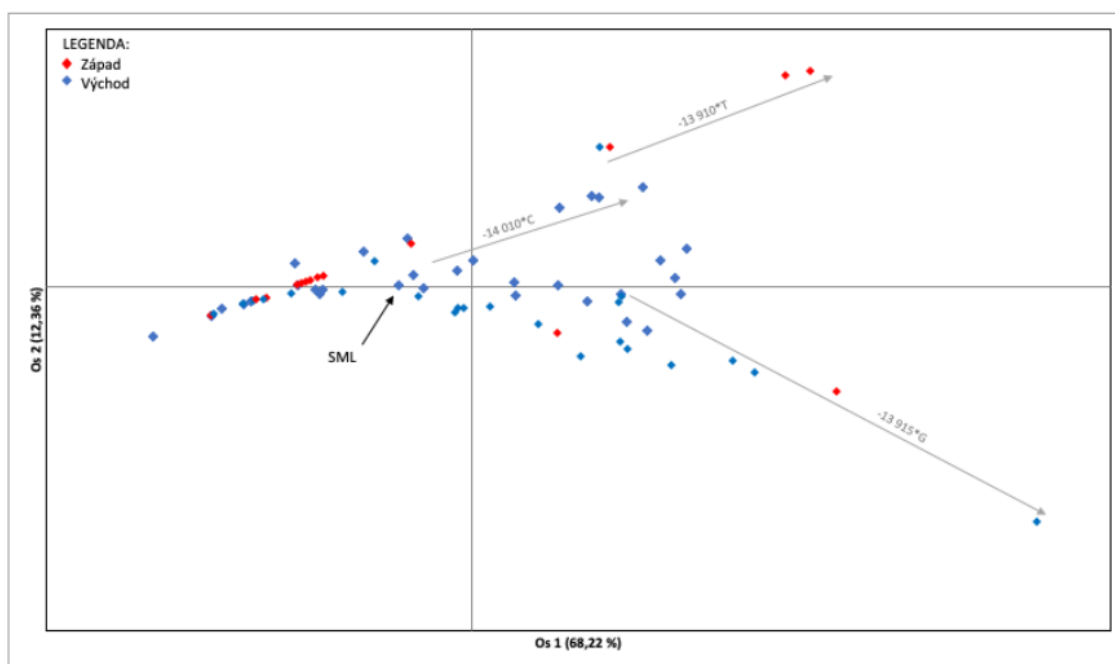


Graf 3: PCoA vizualizujúca rozdelenie populácií na základe jazykovej príslušnosti s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu

Rozčlenenie na skupiny podľa geografickej lokality neukázalo výrazné trendy. V severo-južnej osi je možné pozorovať rozlíšenie hlavne v zastúpení prítomných LP variant, kde populácie oblasti ahelu sú reprezentované arabskou variantou -13 915*G a u populácií Fulbov euroázijskou variantou -13 910*T. Naopak varianta -14 010*C v tejto oblasti úplne absentuje. Populácie vyskytujúce sa južne od oblasti sahelu sú zase reprezentované prevažne pôvodnými východoafrickými variantami -14 010*C, -13 915*G a -13 907*G (viď Graf 4). Rozdelenie v horizontálnej osi ukazuje, že väčšina populácií zaradených do skupiny Západ sa na grafe zhlukuje v oblasti nízkych LP frekvencií, okrem populácií Fulbov (vpravo hore) a arabských Baggarov (vľavo dole) (viď Graf 5).



Graf 4: PCoA vizualizujúca rozdelenie populácií na základe geografickej lokality vo vertikálnej osi s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu



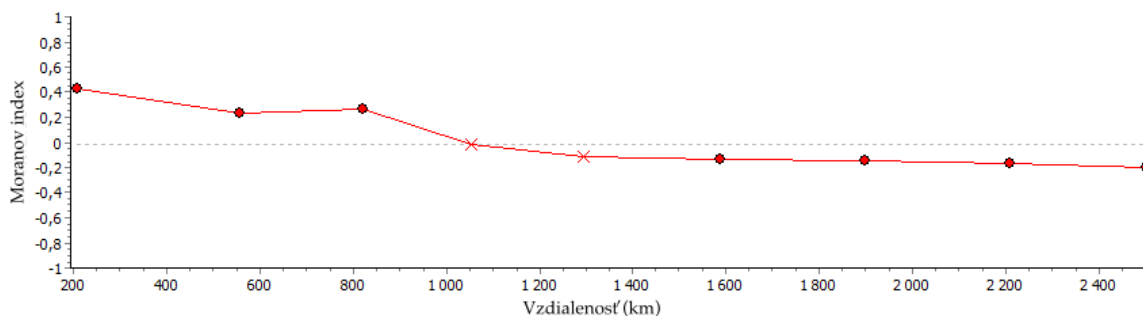
Graf 5: PCoA vizualizujúca rozdelenie populácií na základe geografickej lokality v horizontálnej osi s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu

4.3.2.3 Inter-populačné vyhodnotenie – autokorelačná analýza

Výsledky autokorelačnej analýzy sú prezentované vo forme nasledujúcich korelogramov (viď Obrázok 17 – 20), kde os x vyjadruje geografickú vzdialenosť v kilometroch a os y

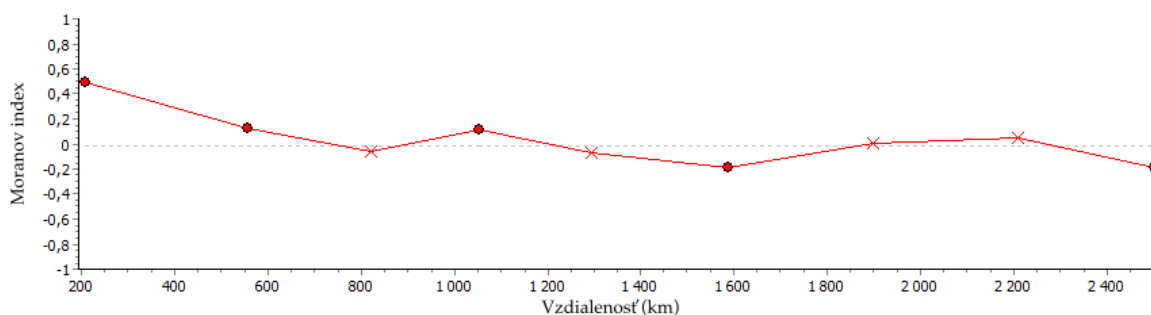
reprezentuje autokoreláciu vyjadrenú Moranovým indexom. Signifikantné autokorelačné koeficienty sú vyznačené pomocou červených kruhov a nesignifikantné pomocou krížikov.

Najvyššiu klinálnu variabilitu vykazuje varianta -14 010*C (viď Obrázok 17), ktorej distribúcia zdá sa podlieha vzoru výskytu (nie je náhodná) a je možné sledovať kontinuálny pokles frekvencií varianty u jednotlivých populácií v závislosti od geografickej vzdialenosti.



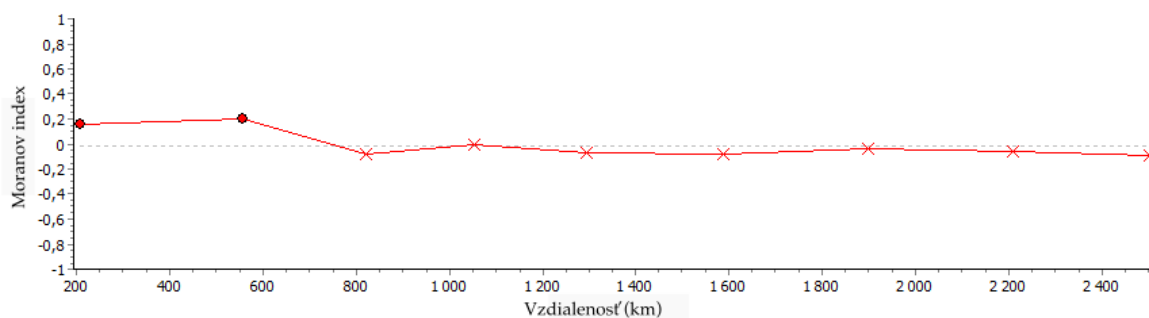
Obrázok 17: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -14 010*C vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty

Distribúcia varianty -13 907*G je v rámci skúmaných populácií východnej Afriky náhodná a nie je viazaná na geografickú vzdialenosť, keďže na korelograme nie je pozorovateľný žiadny súvislý trend a hodnoty Moranovho indexu kolíšu (viď Obrázok 18).

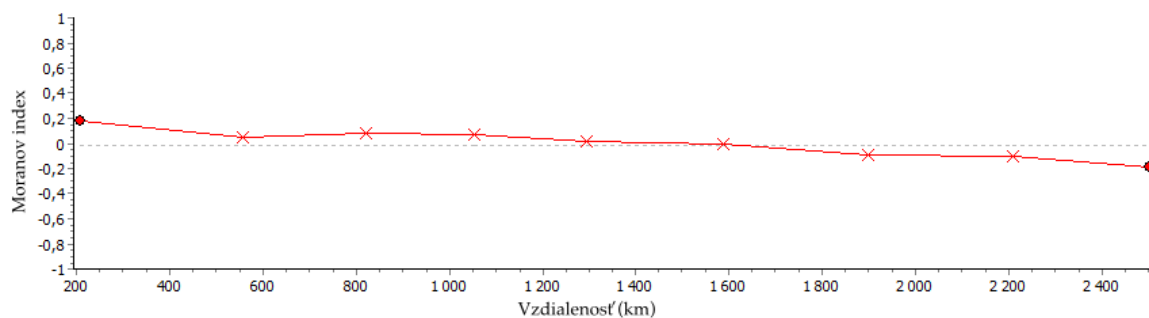


Obrázok 18: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -13 907*G vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty

V prípade sledovania populačných frekvencií varianty -13 915*G (viď Obrázok 19) je zrejme možné vylúčiť klinálny vzor, keďže takmer všetky autokorelačné koeficienty sú nesignifikantné a hodnoty Moranovho indexu kolíšu okolo nuly. Podobne sa prejavuje i distribúcia varianty -13 910*T, ktorá taktiež naznačuje absenciu priestorovej štruktúry (viď Obrázok 20). Výskyt oboch variant je vo východnej Afrike náhodný, prípadne rovnomerne rozptýlený.



Obrázok 19: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -13 915*G vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty



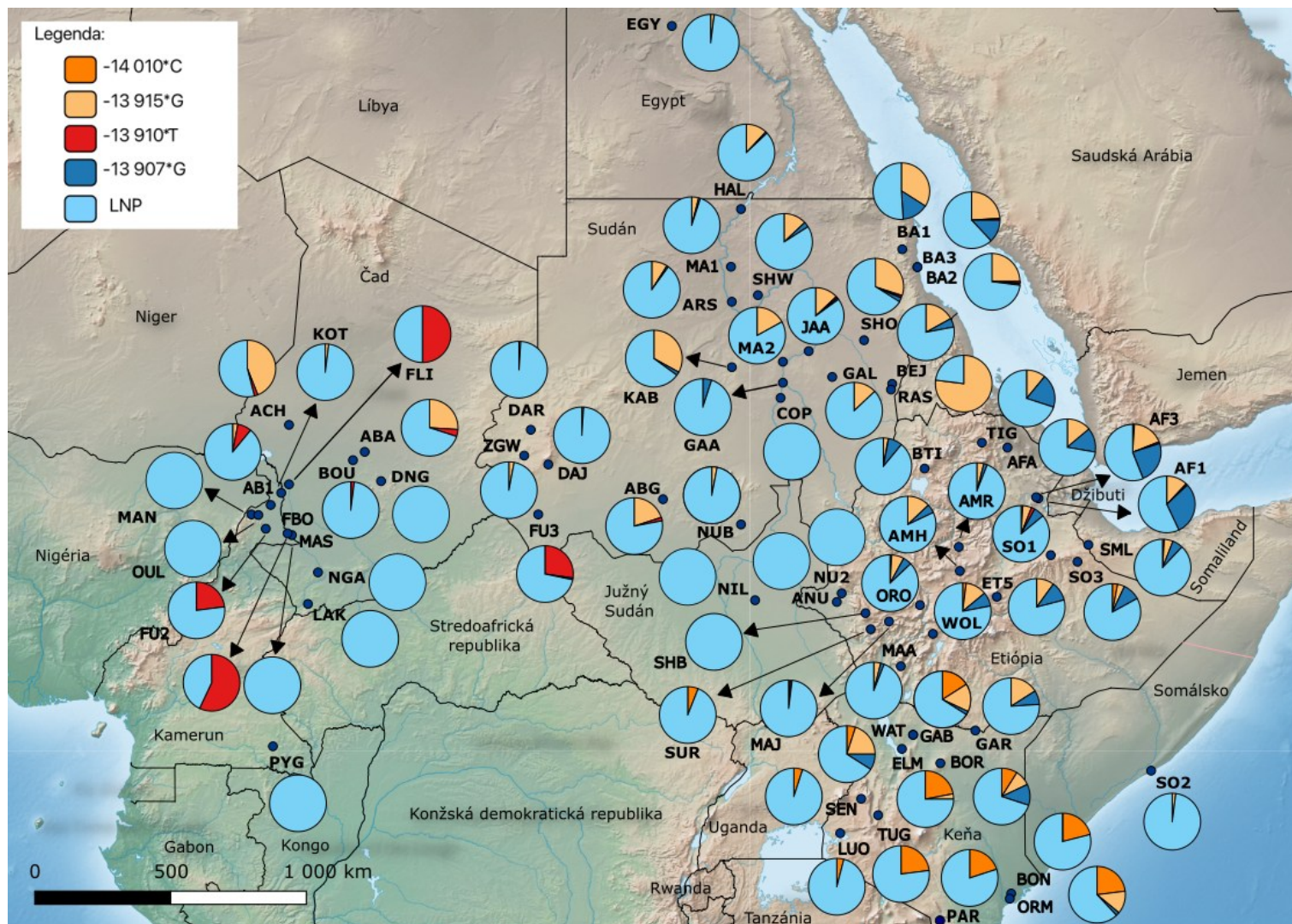
Obrázok 20: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -13 910*T vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty

4.4 Diskusia

4.4.1 LP vo východnej Afrike

Genetické dedičstvo Afriky je formované komplexnou súhrou geografických, jazykových a kultúrnych faktorov, pričom krátkodobé i dlhodobé migrácie spôsobili prítomnosť populácií so zmiešaným genetickým pôvodom (Fan et al. 2019). Tieto pozorovania zároveň korelujú s výsledkami Nováčkovej et al. (2020), ktorá na súbore 39 populácií zo širšej oblasti sahelu ukazuje, že subsistenčná stratégia významne ovplyvňuje genetickú štruktúru populácií, hoci rôznym spôsobom. Zatiaľ čo u sedavých farmárskych skupín sa na diferenciácii podieľa najmä geografická vzdialenosť (tzv. *isolation by distance*), u nomádskych pastierov zohráva väčšiu úlohu jazyková príslušnosť.

I v nadväznosti na tieto zistenia diskusia venovaná analýze výskytu LP v kontexte subsistencie, jazykovej príslušnosti a geografickej distribúcie. Východiskom je mapa východnej Afriky so znázornením skúmaných populácií (viď Obrázok 21).



Obrázok 21: Mapa 70 populácií východnej Afriky analyzovaných v rámci praktickej časti diplomovej práce. U jednotlivých populácií sú vo forme koláčového grafu vizualizované i frekvencie 4 LP asocioaných variant

4.4.1.1 LP a subsistencia

I napriek pretrvávajúcej nejasnosti týkajúcej sa konkrétnej selekčnej výhody mliečnej konzumácie sa dnes verí, že LP minimálne v Afrike vznikla ako adaptácia na pastiersky životný štýl. Vo svetle týchto informácií by sa mali populácie praktizujúce pastoralizmus, na rozdiel od tých usadlých, prípadne praktizujúcich iné formy životnej stratégie ako napríklad lovečstvo-zberačstvo, prejavovať vysokým podielom LP.

Na overenie tejto hypotézy boli vykonané analýzy AMOVA a PCoA. Zdá sa, že praktizujúca subsistencia má na formovanie genetickej variability LP vo východnej Afrike na základe výsledkov AMOVA len mierny vplyv – 6,36 % (viď Tabuľka 6), čo neposkytuje silnú podporu hypotézy (viď Hypotéza 3 v kapitole 3.2). Podobné výsledky v oblasti sahelu poskytuje i práca Diallo et al. (2022), ktorá ukazuje, že genetická variabilita koreluje viac s geografiou a jazykovou príslušnosťou, než so životným štýlom.

Výraznejšiu podporu hypotézy poskytla PCoA vizualizácia, kde je na grafe zobrazujúcom rozdelenie populácií na skupiny *Pastoralisti* a *Ostatné formy subsistencie* (viď Graf 2) väčšina pastoralistických populácií lokalizovaná v oblasti vyšších LP frekvencií (pravá časť grafu), prípadne v strednej oblasti.

Najviac prekvapivou je lokalizácia populácie Anuak, pastoralistickej populácie s dokumentovanou mliečnou konzumáciou z Etiópie, v ľavej časti grafu so zaznamenanými nulovými frekvenciami. Populácia patrí do nilo-saharskej jazykovej rodiny a bola skúmaná v rámci štúdie Jones et al. (2015), ktorej výsledky ukazujú, že v populácii nebola zaznamenaná prítomnosť žiadnej LP asociovanej varianty. Zaznamenanou bola len 10 % frekvencia alely -13 800*T, u ktorej ale kauzalita s LP nie je potvrdená. Tento výsledok by podľa autora však mohol značiť, že za LP by v prípade tejto populácie mohla byť zodpovedná iná genetická adaptácia (Jones et al. 2015).

Prekvapivo vysoké frekvencie LP (a lokalizáciu v pravej časti grafu) boli zaznamenané u farmárskych populácií Tigray, Wolayta a Amhara. Tento fakt by mohol byť dôsledkom historického génového toku z okolitých afroázijsky hovoriacich pastierskych a agro-pastoralistických populácií. Najpravdepodobnejšími zdrojmi tohto genetického vplyvu sú predovšetkým susediaci Afari, ako aj rozšírení Oromo a Somálčania, u ktorých genetické štúdie ukazujú výraznú podobnosť haploskupín (Messina et al. 2017). Zároveň je LP, rovnako ako v prípade menovaných farmárskych populácií, v týchto populáciách výsledkom LP variant -13 907*G a -13 915*G (viď Tabuľka 3).

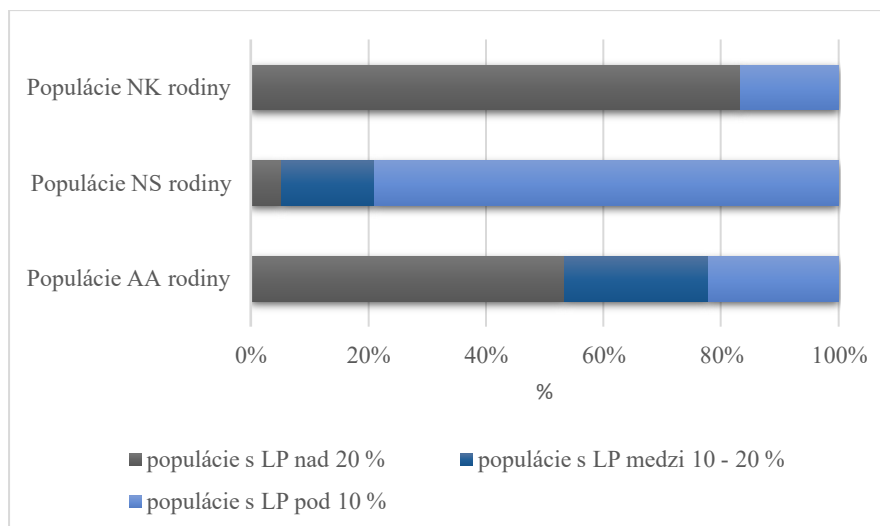
Rovnaký jav, teda vysoká miera génového toku, ale v opačnom smere tj. od usadlých populácií smerom k pastierskym, by mohol poskytnúť vysvetlenie i pre relatívne nízke LP frekvencie populácií Oromo (ORO) či Somálčanov (SML a SO1). Avšak vysvetlenie javu by mohli poskytnúť i iné hypotézy (viď kapitola 3.6.2).

Zaujímavým javom je i pozícia lovečsko-zberačských populácií Boni (BON), Elmolo (ELM) a Wata (WAT) z Kene v oblasti vysokých LP frekvencií, ktoré boli zaznamenané v predchádzajúcich štúdiách (Ranciaro et al. 2014; Schlebusch a Jakobsson 2018; Tishkoff et al. 2007). Vysvetlením vysokých frekvencií LP v týchto populáciách by mohla v tom, že LPH sa okrem hydrolýzy laktózy podieľa i na štiepení biologicky aktívnych glukozidov ako phlorizín (viď kapitola 2.1) prítomných v rastlinnej zložke potravy, ktoré tvoria značné percento stravy týchto populácií (Day et al. 2000; Németh et al. 2003).

4.4.1.2 LP a jazykové rodiny

Mierne výraznejší vplyv na formovanie genetickej variability LP vo východnej Afrike, a to 10,97 % (viď Tabuľka 6) má na základe výsledkov AMOVA analýzy jazyková príslušnosť. Už viacero autorov popísalo, že práve lingvistická diverzita do značnej miery odráža genetickú diverzitu regiónu, pričom opäť výraznejší trend korelácie poskytl PCoA analýza (viď Graf 3). Tá ukazuje, že populácie vykazujúce vyššie LP frekvencie patria primárne do nigero-konžskej či afroázijskej jazykovej rodiny. Približne 53 % populácií afroázijskej jazykovej rodiny (viď Graf 6) vykazuje LP frekvencie vyššie ako 20 %, nad 10 % je to dokonca takmer 78 %. Ešte markantnejšie sú čísla nigero-konžskej jazykovej rodiny, kde až približne 83 % populácií dosahuje frekvencie LP nad 20 %, avšak je nutné dodať, že v rámci diplomovej práce bolo sledovaných len 6 populácií patriacich do tejto rodiny.

Populácie nilo-saharskej jazykovej rodiny naopak vykazujú frekvencie LP nad 10 % len v približne 1/5 a frekvencia väčšiny populácií (takmer 80 % – viď Graf 6) nedosahuje ani 10 %.



Graf 6: Graf zobrazujúci percentuálne zastúpenie populácií v závislosti od celkovej frekvencie LP danej populácie v rámci jednotlivých jazykových rodín

Rozdiely medzi jazykovými rodinami možno vysvetliť aj historickým vývojom a šírením rôznych LP mutácií. Každá jazyková skupina je totiž spojená s iným historickým kontextom a migračnými trajektóriami, ktoré sa podieľali na šírení určitých genetických variant (ich prehľad viď Tabuľka 7).

Napríklad populácie Fulbov, ktoré patria do nigero-konžskej jazykovej rodiny, vykazujú vysoké frekvencie európskej varianty -13 910*T, ktorá sa do západnej Afriky pravdepodobne dostala cez severnú Afriku v priebehu transsaharských migrácií (Fortes-Lima et al. 2022; Vicente et al. 2019). Afroázijsky hovoriace skupiny, ako napríklad arabskí pastieri, šírili variantu -13 915*G smerom na juh, predovšetkým počas arabskej expanzie, čo je viditeľné v jej výskyte u beduínskych populácií a niektorých komunít v Sudáne, Etiópii a Keni (Priehodová et al. 2014, 2017; Hollfelder et al. 2021). Ďalšou typickou afroázijskou variantou je -13 907*G, často spájaná s populáciami Rohu Afriky, vrátane etiópskych a somálskych skupín. Naproti tomu nilo-saharské populácie sa z historického hľadiska menej zapájali do veľkých migračných tokov a menej sa kontaktovali s LP-pozitívnymi skupinami, čo môže vysvetliť ich nízke frekvencie LP mutácií.

Tabuľka 7: Prehľad dominantných LP variant a ich pravdepodobného pôvodu v rámci jednotlivých jazykových rodín

JAZYKOVÁ RODINA	DOMINANTNÉ LP MUTÁCIE	PRAVDEPODOBNÝ PÔVOD
Afroázijská	-13915*G, -13907*G	Arabská expanzia, Roh Afriky
Nigero-konžská	-13910*T	Severná Afrika – transsaharské migrácie
Nilo-saharská	zriedkavo -13907*G, nízka variabilita	Lokalizované skupiny, obmedzený kontakt

Tento vývoj dobre koreluje so zisteniami Nováčkovej et al. (2020), ktorá preukázala, že u nomádskych pastoralistov existuje signifikantná korelácia medzi genetickou a jazykovou vzdialenosťou – teda že jazyk môže, byť dobrým ukazovateľom genetickej diferenciácie. U usadlých populácií, ako sú napríklad farmári z nilo-saharskej jazykovej rodiny, však tento vzťah nie je pozorovaný. Nilo-saharská jazyková rodina je pritom z hlavných afrických jazykových skupín považovaná za najmenej konzistentnú a podľa lingvistov bola pôvodne definovaná ako zoskupenie jazykov, ktoré sa nepodarilo presne zaradiť do iných rodín. Táto jazyková a genetická heterogenita, v kombinácii so skutočnosťou, že nilo-saharské populácie sú prevažne usadlé a nezapájali sa do veľkých migračných vln šíriacich LP mutácie, môže byť zodpovedná za ich nižšie frekvencie LP, ktoré pravdepodobne odrážajú historickú izoláciu a absenciu selekčného tlaku súvisiaceho s konzumáciou mliečnych produktov.

4.4.1.3 LP a geografická lokalita

Geografická lokalita má podľa výsledkov na rozšírenie LP v oblasti východnej Afriky takmer zanedbateľný vplyv s 1,91 % vo vertikálnej osi a 1,57 % v horizontálnej osi, a nepredstavuje tak významný faktor formujúci genetickú variabilitu LP.

I výsledky autokorelačnej analýzy (viď Obrázky 17 – 20) ukazujú na fakt, že okrem varianty -14 010*C nie je možné hovoriť o viazanosti výskytu variant -13 907*G, -13 915*G a -13 010*T na určitú geografickú lokalitu a výskyt týchto variant je v rámci východnej Afriky skôr náhodný.

Distribúcia varianty -14 010*C naopak zdá sa vykazuje určitý vzor výskytu (viď Obrázok 17). Najvyššie frekvencie varianty sú v rámci skúmaného datasetu prítomné v populáciách južnej Kene – Orma, Pare a Tugen, či v už spomínaných lovecko-zberačských populáciách Boni a Elmolo (viď Obrázok 21). S rastúcou vzdialenosťou a posunom smerom na sever a východ je možné pozorovať pokles frekvencií varianty (tzv. klinálna variabilita).

Každopádne výsledok PCoA analýzy ukazuje na rozloženie variant v severo-južnej osi (viď Graf 4), kde je možné pozorovať, že oblasť sahelu je reprezentovaná hlavne arabskou variantou -13 915*G či v prípade Fulbov európskou variantou -13 910*T.

Tieto zistenia korelujú s historickými a migračnými procesmi regiónu, keďže Fulbovia, ako už bolo uvedené, sú charakteristickí prítomnosťou eurázijskej LP varianty.

Rovnako tak súhlasí i prítomnosť arabskej varianty v Sudáne, obývanom prevažne arabizovanými populáciami, ako napríklad Baggara či Kabbabiš, ktoré v dôsledku historickej arabizácie – prebiehajúcej najmä od 7. storočia – a s ňou spojeného dlhodobého génového toku vykazujú vysoké frekvencie arabskej LP varianty -13 915*G.

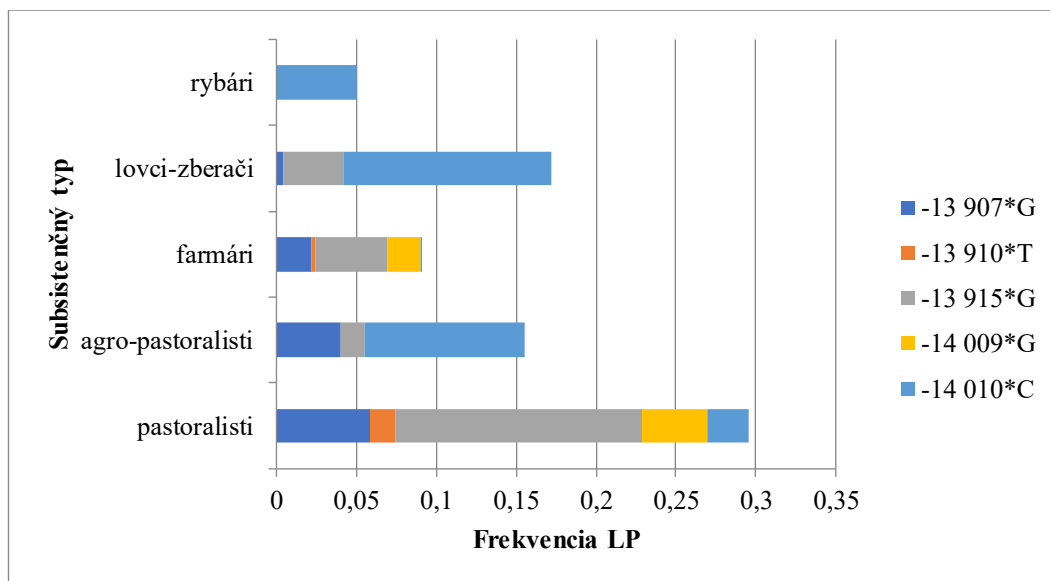
Na základe grafu (viď Graf 4) je ďalej možné určiť, že v populáciách obývajúcich krajiny Etiópie, Somálska, Kene a Kamerunu je LP výsledkom prítomnosti hlavne pôvodných východoafrických variant -14 010*C a -13 907*G, doplnených o arabskú variantu -13 915*G. Prevažný výskyt pôvodných východoafrických variant v populáciách obývajúcich územia Etiópie, Kene a Somálska, zrejme rovnako predstavuje príklad tejto korelácie, keďže predpokladaný vznik variant -14 010*C a -13 907*G je lokalizovaný do Etiópie, odkiaľ došlo k ich rozšíreniu prostredníctvom kušitských pastoralistov ďalej na východ a juh (Tishkoff et al. 2007; 2009).

*4.4.1.4 Výskyt varianty -14 009*G vo východnej Afrike*

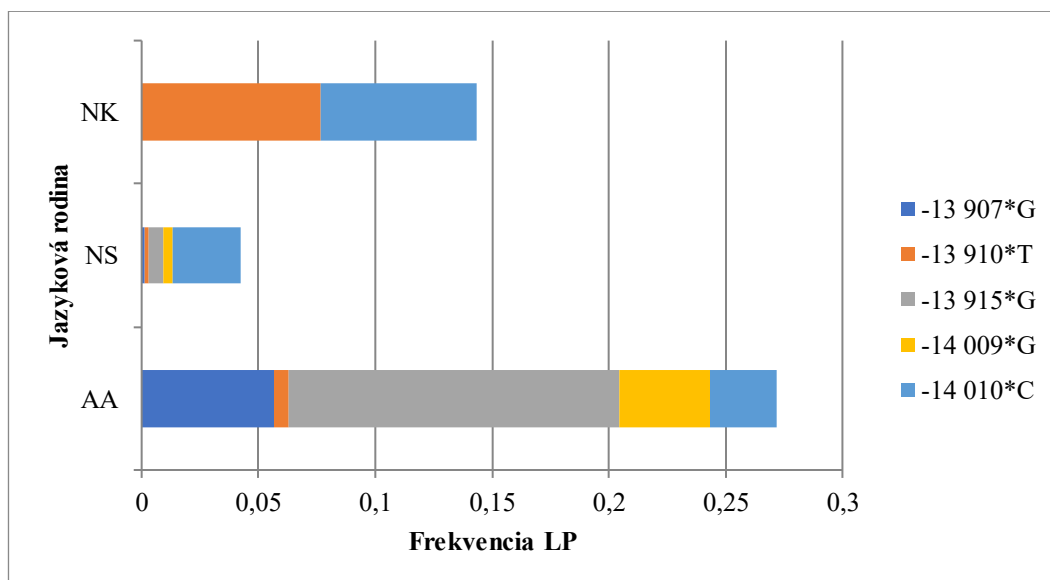
Varianta -14 009*G predstavuje doteraz poslednú identifikovanú mutáciu asociovanú s LP. Jej pôvod je lokalizovaný na území východnej Afriky a vyskytuje sa hlavne v Etiópii (Bersaglieri et al. 2004; Imtiaz et al. 2007; Ingram et al. 2007; Ranciaro et al. 2014; Tishkoff et al. 2007) či v Sudáne (Ranciaro et al. 2014), pričom na základe vysokých frekvencií tejto varianty u sudánskych Bejov je jej pôvod lokalizovaný práve v tejto krajine (Campbell a Ranciaro 2021)

Na rozdiel od ostatných LP variant je o tejto alele známych pomerne málo informácií a i preto bola -14 009*G vynechaná z časti analýz (viď kapitola 3.2.2). Napriek tomu bolo možné z pôvodného datasetu, ktorý zahŕňal frekvencie SNP variant u 107 populácií z východnej Afriky (vrátane vlastných údajov zo Somalilandu), vytvoriť podmnožinu obsahujúcu 53 populácií s dostupnými údajmi aj pre túto alelu. V rámci tvorby datasetu bolo opäť uplatnené kritérium o sledovaní len populácií s vyšším počtom jedincov (n.), teda s n. väčším alebo rovným 15.

Percentuálne zastúpenie varianty -14 009*G na celkovom LP fenotype v rámci jednotlivých subsistenčných stratégií a jazykových rodín sú zobrazené v nasledujúcich grafoch (viď Graf 7 a 8).



Graf 7: Graf zobrazujúci zastúpenie varianty -14 009*G v rámci jednotlivých typov subsistenčných stratégií



Graf 8: Graf zobrazujúci zastúpenie varianty -14 009*G v rámci jednotlivých jazykových rodín

Rovnako ako v prípade datasetu obsahujúceho 70 populácií (vid' Tabuľka 3), bol v programe Arlequin i tento vyhodnocovaný ako celok, ale i na základe rozdelenia populácií do skupín podľa praktizujúcej subsistencie, jazykovej rodiny a geografickej lokality – vo vertikálnej i horizontálnej osi (vid' kapitola 3.2.2), pričom výsledky tejto analýzy sú zosumarizované v Tabuľke 8.

Tabuľka 8: Výsledky AMOVA analýzy s využitím datasetu obsahujúceho populácie so známymi frekvenčnými dátami pre všetkých 5 LP asociovaných variant obsahujúceho 53 populácií

SKÚMANÉ KRITÉRIUM	FCT (%)	FSC (%)	FST (%)
Celková analýza	81,51	18,49	
Subsistencia	4,40	14,33	81,27
Jazyková rodina	8,50	12,63	78,87
Sahel x Južne od sahelu	4,50	14,20	81,30
Východ x Západ	0,73	16,53	82,74

Zdá sa, že na rozdiel od datasetu obsahujúceho 70 populácií je po zahrnutí varianty -14 009*G do analýzy podiel subsistencie a jazykovej príslušnosti na formovaní variability LP ešte nižší – 4,40 % a 8,50 % oproti pôvodným 6,36 % a 10,97 % (viď Tabuľka 6). Rovnako nižší podiel má na formovaní i geografická lokalita v horizontálnej osi – len 0,73 % oproti pôvodným 1,57 %.

Prekvapivo vyšší podiel má v rámci tohto datasetu geografická lokalita vo vertikálnej osi, a to 4,50 % oproti pôvodným takmer 2 % (viď Tabuľka 6).

4.4.2 Populácia SML

Genetická analýza variant asociovaných s LP v populácií Somalilandu potvrdila pôvodné hypotézy (viď hypotézy 1 a 2 v kapitole 3.2), pričom zastúpenie a podiel jednotlivých LP variant na celkovom fenotype LP čiastočne slúži ako podpora druhej hypotézy. Najvyšší podiel mali 2 varianty: východoafrická varianta -13 907*G, prispievajúca k celkovej frekvencii 6 % a tzv. arabská varianta -13 915*G, vo frekvencii 5 %. Prítomnosť práve týchto variant je v kontexte geografickej polohy Somalilandu, teda na pomedzí východnej Afriky a Arabského polostrova, logická a predpokladá sa, že -13 915*G bola predstavená do populácie v dôsledku šírenia arabských pastoralistov (Priehodová 2017; Priehodová et al. 2017). -13 907*G so svojím predpokladaným pôvodom v kušitsky hovoriacich populáciách východnej Etiópie zase predstavuje východoafrické dedičstvo (Tishkoff et al. 2009). Okrem varianty -13 907*G k východoafrickému dedičstvu prispievajú i varianty -14 010*C a -14 009*G, zhodne s frekvenciou 1 %, ktorých pôvod je rovnako lokalizovaný na území východnej Afriky. Toto zastúpenie variant koreluje s výsledkami štúdie Ali et al. (2020) ukazujúcej, že približne 60 % somálskeho genetického dedičstva je východoafrického pôvodu a ostatných približne 40 % práve západoázijského.

Populácia i napriek praktizujúcemu pastoralizmu a mliečnej konzumácii vykazuje len relatívne nízke hodnoty frekvencie LP fenotypu – 13 %. Tieto hodnoty sú v súlade s predchádzajúcimi štúdiami zaoberajúcimi sa i výskytom LP v Somálsku, ktoré uvádzajú frekvencie na úrovni 5 – 12 % (Enattah et al. 2008; Ingram et al. 2007).

Vysvetlením by mohla by prítomnosť početných migrácií v rámci regiónu, z ktorých ústiaca vysoká miera génového toku bránila zachovaniu silného signálu adaptácie na trávenie laktózy (Ségurel a Bon 2017). Podporou tvrdenia by mohol byť i fakt, že všetky identifikované LP varianty sa v populácii vyskytujú výlučne v heterozygotnom stave (viď Tabuľka 5).

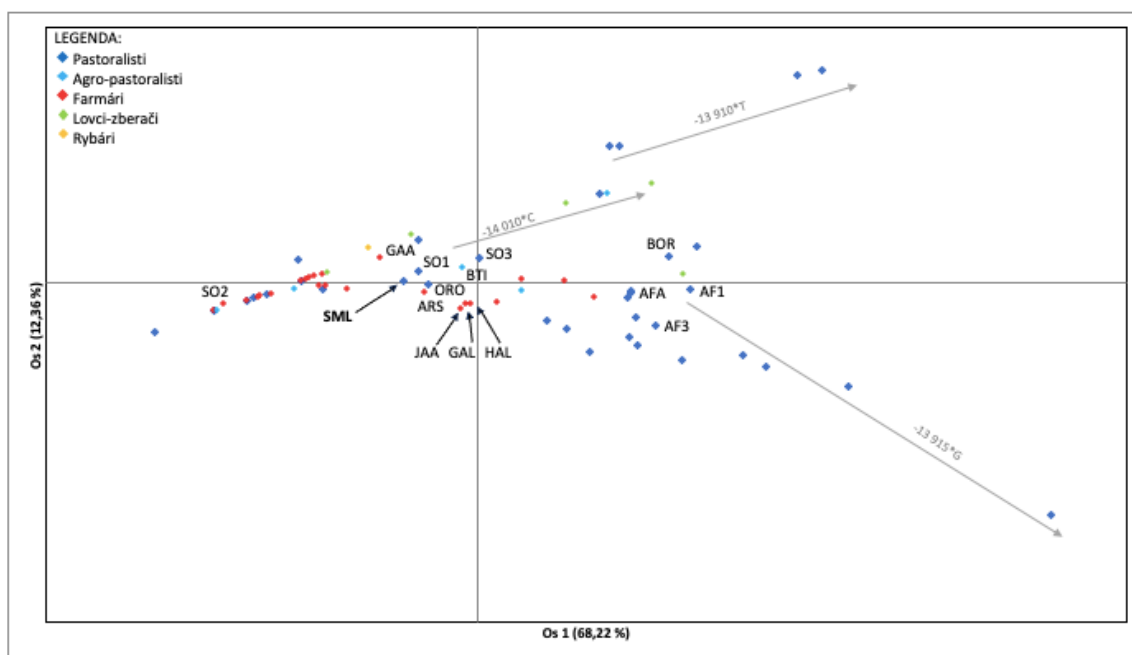
Ďalším vysvetlením tohto javu by mohla byť alternatívna forma adaptácie na mliečnu konzumáciu prostredníctvom črevnej mikrobioty. Táto adaptácia by mohla objasniť i Ingram (2008) sledovanú populáciu Somáľčanov z Etiópie, ktorí i napriek pravidelnej konzumácii mlieka a absencii LP asociovaných variant, nevykazovala žiadne nežiaduce účinky.

Je však možné, že frekvencie LP sú len pozostatkom genetickej adaptácie z času, keď majorita populácie Somálska praktizovala nomádsky pastoralizmus, pričom dnes prechádza kultúrnym prechodom k usadlému spôsobu života, čo však úplne nevymazalo stopy genetickej adaptácie LP. Rovnako tak by mohli byť vysvetlené i nízke frekvencie v populácii Oromo (Triska et al. 2015).

Populácia Somalilandu je lokalizovaná vo vysoko geneticky i lingvisticky diverzifikovanom priestore východnej Afriky, a preto bolo okrem identifikácie LP frekvencií v samotnej populácii, potrebné zasadiť získané informácie do kontextu s ďalšími populáciami regiónu. Najvyššia genetická príbuznosť bola očakávaná s ostatnými populáciami Somáľčanov (v rámci datasetu označenými SO1 – 3, viď Tabuľka 3), ktorých vývoj do značnej miery formovali rovnaké historické a migračné procesy. Na základe prítomnosti rovnakej Y-haploskupiny (E1b1b1), tvoriacej až 80 % haplotypov Somáľčanov, sú ďalšími očakávanými blízko príbuznými populácie Rohu Afriky, ako populácie Etiópčanov, predovšetkým Oromo či Borana (v rámci datasetu označenými ORO a BOR, viď Tabuľka 3), ktoré navyše so Somáľčanmi zdieľajú Y chromozomálny STR g klaster DYS19-11 (Sanchez et al. 2005) či Beta Israeli (BTI) (Ali et al. 2020). Ďalej sa za blízko príbuzné udávajú i populácie Sudáncov, Egypťanov a Berberov (Cruciani et al. 2004; Hassan et al. 2008). V dôsledku geografickej blízkosti a historických faktorov by mohol byť pomerne vysoký level príbuznosti i s populáciami Afarov (v rámci datasetu označenými

AF1, AF3, AFA, vid' Tabuľka 3). Obe skupiny patria do kušitskej vetvy afroázijskej jazykovej rodiny a žijú v susediacich oblastiach severovýchodnej Etiópie, Džibutska a severného Somálska. Historicky mali blízke interakcie, a to najmä prostredníctvom pastierskych migrácií, svadobných aliancií a obchodných ciest, ktoré viedli pozdĺž pobrežia Adenského zálivu. Počas rozmachu islamského obchodu v stredoveku sa tieto kontakty ešte prehĺbili, keďže Afari a Somálčania patrili k dôležitým skupinám sprostredkujúcim pohyb tovaru, zvierat a ľudí medzi Arabským polostrovom a vnútrozemím Afriky. Dlhodobý kontakt v kombinácii s jazykovou a kultúrnou príbuznosťou viedol k génovému toku, čo potvrdzujú aj analýzy mitochondriálnej a autozomálnej DNA (Forte-Lima et al. 2022; Ranciaro et al. 2014).

Vizualizácia genetických vzdialeností prostredníctvom analýzy hlavných koordinát (PCoA) (vid' Graf 9) ukázala, že populácii Somalilandu sú v kontexte LP geneticky najbližšie populácie Oromo (ORO), populácia fenotypovaných Somálčanov (SO1) a populácia Sudáncov (ARS).



Graf 9: PCoA vizualizujúca vybrané populácie skúmané v rámci praktickej časti rozdelené na základe praktizovanej subsistencie s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G.

AF1 – Afar, AFA – Afar, AF3 – Afar, ARS – Sudánci, BTI – Beta Israeli (etiópski židia), BOR – Borana, GAA – Gaali, GAL – Gaalien, HAL – Halfawien, JAA – Jaali, SO1 – Fenotypovaní Somálčania SO2 – Somálčania, SO3 – Somálčania, SML – Somálčania (Somaliland)

Oromo (ORO) predstavuje populáciu vyskytujúcu sa na území Etiópie, praktizujúcu pastoralizmus s jazykovou príslušnosťou k afroázijskej rodine (kušitská vetva). Výskyt LP v populácii je veľmi podobný ako u populácie Somalilandu, s celkovou frekvenciou 13 %,

pričom najväčší podiel majú varianty -13 915*G (7 %) a -13 907* (5 %). Genetickú príbuznosť s populáciou Oromo popísali už i Sanchez et al. (2005), ktorý na základe analýzy Y-chromozómových markerov identifikoval už spomínaný STR g klaster DYS19-11, prítomný výlučne v populáciách Rohu Afriky, teda i Somálčanov a Oromo. Podobne tak blízkosť oboch populácií na základe mtDNA popísal i Messina et al. (2017), ktorý vizualizoval blízkosť populácií z lokalít Údolia Omo, teda oblasti výskytu populácie Oromo v rámci Etiópie a Somálska.

Populácia fenotypovaných Somálčanov, (SO1) rovnako ako populácia Oromo, predstavuje populáciu patriacu do afroázijskej jazykovej rodiny, praktizujúcu pastoralizmus. Z troch uvedených je populácií Somalilandu geograficky najbližšie, s lokalizáciou v Etiópii, v blízkosti hraníc so Somálskom. Frekvencia jednotlivých LP asociovaných variant úplne kopíruje frekvencie identifikované v populácii SML, jediným rozdielom je prítomnosť európskej varianty -13 910*T (s frekvenciou 2 %), ktorá v somalilandskej populácii úplne absentuje. Pomerne blízka je i ďalšia populácia Somálčanov (SO3), praktizujúca pastoralizmus, avšak populácia Somálčanov s označením SO2, je v skúmanom kontexte pomerne vzdialená. Vysvetlením by mohol byť fakt, že táto populácia je na rozdiel od ostatných dvoch usadlá a praktizuje farmárstvo, pričom celková frekvencia LP je len 2 %

Blízko je i populácia Beta Israeli, populácia etiópskych židov, patriacich do AA jazykovej rodiny a praktizujúcej pastoralizmus, pričom genetickú príbuznosť týchto populácií na základe SNP markerov popísal i Ali et al. (2020).

Na rozdiel od toho populácia Sudáncov (ARS), síce taktiež patriaca do afroázijskej jazykovej rodiny, praktizuje farmárstvo na území dnešného Sudánu. Sudánci vykazujú oproti somalilandskej populácii mierne vyššie zastúpenie varianty arabskej varianty -13 915*G, a to 9 %, ale nižšie zastúpenie východoafrickej -13 907*G. Táto populácia zrejme reprezentuje príklad populácie podčiarkujúcej i západoázijské dedičstvo prítomné v populácii SML. Rovnakým príkladom sú zrejme i populácie Jaali (JAA), Gaalien (GAL), Halfawien (HAL) a Gaali (GAA), pomerne blízke somalilandskej populácii, reprezentujúce arabizované populácie Sudánu, praktizujúce farmárstvo (Enattah et al. 2008; Hassan et al. 2016; Ingram et al. 2009a).

Predpokladaná genetická príbuznosť s populáciou Borana, pastoralistickou skupinou AA rodiny z Kene, identifikovaná na základe sledovania Y-haploskupín (Sanchez et al. 2005), sa v kontexte LP nepotvrdila, keďže populácia Borana je v rámci PCoA grafu

lokalizovaná takmer na opačnej strane. Populácia Borana má na rozdiel od populácie Somalilandu vyšší podiel LP frekvencie – 30 %, za ktorú je okrem variant -13 907*G a -13 915*G ako u Somáľčanov zodpovedná i varianta -14 010*C.

Rovnako tak sú na grafe vzdialené i populácie Afarov, ktoré na rozdiel od Somáľčanov vykazujú relatívne vysoké hodnoty LP frekvencií (27 %, 43 % a 44 %, vid' Tabuľka 3). Rozdiel by mohol spočívať v silnejšom selekčnom tlaku na LP v dôsledku praktizovania intenzívneho pastoralizmu Afarmi. V kontraste, nižšia LP frekvencia u Somáľčanov môže byť dôsledkom už vyššie spomenutých mechanizmov (Ranciaro et al. 2014; Campbell a Ranciaro 2021).

5 ZÁVER

Analýza genetických variant asociovaných s LP v populácii Somalilandu prispela k doplneniu poznatkov o tomto znaku v regióne východnej Afriky. Napriek tradične vysokému podielu pastoralistického spôsobu života a mliečnej konzumácie je celková frekvencia LP v populácii Somalilandu s hodnotou 13 % relatívne nízka. Vysvetlenie tohto faktu nie je jednoznačné, i keď bolo vyslovených niekoľko hypotéz, medzi ktoré patria alternatívna adaptácia na mliečnu konzumáciu prostredníctvom črevnej mikrobioty, vysoká miera genetického miešania brániaca zachovaniu silného signálu adaptácie či pozostatok genetickej adaptácie z času praktizovania intenzívnejšieho pastoralizmu.

V kontexte LP je somalilandská populácia geneticky najbližšia pastoralistickým skupinám z Etiópie a farmárskym populáciami z oblasti Sudánu, ktoré k východoafrickému dedičstvu zrejme prispievajú euroázijskou zložkou, reprezentovanou arabskou LP variantou -13 915*G, ktorú získali vďaka arabskej expanzii. Genetické dedičstvo populácie Somalilandu tak predstavuje výsledok stretu afrického s arabským svetom, pričom tieto výsledky sú v súlade s prvou a druhou hypotézou.

Zaujímavým poznatkom je, že očakávaná korelácia medzi LP a subsistenčnou stratégiou nie je v tomto regióne taká jednoznačná, teda nedošlo k jednoznačnému potvrdeniu tretej hypotézy. Výsledky AMOVA analýzy ukázali len slabý vplyv spôsobu obživy na genetickú variabilitu LP (6,36 %), čo môže byť spôsobené historicky častými migráciami, ako aj vysokým stupňom génového toku. Napriek tomu PCoA vizualizácia naznačuje aspoň čiastočný súvis – väčšina populácií s vyššími frekvenciami LP praktizuje pastierstvo, zatiaľ čo farmárske skupiny sa zvyčajne vyskytujú v nižších pásmach LP.

Zároveň sa však vo východnej Afrike objavujú aj zaujímavé výnimky: niektoré lovecko-zberačské skupiny vykazujú prekvapivo vysoké frekvencie LP, zatiaľ čo u niektorých pastierskych populácií chýbajú známe LP varianty. To poukazuje na to, že adaptácia na trávenie laktózy prebiehala v tomto regióne zložitejšie a mohla byť ovplyvnená kombináciou ekologických podmienok, kultúrnych zvykov, prípadne alternatívnych mechanizmov adaptácie.

Zdá sa, že na formovanie genetickej variability má väčší vplyv jazyková príslušnosť, podľa výsledkov AMOVA analýzy prospievajúca 10,97 %. Výsledky zároveň do veľkej miery kopírujú historický vývoj a migračnú dynamiku populácií v regióne. Jazyková príslušnosť tak v tomto prípade pravdepodobne neodráža len komunikačné rozdiely, ale aj hlbšie historické väzby – populácie hovoriace rovnakou jazykovou vetvou majú často spoločnú genetickú históriu, ovplyvnenú spoločným pôvodom či migračnými trasami.

Vizualizácia PCoA analýzy ukazuje, že vyššia prevalencia LP je v afroázijskej a nigero-konžskej jazykovej rodine ako v nilo-saharskej. Konkrétne mali skúmané populácie patriace do afroázijskej jazykovej rodiny celkovú LP frekvenciu vyššiu ako 20 % v približne 53 % a vyššiu ako 10 % v približne 24 % a populácie nigero-konžskej jazykovej rodiny vykazovali LP frekvencie vyššie ako 20 % dokonca v približne 83 %. Na rozdiel od toho populácie patriace do nilo-saharskej jazykovej rodiny vykazovali LP frekvencie nižšie ako 10 % v takmer 80 %.

Geografická lokalita má podľa výsledkov na rozšírenie LP v oblasti východnej Afriky takmer zanedbateľný vplyv a nepredstavuje tak významný faktor formujúci genetickú variabilitu LP. Najvyšší stupeň korelácie geografie a výskytu predstavuje distribúcia varianty -14 010*C s najvyššími zaznamenanými frekvenciami v južnej Keni s postupným poklesom smerom na sever a východ.

Rozšírenie laktázovej perzistencie vo východnej Afrike je výsledkom pôsobenia komplexných faktorov, zahŕňajúcich genetické, kultúrne, jazykové aj environmentálne vplyvy. Hlbšie pochopenie mechanizmov formovania tohto znaku si však vyžaduje ďalšie výskumy, najmä v oblasti alternatívnych foriem adaptácie, ako je úloha črevnej mikrobioty či štúdium epigenetických procesov, ktoré by mohli osvetliť dynamiku adaptácie na konzumáciu mliečnych produktov v rôznych populačných kontextoch.

ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

AA – afroázijská jazyková rodina

AHP – *african humid period*

AMK – aminokyselina

AMOVA – *analysis of molecular variance*, analýza molekulárneho rozptylu

BLG – β -laktoglobulín srvátkového proteínu

bp – báзовý pár

BP – *before present*, pred súčasnosťou (referenčný rok 1 950)

Cdx-2 – *caudal-type homeobox transcription factor 2*

Da – Dalton (resp. v texte kDa), jednotka molekulovej hmotnosti

DNA – deoxyribonukleotidová kyselina

EMSA – *electrophoretic mobility shift assays*

ER – endoplazmatické retikulum

Fst – F štatistika

GATA – *gata-binding protein*

HBT – (*lactose*) *hydrogen breath test*

HNF – *hepatocyte nuclear protein*

kb – kilo báza

LC-MS/MS – liquid chromatography – mass spectrometry, kvapalinová chromatografia spojená s tandemovou hmotnostnou spektrometriou

LCT – lactase gene, gén pre LPH

LGM – *last glacial maximum*

LI – laktózová intolerancia

LP – laktázová perzistencia

LPH – laktáza-phlorizín hydroláza

LTT – *lactose tolerance test*

MCM6 – *minichromosome maintenance gene 6*

mRNA – *messenger RNA*, mediátorová RNA

mtDNA – mitochondriálna DNA

NK – nigero-konžská jazyková rodina

NS – nilo-saharská jazyková rodina

nt – nukleotid

Oct-1 – *octamer-binding transcription factor 1*

PCA – *principal component analysis*, analýza hlavných komponent

PCoA – *principal coordinates analysis*, analýza hlavných koordinát

PCR – *polymerase chain reaction*, polymerázová reťazová reakcia

ppm – parts per million, jedna miliontina celku

RNA – ribonukleotidová kyselina

ROH – runs of homozygosity

rs – reference SNP ID, referenčné číslo polymorfizmu

SNP – single nucleotide polymorfism, jednobodový polymorfizmus

POUŽITÁ LITERATÚRA

- Abdullahi, Abdurahman. 2017. *Making Sense of Somali History: Volume 1*. Roč. 1. Adonis and Abbey Publishers.
- Al-Abri, A. R., O. Al-Rawas, S. Al-Yahyaee, M. Al-Habori, A. S. Al-Zubairi, a R. Bayoumi. 2012. "Distribution of the Lactase Persistence-Associated Variant Alleles -13910*T and -13915*G among the People of Oman and Yemen". *Human Biology* 84(3):271–86.
- Ali, AA, M. Aalto, J. Jonasson, a A. Osman. 2020. "Genome-wide analyses disclose the distinctive HLA architecture and the pharmacogenetic landscape of the Somali population". *Scientific Reports* 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-62645-0.
- Anguita-Ruiz, A., CM Aguilera, a A. Gil. 2020. "Genetics of Lactose Intolerance: An Updated Review and Online Interactive World Maps of Phenotype and Genotype Frequencies". *Nutrients* 12(9). doi: 10.3390/nu12092689.
- Aoki, K. 1986. "A Stochastic Model of Gene-Culture Coevolution Suggested by the 'Culture Historical Hypothesis' for the Evolution of Adult Lactose Absorption in Humans." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83(9):2929–33. doi: 10.1073/pnas.83.9.2929.
- Armand, M., M. Hamosh, N. R. Mehta, P. A. Angelus, J. R. Philpott, T. R. Henderson, N. K. Dwyer, D. Lairon, a P. Hamosh. 1996. "Effect of Human Milk or Formula on Gastric Function and Fat Digestion in the Premature Infant". *Pediatric Research* 40(3):429–37. doi: 10.1203/00006450-199609000-00011.
- Arola, H. 1994. "Diagnosis of Hypolactasia and Lactose Malabsorption". *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 29(sup202):26–35. doi: 10.3109/00365529409091742.
- Arola, H., T. Koivula, H. Jokela, M. Jauhiainen, O. Keyriläinen, T. Ahola, A. Uusitalo, a M. Isokoski. 1988. "Comparison of Indirect Diagnostic Methods for Hypolactasia". *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 23(3):351–57. doi: 10.3109/00365528809093878.
- Bayless, T. M., B. Rothfeld, C. Massa, L. Wise, D. Paige, a M. S. Bedine. 1975. "Lactose and Milk Intolerance: Clinical Implications". *The New England Journal of Medicine* 292(22):1156–59. doi: 10.1056/NEJM197505292922205.
- Beja-Pereira, Albano, Gordon Luikart, Phillip R. England, Daniel G. Bradley, Oliver C. Jann, Giorgio Bertorelle, Andrew T. Chamberlain, Telmo P. Nunes, Stoitcho Metodiev, Nuno Ferrand, a Georg Erhardt. 2003. "Gene-Culture Coevolution between Cattle Milk Protein Genes and Human Lactase Genes". *Nature Genetics* 35(4):311–13. doi: 10.1038/ng1263.
- Bernus, Edmond. 1988. "Seasonality, Climatic Fluctuations, and Food Supplies (Sahelian Nomadic Pastoral Societies)".

- Bersaglieri, Todd, Pardis C. Sabeti, Nick Patterson, Trisha Vanderploeg, Steve F. Schaffner, Jared A. Drake, Matthew Rhodes, David E. Reich, a Joel N. Hirschhorn. 2004. "Genetic Signatures of Strong Recent Positive Selection at the Lactase Gene". *The American Journal of Human Genetics* 74(6):1111–20. doi: 10.1086/421051.
- Bleasdale, Madeleine, Kristine K. Richter, Anneke Janzen, Samantha Brown, Ashley Scott, Jana Zech, Shevan Wilkin, Ke Wang, Stephan Schiffels, Jocelyne Desideri, Marie Besse, Jacques Reinold, Mohamed Saad, Hiba Babiker, Robert C. Power, Emmanuel Ndiema, Christine Ogola, Fredrick K. Manthi, Muhammad Zahir, Michael Petraglia, Christian Trachsel, Paolo Nanni, Jonas Grossmann, Jessica Hendy, Alison Crowther, Patrick Roberts, Steven T. Goldstein, a Nicole Boivin. 2021. "Ancient Proteins Provide Evidence of Dairy Consumption in Eastern Africa". *Nature Communications* 12(1):632. doi: 10.1038/s41467-020-20682-3.
- Boattini, A., L. Castri, S. Sarno, A. Useli, M. Cioffi, M. Sazzini, P. Garagnani, S. De Fanti, D. Pettener, a D. Luiselli. 2013. "mtDNA Variation in East Africa Unravels the History of Afro-Asiatic Groups". *American Journal of Physical Anthropology* 150(3):375–85. doi: 10.1002/ajpa.22212.
- Bodmer, Walter Fred, a Luigi Luca Cavalli-Sforza. 1976. *Genetics, evolution, and man*. WH Freeman San Francisco.
- Boll, W., P. Wagner, a N. Mantei. 1991. "Structure of the Chromosomal Gene and cDNAs Coding for Lactase-Phlorizin Hydrolase in Humans with Adult-Type Hypolactasia or Persistence of Lactase". *American Journal of Human Genetics* 48(5):889–902.
- Bonder, MJ, A. Kurilshikov, EF Tigchelaar, Z. Mujagic, F. Imhann, AV Vila, P. Deelen, T. Vatanen, M. Schirmer, SP Smeekens, DV Zhernakova, SA Jankipersadsing, M. Jaeger, M. Oosting, MC Cenit, AAM Masclee, MA Swertz, Y. Li, V. Kumar, L. Joosten, H. Harmsen, RK Weersma, L. Franke, MH Hofker, RJ Xavier, D. Jonkers, MG Netea, C. Wijmenga, JY Fu, a A. Zhernakova. 2016. "The effect of host genetics on the gut microbiome". *Nature Genetics* 48(11):1407–12. doi: 10.1038/ng.3663.
- Bradley, DG, RT Loftus, P. Cunningham, a DE MacHugh. 1998. "Genetics and domestic cattle origins". *Evolutionary Anthropology* 6(3):79–86. doi: 10.1002/(SICI)1520-6505(1998)6:3<79::AID-EVAN2>3.3.CO;2-2.
- Breton, Gwenna, Carina M. Schlebusch, Marlize Lombard, Per Sjödin, Himla Soodyall, a Mattias Jakobsson. 2014. "Lactase Persistence Alleles Reveal Partial East African Ancestry of Southern African Khoe Pastoralists". *Current Biology* 24(8):852–58. doi: 10.1016/j.cub.2014.02.041.
- Bruford, MW, DG Bradley, a G. Luikart. 2003. "DNA markers reveal the complexity of livestock domestication". *Nature Reviews Genetics* 4(11):900–910. doi: 10.1038/nrg1203.
- Cabrera, vicente M., Khaled Abu-Amero, José Larruga, a Ana González. 2010. "The Arabian peninsula: Gate for Human Migrations Out of Africa or Cul-de-Sac? A

- Mitochondrial DNA Phylogeographic Perspective”. S. 79–87 v *The evolution of human populations in Arabia*.
- Campbell, Anthony K., a Stephanie B. Matthews. 2001. *Lactose Intolerance and the MATHS Syndrome: What Are They and How Can I Cope?* Welston Press.
- Campbell, MC, a SA Tishkoff. 2008. “African genetic diversity: Implications for human demographic history, modern human origins, and complex disease mapping”. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 9:403–33. doi: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164258.
- Campbell, Michael C., a Alessia Ranciaro. 2021. “Human Adaptation, Demography and Cattle Domestication: An Overview of the Complexity of Lactase Persistence in Africa”. *Human Molecular Genetics* 30(R1):R98–109. doi: 10.1093/hmg/ddab027.
- Castri, L., P. Garagnani, A. Useli, D. Pettener, a D. Luiselli. 2008. “Kenyan crossroads: migration and gene flow in six ethnic groups from Eastern Africa”. *Journal of Anthropological Sciences* 86:189–92.
- Ceballos, FC, S. Hazelhurst, a M. Ramsay. 2019. “Runs of homozygosity in sub-Saharan African populations provide insights into complex demographic histories”. *Human Genetics* 138(10):1123–42. doi: 10.1007/s00439-019-02045-1.
- Coelho, M., D. Luiselli, G. Bertorelle, AI Lopes, S. Seixas, G. Destro-Bisol, a J. Rocha. 2005. “Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence”. *Human Genetics* 117(4):329–39. doi: 10.1007/s00439-005-1322-z.
- Coelho, Margarida, Fernando Sequeira, Donata Luiselli, Sandra Beleza, a Jorge Rocha. 2009. “On the Edge of Bantu Expansions: mtDNA, Y Chromosome and Lactase Persistence Genetic Variation in Southwestern Angola”. *BMC Evolutionary Biology* 9:80. doi: 10.1186/1471-2148-9-80.
- Cohen, CE, DM Swallow, a C. Walker. 2024. “The molecular basis of lactase persistence: Linking genetics and epigenetics”. *Annals of Human Genetics*. doi: 10.1111/ahg.12575.
- Cook, GC, a MT Al-Torki. 1975. “High Intestinal Lactase Concentrations in Adult Arabs in Saudi Arabia”. *BMJ-British Medical Journal* 3(5976):135–36. doi: 10.1136/bmj.3.5976.135.
- Cruciani, F., R. La Fratta, P. Santolamazza, D. Sellitto, R. Pascone, P. Moral, E. Watson, V. Guida, EB Colomb, B. Zaharova, J. Lavinha, G. Vona, R. Aman, F. Cali, N. Akar, M. Richards, A. Torroni, A. Novelletto, a R. Scozzari. 2004. “Phylogeographic analysis of haplogroup E3b (E-M215) Y chromosomes reveals multiple migratory events within and out of Africa”. *American Journal of Human Genetics* 74(5):1014–22. doi: 10.1086/386294.
- Cruciani, F., R. La Fratta, B. Trombetta, P. Santolamazza, D. Sellitto, EB Colomb, JM Dugoujon, F. Crivellaro, T. Benincasa, R. Pascone, P. Moral, E. Watson, B. Melegh, G. Barbujani, S. Fuselli, G. Vona, B. Zagradisnik, G. Assum, R. Brdicka, AI Kozlov, GD Efremov, A. Coppa, A. Novelletto, a R. Scozzari. 2007. “Tracing

- past human male movements in northern/eastern Africa and western Eurasia: New clues from Y-chromosomal haplogroups E-M78 and J-M12". *Molecular Biology and Evolution* 24(6):1300–1311. doi: 10.1093/molbev/msm049.
- Černý, V., V. Fernandes, MD Costa, M. Hájek, CJ Mulligan, a L. Pereira. 2009. "Migration of Chadic speaking pastoralists within Africa based on population structure of Chad Basin and phylogeography of mitochondrial L3f haplogroup". *BMC Evolutionary Biology* 9. doi: 10.1186/1471-2148-9-63.
- Černý, V., M. Hájek, M. Bromová, R. Cmejla, I. Diallo, a R. Brdicka. 2006. "mtDNA of Fulani nomads and their genetic relationships to neighboring sedentary populations". *Human Biology* 78(1):9–27. doi: 10.1353/hub.2006.0024.
- Černý, V., I. Kulichová, E. S. Poloni, J. M. Nunes, L. Pereira, A. Mayor, a A. Sanchez-Mazas. 2018. "Genetic History of the African Sahelian Populations". *HLA* 91(3):153–66. doi: 10.1111/tan.13189.
- Černý, V., CJ Mulligan, J. Rídl, M. Zaloudková, CM Edens, M. Hájek, a L. Pereira. 2008. "Regional differences in the distribution of the sub-Saharan, West Eurasian, and South Asian mtDNA lineages in Yemen". *American Journal of Physical Anthropology* 136(2):128–37. doi: 10.1002/ajpa.20784.
- Černý, Viktor, Luísa Pereira, Eliška Musilová, Martina Kujanová, Alžběta Vašíková, Paola Blasi, Luisa Garofalo, Pedro Soares, Issa Diallo, Radim Brdička, a Andrea Novelletto. 2011. "Genetic Structure of Pastoral and Farmer Populations in the African Sahel". *Molecular Biology and Evolution* 28(9):2491–2500. doi: 10.1093/molbev/msr067.
- Day, AJ, FJ Cañada, JC Díaz, PA Kroon, R. Mclauchlan, CB Faulds, GW Plumb, MRA Morgan, a G. Williamson. 2000. "Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase". *FEBS LETTERS* 468(2–3):166–70. doi: 10.1016/S0014-5793(00)01211-4.
- De Vrese, Michael, Anna Stegelmann, Bernd Richter, Susanne Fenselau, Christiane Laue, a Jürgen Schrezenmeir. 2001. "Probiotics—Compensation for Lactase Insufficiency". *The American Journal of Clinical Nutrition* 73(2):421s–29. doi: 10.1093/ajcn/73.2.421s.
- Diallo, MY, M. Cizková, I. Kulichová, E. Podgorná, E. Priehodová, J. Novácková, V. Fernandes, L. Pereira, a V. Cerny. 2022. "Circum-Saharan Prehistory through the Lens of mtDNA Diversity". *Genes* 13(3). doi: 10.3390/genes13030533.
- Donald, Katherine, Charisse Petersen, Stuart E. Turvey, B. Brett Finlay, a Meghan B. Azad. 2022. "Secretory IgA: Linking Microbes, Maternal Health, and Infant Health through Human Milk". *Cell Host & Microbe* 30(5):650–59. doi: 10.1016/j.chom.2022.02.005.
- Dunne, J., S. di Lernia, M. Chlodnicki, F. Kherbouche, a RP Evershed. 2018. "Timing and pace of dairying inception and animal husbandry practices across Holocene North Africa". *Quaternary International* 471:147–59. doi: 10.1016/j.quaint.2017.06.062.

- Enattah, Nabil Sabri, Tine G. K. Jensen, Mette Nielsen, Rikke Lewinski, Mikko Kuokkanen, Heli Rasinpera, Hatem El-Shanti, Jeong Kee Seo, Michael Alifrangis, Insaf F. Khalil, Abdrazak Natah, Ahmed Ali, Sirajedin Natah, David Comas, S. Qasim Mehdi, Leif Groop, Else Marie Vestergaard, Faiqa Imtiaz, Mohamed S. Rashed, Brian Meyer, Jesper Troelsen, a Leena Peltonen. 2008. “Independent Introduction of Two Lactase-Persistence Alleles into Human Populations Reflects Different History of Adaptation to Milk Culture”. *The American Journal of Human Genetics* 82(1):57–72. doi: 10.1016/j.ajhg.2007.09.012.
- Enattah, Nabil Sabri, Timo Sahi, Erkki Savilahti, Joseph D. Terwilliger, Leena Peltonen, a Irma Järvelä. 2002. “Identification of a Variant Associated with Adult-Type Hypolactasia”. *Nature Genetics* 30(2):233–37. doi: 10.1038/ng826.
- Evershed, RP, S. Payne, AG Sherratt, MS Copley, J. Coolidge, D. Urem-Kotsu, K. Kotsakis, M. Özdoğan, AE Özdoğan, O. Nieuwenhuyse, PMMG Akkermans, D. Bailey, RR Andeescu, S. Campbell, S. Farid, I. Hodder, N. Yalman, M. Özbek, E. Bıçakci, Y. Garfinkel, T. Levy, a MM Burton. 2008. “Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding”. *Nature* 455(7212):528–31. doi: 10.1038/nature07180.
- Excoffier, L., a HEL Lischer. 2010. “Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows”. *Molecular Ecology Resources* 10(3):564–67. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.
- Excoffier, L., P. E. Smouse, a J. M. Quattro. 1992. “Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distances among DNA Haplotypes: Application to Human Mitochondrial DNA Restriction Data”. *Genetics* 131(2):479–91. doi: 10.1093/genetics/131.2.479.
- Fajardo, O., H. Y. Naim, a S. W. Lacey. 1994. “The Polymorphic Expression of Lactase in Adults Is Regulated at the Messenger RNA Level”. *Gastroenterology* 106(5):1233–41. doi: 10.1016/0016-5085(94)90014-0.
- Fan, SH, DE Kelly, MH Beltrame, MEB Hansen, S. Mallick, A. Ranciaro, J. Hirbo, S. Thompson, W. Beggs, T. Nyambo, SA Omar, DW Meskel, G. Belay, A. Froment, N. Patterson, D. Reich, a SA Tishkoff. 2019. “African evolutionary history inferred from whole genome sequence data of 44 indigenous African populations”. *Genome Biology* 20. doi: 10.1186/s13059-019-1679-2.
- Fang, Lin, Jong Kun Ahn, Dariusz Wodziak, a Eric Sibley. 2012. “The Human Lactase Persistence-Associated SNP -13910*T Enables in Vivo Functional Persistence of Lactase Promoter-Reporter Transgene Expression”. *Human Genetics* 131(7):1153–59. doi: 10.1007/s00439-012-1140-z.
- FAO (2021a) Food and Nutrition Security Resilience Programme – Report of the multidisciplinary context and fodder value chain analysis in Sool and Sanaag (Somaliland). Rome

- Flatz, G., a HW Rothauwe. 1971. "Evidence against nutritional adaption of tolerance to lactose". *Humangenetik* 13(2):118-+. doi: 10.1007/BF00295793.
- Flatz, G., a HW Rothauwe. 1973. "Lactose nutrition and natural selection". *Lancet* 2(7820):76-77.
- Fleming, Harold C. 2006. *Ongota: a decisive language in African prehistory*. Roč. 64. Otto Harrassowitz Verlag.
- Fortes-Lima, C., P. Triska, M. Cízková, E. Podgorná, MY Diallo, CM Schlebusch, a V. Cerny. 2022. "Demographic and Selection Histories of Populations Across the Sahel/Savannah Belt". *Molecular Biology and Evolution* 39(10). doi: 10.1093/molbev/msac209.
- Fortes-Lima, CA, MY Diallo, V. Janousek, V. Cemy, a CM Schlebusch. 2025. "Population history and admixture of the Fulani people from the Sahel". *American Journal of Human Genetics* 112(2). doi: 10.1016/j.ajhg.2024.12.015.
- Gallego Romero, Irene, Chandana Basu Mallick, Anke Liebert, Federica Crivellaro, Gyaneshwer Chaubey, Yuval Itan, Mait Metspalu, Muthukrishnan Eaaswarkhanth, Ramasamy Pitchappan, Richard Villems, David Reich, Lalji Singh, Kumarasamy Thangaraj, Mark G. Thomas, Dallas M. Swallow, Marta Mirazón Lahr, a Toomas Kivisild. 2012. "Herders of Indian and European Cattle Share Their Predominant Allele for Lactase Persistence". *Molecular Biology and Evolution* 29(1):249-60. doi: 10.1093/molbev/msr190.
- Garcea, EAA. 2004. "An alternative way towards food production: The perspective from the Libyan Sahara". *Journal of World Prehistory* 18(2):107-54. doi: 10.1007/s10963-004-2878-6.
- Gasbarrini, A., . R. Corazza, G. Gasbarrini, M. Montalto, M. Di Stefano, a G. Vasilisco. 2009. "Methodology and Indications of H2-Breath Testing in Gastrointestinal Diseases: The Rome Consensus Conference". *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 29(s1):1-49. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.03951.x.
- Gerbault, P., C. Moret, M. Currat, a A. Sanchez-Mazas. 2009. "Impact of Selection and Demography on the Diffusion of Lactase Persistence". *PLoS ONE* 4(7). doi: 10.1371/journal.pone.0006369.
- Gerbault, Pascale, Anke Liebert, Yuval Itan, Adam Powell, Mathias Currat, Joachim Burger, Dallas M. Swallow, a Mark G. Thomas. 2011. "Evolution of Lactase Persistence: An Example of Human Niche Construction". *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 366(1566):863-77. doi: 10.1098/rstb.2010.0268.
- Gifford-Gonzalez, D., a O. Hanotte. 2011. "Domesticating Animals in Africa: Implications of Genetic and Archaeological Findings". *Journal of World Prehistory* 24(1):1-23. doi: 10.1007/s10963-010-9042-2.
- Gifford-Gonzalez, Diane. 2005. "Pastoralism and its consequences". *African archaeology: a critical introduction* 187-224.

- Ginnetti, Justin, a Travis Franck. 2014. "Assessing drought displacement risk for Kenyan, Ethiopian and Somali pastoralists". *Technical paper. Geneva, Switzerland: Norwegian Refugee Council (NRC) and Internal Displacement Monitoring Centre (IDMC).*
- Górska-Warsewicz, Hanna, Krystyna Rejman, Wacław Laskowski, a Maksymilian Czeczotko. 2019. "Milk and Dairy Products and Their Nutritional Contribution to the Average Polish Diet". *Nutrients* 11(8):1771. doi: 10.3390/nu11081771.
- Gower, JC. 1966. "Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis". *Biometrika* 53:325-. doi: 10.2307/2333639.
- Grove, A. T. 1997. "Pleistocene and Holocene Climates and Vegetation Zones". S. 35–39 v O. Vogel, ed. *Encyclopedia of precolonial Africa: archaeology, history, languages, cultures, and environments*. California: Altamira Press Walnut Creek, California.
- Hall, Tom A. 1999. "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT". S. 95–98 v Roč. 41. Oxford.
- Hanotte, Olivier, Daniel G. Bradley, Joel W. Ochieng, Yasmin Verjee, Emmeline W. Hill, a J. Edward O. Rege. 2002. "African Pastoralism: Genetic Imprints of Origins and Migrations". *Science (New York, N.Y.)* 296(5566):336–39. doi: 10.1126/science.1069878.
- Hartl, DL, a AG Clark. 1997. *Principles of population genetics*. 3rd vyd. Snderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Harvey, C. B., M. F. Fox, P. A. Jeggo, N. Mantei, S. Povey, a D. M. Swallow. 1993. "Regional Localization of the Lactase-Phlorizin Hydrolase Gene, LCT, to Chromosome 2q21". *Annals of Human Genetics* 57(3):179–85. doi: 10.1111/j.1469-1809.1993.tb01593.x.
- Hassan, Hisham Y., Anke Van Erp, Martin Jaeger, Hanan Tahir, Marije Oosting, Leo A. B. Joosten, a Mihai G. Netea. 2016. "Genetic Diversity of Lactase Persistence in East African Populations". *BMC Research Notes* 9(1):8. doi: 10.1186/s13104-015-1833-1.
- Hassan, HY, PA Underhill, LL Cavalli-Sforza, a ME Ibrahim. 2008. "Y-Chromosome Variation Among Sudanese: Restricted Gene Flow, Concordance With Language, Geography, and History". *American Journal of Physical Anthropology* 137(3):316–23. doi: 10.1002/ajpa.20876.
- Hedrick, Philip W. 2009. *Genetics of populations*. Boston: Jones & Bartlett Publishers.
- Henn, BM, PA Underhill, AA Lin, PJ Oefner, SA Tishkoff, F. Cruciani, P. Shen, C. Gignoux, a JL Mountain. 2008. "Y-chromosomal evidence of a pastoralist migration through Tanzania to southern Africa." *American Journal of Physical Anthropology* 116–116.

- Herbert, RK, a TN Huffman. 1993. “A New Perspective on Bantu Expansion and Classification - Linguistic and archeological evidence 50 years after Doke”. *African Studies* 52(2):53–76. doi: 10.1080/00020189308707778.
- Heyer, Evelyne, Lionel Brazier, Laure Ségurel, Tatiana Hegay, Frédéric Austerlitz, Lluís Quintana-Murci, Myriam Georges, Patrick Pasquet, a Michel Veuille. 2011. “Lactase Persistence in Central Asia: Phenotype, Genotype, and Evolution”. *Human Biology* 83(3):379–92. doi: 10.3378/027.083.0304.
- Ho, M. W., S. Povey, a D. Swallow. 1982. “Lactase Polymorphism in Adult British Natives: Estimating Allele Frequencies by Enzyme Assays in Autopsy Samples”. *American Journal of Human Genetics* 34(4):650–57.
- Holden, Clare, a Ruth Mace. 1997. “Phylogenetic Analysis of the Evolution of Lactose Digestion in Adults”. *Human Biology* 69(5):605–28.
- Hollfelder, Nina, Hiba Babiker, Lena Granehall, Carina M. Schlebusch, a Mattias Jakobsson. 2021. “The Genetic Variation of Lactase Persistence Alleles in Sudan and South Sudan” zostavil Y. Satta. *Genome Biology and Evolution* 13(5):evab065. doi: 10.1093/gbe/evab065.
- Hollox, Edward J., Mark Poulter, Marek Zvarik, Vladimir Ferak, Amanda Krause, Trefor Jenkins, Nilmani Saha, Andrew I. Kozlov, a Dallas M. Swallow. 2001. “Lactase Haplotype Diversity in the Old World”. *The American Journal of Human Genetics* 68(1):160–72. doi: 10.1086/316924.
- Childe. 1953. *New Light On the Most Ancient East*.
- Chonka, P., a S. Healy. 2021. “Self-determination and a shattered star: Statehood and national identity in the Somali Horn of Africa”. *Nations and Nationalism* 27(1):61–79. doi: 10.1111/nana.12646.
- Christopher, N. L., a T. M. Bayless. 1971. “Role of the Small Bowel and Colon in Lactose-Induced Diarrhea”. *Gastroenterology* 60(5):845–52.
- Imtiaz, F., E. Savilahti, A. Sarnesto, D. Trabzuni, K. Al-Kahtani, I. Kagevi, M. S. Rashed, B. F. Meyer, a I. Jarvela. 2007. “The T/G 13915 Variant Upstream of the Lactase Gene (LCT) Is the Founder Allele of Lactase Persistence in an Urban Saudi Population”. *Journal of Medical Genetics* 44(10):e89–e89. doi: 10.1136/jmg.2007.051631.
- Ingram, Catherine J. E., Mohamed F. Elamin, Charlotte A. Mulcare, Michael E. Weale, Ayele Tarekegn, Tamiru Oljira Raga, Endashaw Bekele, Farouk M. Elamin, Mark G. Thomas, Neil Bradman, a Dallas M. Swallow. 2007. “A Novel Polymorphism Associated with Lactose Tolerance in Africa: Multiple Causes for Lactase Persistence?” *Human Genetics* 120(6):779–88. doi: 10.1007/s00439-006-0291-1.
- Ingram, Catherine J. E., Charlotte A. Mulcare, Yuval Itan, Mark G. Thomas, a Dallas M. Swallow. 2009a. “Lactose Digestion and the Evolutionary Genetics of Lactase Persistence”. *Human Genetics* 124(6):579–91. doi: 10.1007/s00439-008-0593-6.

- Ingram, Catherine J. E., Tamiru Oljira Raga, Ayele Tarekegn, Sarah L. Browning, Mohamed F. Elamin, Endashaw Bekele, Mark G. Thomas, Michael E. Weale, Neil Bradman, a Dallas M. Swallow. 2009b. "Multiple Rare Variants as a Cause of a Common Phenotype: Several Different Lactase Persistence Associated Alleles in a Single Ethnic Group". *Journal of Molecular Evolution* 69(6):579–88. doi: 10.1007/s00239-009-9301-y.
- Ingram, Catherine Janet Ellen. 2008. *The evolutionary genetics of lactase persistence in Africa and the Middle East*. University of London, University College London (United Kingdom).
- Ingram, CJE, MF Elamin, CA Mulcare, ME Weale, A. Tarekegn, TO Raga, E. Bekele, FM Elamin, MG Thomas, N. Bradman, a DM Swallow. 2007. "A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence?" *Human Genetics* 120(6):779–88. doi: 10.1007/s00439-006-0291-1.
- Ishii, Y., A. J. Hansen, a P. I. Mackenzie. 2000. "Octamer Transcription Factor-1 Enhances Hepatic Nuclear Factor-1 α -Mediated Activation of the Human UDP Glucuronosyltransferase 2B7 Promoter". *Molecular Pharmacology* 57(5):940–47.
- Isokoski, M., J. Jussila, a S. Sarna. 1972. "A Simple Screening Method for Lactose Malabsorption". *Gastroenterology* 62(1):28–32.
- Itan, Yuval, Bryony L. Jones, Catherine Je Ingram, Dallas M. Swallow, a Mark G. Thomas. 2010. "A Worldwide Correlation of Lactase Persistence Phenotype and Genotypes". *BMC Evolutionary Biology* 10(1):36. doi: 10.1186/1471-2148-10-36.
- Itan, Yuval, Adam Powell, Mark A. Beaumont, Joachim Burger, a Mark G. Thomas. 2009. "The Origins of Lactase Persistence in Europe". *PLoS Computational Biology* 5(8):e1000491. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000491.
- Jacob, Ralf, Karen Peters, a Hassan Y. Naim. 2002. "The Prosequence of Human Lactase-Phlorizin Hydrolase Modulates the Folding of the Mature Enzyme *". *Journal of Biological Chemistry* 277(10):8217–25. doi: 10.1074/jbc.M111500200.
- Jacob, Ralf, Ilona Radebach, Marcel Wüthrich, Jürgen Grünberg, Erwin E. Sterchi, a Hassan Y. Naim. 1996. "Maturation of Human Intestinal Lactase-Phlorizin Hydrolase". *European Journal of Biochemistry* 236(3):789–95. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.t01-1-00789.x.
- Jensen, Tine G. K., Anke Liebert, Rikke Lewinsky, Dallas M. Swallow, Jørgen Olsen, a Jesper T. Troelsen. 2011. "The –14010**C* Variant Associated with Lactase Persistence Is Located between an Oct-1 and HNF1 α Binding Site and Increases Lactase Promoter Activity". *Human Genetics* 130(4):483–93. doi: 10.1007/s00439-011-0966-0.
- Jesse, F., Birgit Keding, Tilman Lenssen-Erz, a Nadja Pöllath. 2013. "'I hope your cattle are well': Archaeological evidence for early cattle-centred behaviour in the Eastern Sahara of Sudan and Chad". *Pastoralism in Africa: Past, Present and Future* 66–103.

- Johnson, A. O., J. G. Semanya, M. S. Buchowski, C. O. Enwonwu, a N. S. Scrimshaw. 1993. "Adaptation of Lactose Maldigesters to Continued Milk Intakes". *The American Journal of Clinical Nutrition* 58(6):879–81. doi: 10.1093/ajcn/58.6.879.
- Johnson, John D., Norman Kretchmer, a Frederick J. Simoons. 1974. "Lactose malabsorption: its biology and history". *Advances in pediatrics* 21(1):197–237.
- Jones, B., T. Oljira, A. Liebert, P. Zmarz, N. Montalva, A. Tarekeyn, R. Ekong, M. Thomas, E. Bekele, N. Bradman, a D. Swallow. 2015. "Diversity of lactase persistence in African milk drinkers". *Human Genetics* 134(8):917–25. doi: 10.1007/s00439-015-1573-2.
- Jones, Bryony L., Tamiru O. Raga, Anke Liebert, Pawel Zmarz, Endashaw Bekele, E. Thomas Danielsen, Anders Krüger Olsen, Neil Bradman, Jesper T. Troelsen, a Dallas M. Swallow. 2013. "Diversity of Lactase Persistence Alleles in Ethiopia: Signature of a Soft Selective Sweep". *The American Journal of Human Genetics* 93(3):538–44. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.07.008.
- Kailasapathy, K., a J. Chin. 2000. "Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp." *Immunology and Cell Biology* 78(1):80–88. doi: 10.1046/j.1440-1711.2000.00886.x.
- Kane, AE, a DA Sinclair. 2019. "Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential". *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 54(1):61–83. doi: 10.1080/10409238.2019.1570075.
- Kerber, Michaela, Christian Oberkanins, Gernot Kriegshäuser, Barbara Kollerits, Astrid Dossenbach-Glaninger, Dietmar Fuchs, a Maximilian Ledochowski. 2007. "Hydrogen Breath Testing versus LCT Genotyping for the Diagnosis of Lactose Intolerance: A Matter of Age?" *Clinica Chimica Acta* 383(1–2):91–96. doi: 10.1016/j.cca.2007.04.028.
- Keusch, G. T., F. J. Troncale, L. H. Miller, V. Promadhat, a P. R. Anderson. 1969. "Acquired Lactose Malabsorption in Thai Children". *Pediatrics* 43(4):540–45.
- Khabarova, Yulia, Suvi Torniainen, Erkki Savilahti, Mauri Isokoski, Kari Mattila, a Irma Järvelä. 2010. "The -13914G>A Variant Upstream of the Lactase Gene (LCT) Is Associated with Lactase Persistence/Non-Persistence". *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 70(5):354–57. doi: 10.3109/00365513.2010.491554.
- Kitchen, A., C. Ehret, S. Assefa, a CJ Mulligan. 2009. "Bayesian phylogenetic analysis of Semitic languages identifies an Early Bronze Age origin of Semitic in the Near East". *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 276(1668):2703–10. doi: 10.1098/rspb.2009.0408.
- Kivisild, T., M. Reidla, E. Metspalu, A. Rosa, A. Brehm, E. Pennarun, J. Parik, T. Geberhiwot, E. Usanga, a R. Villems. 2004. "Ethiopian mitochondrial DNA heritage: Tracking gene flow across and around the gate of tears". *American Journal of Human Genetics* 75(5):752–70. doi: 10.1086/425161.

- Kuokkanen, M., N. S. Enattah, A. Oksanen, E. Savilahti, A. Orpana, a I. Järvelä. 2003. "Transcriptional Regulation of the Lactase-Phlorizin Hydrolase Gene by Polymorphisms Associated with Adult-Type Hypolactasia". *Gut* 52(5):647–52. doi: 10.1136/gut.52.5.647.
- Kuper, Rudolph, a Stefan Kröpelin. 2006. "Climate-Controlled Holocene Occupation in the Sahara: Motor of Africa's Evolution". *Science (New York, N.Y.)* 313(5788):803–7. doi: 10.1126/science.1130989.
- Kurilshikov, A., C. Medina-Gomez, R. Bacigalupe, D. Radjabzadeh, J. Wang, A. Demirkan, C. Le Roy, JAR Garay, CT Finnicum, XR Liu, D. Zhernakova, MJ Bonder, TH Hansen, F. Frost, MC Rühlemann, W. Turpin, JY Moon, HN Kim, K. Lüll, E. Barkan, SA Shah, M. Fornage, J. Szopinska-Tokov, ZD Wallen, D. Borisevich, L. Agreus, A. Andreasson, C. Bang, L. Bedrani, JT Bell, H. Bisgaard, M. Boehnke, D. Boomsma, RD Burk, A. Claringbould, K. Croitoru, GE Davies, CM van Duijn, L. Duijts, G. Falony, JY Fu, A. van der Graaf, T Hansen, G. Homuth, DA Hughes, RG Ijzerman, MA Jackson, VWV Jaddoe, M. Joossens, T. Jorgensen, D. Keszthelyi, R. Knight, M. Laakso, M. Laudes, LJ Launer, W. Lieb, AJ Lusis, AAM Masclee, HA Moll, Z. Mujagic, Q. Qibin, D. Rothschild, H. Shin, SJ Sorensen, CJ Steves, J. Thorsen, NJ Timpson, RY Tito, S. Vieira-Silva, U. Völker, H. Völzke, U. Vosa, KH Wade, S. Walter, K. Watanabe, S. Weiss, FU Weiss, O. Weissbrod, HJ Westra, G. Willemsen, H. Payami, DMAE Jonkers, AA Vasquez, EJC de Geus, KA Meyer, J. Stockholm, E. Segal, E. Org, C. Wijmenga, HL Kim, RC Kaplan, TD Spector, AG Uitterlinden, F. Rivadeneira, A. Franke, MM Lerch, L. Franke, S. Sanna, M. D'Amato, O. Pedersen, AD Paterson, R. Kraaij, J. Raes, a A. Zhernakova. 2021. "Large-scale association analyses identify host factors influencing human gut microbiome composition". *Nature Genetics* 53(2):156-+. doi: 10.1038/s41588-020-00763-1.
- Labrie, Viviane, Orion J. Buske, Edward Oh, Richie Jeremian, Carolyn Ptak, Giedrius Gasiūnas, Almantas Maleckas, Rūta Petereit, Aida Žvirbliene, Kęstutis Adamonis, Edita Kriukienė, Karolis Koncėvičius, Juozas Gordevičius, Akhil Nair, Aiping Zhang, Sasha Ebrahimi, Gabriel Oh, Virginijus Šikšnys, Limas Kupčinskas, Michael Brudno, a Arturas Petronis. 2016. "Lactase Nonpersistence Is Directed by DNA-Variation-Dependent Epigenetic Aging". *Nature Structural & Molecular Biology* 23(6):566–73. doi: 10.1038/nsmb.3227.
- Leese, Henry J., a Giorgio Semenza. 1973. "On the Identity between the Small Intestinal Enzymes Phlorizin Hydrolase and Glycosylceramidase". *Journal of Biological Chemistry* 248(23):8170–73. doi: 10.1016/S0021-9258(19)43209-2.
- Lemma, RB, T. Fleischer, E. Martinsen, M. Ledsaak, V. Kristensen, R. Eskeland, OS Gabrielsen, a A. Mathelier. 2022. "Pioneer transcription factors are associated with the modulation of DNA methylation patterns across cancers". *Epigenetics & Chromatin* 15(1). doi: 10.1186/s13072-022-00444-9.
- Leonard, William R., a Michael H. Crawford, ed. 2002. *Human Biology of Pastoral Populations*. Cambridge, U.K. ; New York: Cambridge University Press.

- Leonardi, Michela, Pascale Gerbault, Mark G. Thomas, a Joachim Burger. 2012. “The Evolution of Lactase Persistence in Europe. A Synthesis of Archaeological and Genetic Evidence”. *International Dairy Journal* 22(2):88–97. doi: 10.1016/j.idairyj.2011.10.010.
- Leseva, MN, RJ Grand, H. Klett, M. Boerries, H. Busch, AM Binder, a KB Michels. 2018. “Differences in DNA Methylation and Functional Expression in Lactase Persistent and Non-persistent Individuals”. *SCIENTIFIC REPORTS* 8. doi: 10.1038/s41598-018-23957-4.
- Levinson, David. 1998. *Ethnic groups worldwide: a ready reference handbook*. Conneticut: Greenwook Publishing Group.
- Levitt, M. D. 1969. “Production and Excretion of Hydrogen Gas in Man”. *The New England Journal of Medicine* 281(3):122–27. doi: 10.1056/NEJM196907172810303.
- Levy, TE, a AFC Holl. 2002. “Migrations, ethnogenesis, and settlement dynamics: Israelites in Iron Age Canaan and Shuwa-Arabs in the Chad Basin”. *Journal of Anthropological Archeology* 21(1):83–118. doi: 10.1006/jaar.2001.0390.
- Lewinsky, Rikke H., Tine G. K. Jensen, Jette Møller, Allan Stensballe, Jørgen Olsen, a Jesper T. Troelsen. 2005. “T –13910 DNA Variant Associated with Lactase Persistence Interacts with Oct-1 and Stimulates Lactase Promoter Activity in Vitro”. *Human Molecular Genetics* 14(24):3945–53. doi: 10.1093/hmg/ddi418.
- Lewis, I. M., a H. A. J. Jorg. 2024. “Somalia | Election, President, News, Capital, & Economy | Britannica”. Cit 23. april 2025 (<https://www.britannica.com/place/Somalia>).
- Liebert, Anke, Bryony L. Jones, Erik Thomas Danielsen, Anders Krüger Olsen, Dallas M. Swallow, a Jesper T. Troelsen. 2016. “In Vitro Functional Analyses of Infrequent Nucleotide Variants in the Lactase Enhancer Reveal Different Molecular Routes to Increased Lactase Promoter Activity and Lactase Persistence”. *Annals of Human Genetics* 80(6):307–18. doi: 10.1111/ahg.12167.
- Llewellyn, DH, L. Roderick, N. Sheik, a AK Campbell. 1996. “Calcium stress induces calreticulin gene expression”. *Biochem. J* 318:400–410.
- Loftus, R. T., D. E. MacHugh, D. G. Bradley, P. M. Sharp, a P. Cunningham. 1994. “Evidence for Two Independent Domestications of Cattle”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(7):2757–61. doi: 10.1073/pnas.91.7.2757.
- Lokki, A. Inkeri, Irma Järvelä, Elisabeth Israelsson, Bakary Maiga, Marita Troye-Blomberg, Amagana Dolo, Ogobara K. Doumbo, Seppo Meri, a Ville Holmberg. 2011. “Lactase Persistence Genotypes and Malaria Susceptibility in Fulani of Mali”. *Malaria Journal* 10:9. doi: 10.1186/1475-2875-10-9.

- Lucas-Sánchez, M., JM Serradell, a D. Comas. 2021. “Population history of North Africa based on modern and ancient genomes”. *Human Molecular Genetics* 30(R1):R17–23. doi: 10.1093/hmg/ddaa261.
- Maley, Bassey Andah, Alex Okpoko, Thurstan Shaw, a Paul Sinclair. 1993. “The Archaeology of Africa: food, metals and towns”. v *The Archaeology of Africa: food, metals and towns*. Routledge.
- Mantei, N., M. Villa, T. Enzler, H. Wacker, W. Boll, P. James, W. Hunziker, a G. Semenza. 1988. “Complete Primary Structure of Human and Rabbit Lactase-Phlorizin Hydrolase: Implications for Biosynthesis, Membrane Anchoring and Evolution of the Enzyme”. *The EMBO Journal* 7(9):2705. doi: 10.1002/j.1460-2075.1988.tb03124.x.
- Marshall, Fiona, a Elisabeth Hildebrand. 2002. “Cattle Before Crops: The Beginnings of Food Production in Africa”. *Journal of World Prehistory* 16(2):99–143. doi: 10.1023/A:1019954903395.
- Marteau, Philippe, Bernard Flourie, Philippe Pochart, Claude Chastang, Jehan-François Desjeux, a Jean-Claude Rambaud. 1990. “Effect of the Microbial Lactase (EC 3.2.1.23) Activity in Yoghurt on the Intestinal Absorption of Lactose: An in Vivo Study in Lactase-Deficient Humans”. *British Journal of Nutrition* 64(1):71–79. doi: 10.1079/BJN19900010.
- Matthews, S. B., J. P. Waud, A. G. Roberts, a A. K. Campbell. 2005. “Systemic Lactose Intolerance: A New Perspective on an Old Problem”. *Postgraduate Medical Journal* 81(953):167–73. doi: 10.1136/pgmj.2004.025551.
- McClure, SB, C. Magill, E. Podrug, AMT Moore, TK Harper, BJ Culleton, DJ Kennett, a KH Freeman. 2018. “Fatty acid specific $\delta^{13}\text{C}$ values reveal earliest Mediterranean cheese production 7,200 years ago”. *PLoS ONE* 13(9). doi: 10.1371/journal.pone.0202807.
- McCracken, Robert D. 1971. “Lactase Deficiency: An Example of Dietary Evolution”. *Current Anthropology* 12(4/5):479–517. doi: 10.1086/201234.
- Messina, F., G. Scano, I. Contini, C. Martínez-Labarga, GF De Stefano, a O. Rickards. 2017. “Linking between genetic structure and geographical distance: Study of the maternal gene pool in the Ethiopian population”. *Annals of Human Biology* 44(1):53–69. doi: 10.3109/03014460.2016.1155646.
- Mikkelsen, M., L. Fendt, AW Röck, B. Zimmermann, E. Rockenbauer, AJ Hansen, W. Parson, a N. Morling. 2012. “Forensic and phylogeographic characterisation of mtDNA lineages from Somalia”. *International Journal of Legal Medicine* 126(4):573–79. doi: 10.1007/s00414-012-0694-6.
- Mire, S. 2008. “The Discovery of Dhambalin Rock Art Site, Somaliland”. *African Archeological Review* 25(3–4):153–68. doi: 10.1007/s10437-008-9032-2.

- Mire, S. 2015. "Mapping the Archaeology of Somaliland: Religion, Art, Script, Time, Urbanism, Trade and Empire". *African Archaeological Review* 32(1):111–36. doi: 10.1007/s10437-015-9184-9.
- Muehlhoff, Ellen, Anthony Bennett, a Deirdre McMahon. 2013. *Milk and dairy products in human nutrition*.
- Mulcare, Charlotte A., Michael E. Weale, Abigail L. Jones, Bruce Connell, David Zeitlyn, Ayele Tarekegn, Dallas M. Swallow, Neil Bradman, a Mark G. Thomas. 2004. "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". *The American Journal of Human Genetics* 74(6):1102–10. doi: 10.1086/421050.
- Murayama, A., K. Sakura, M. Nakama, K. Yasuzawa-Tanaka, E. Fujita, Y. Tateishi, YA Wang, T. Ushijima, T. Baba, K. Shibuya, A. Shibuya, Y. Kawabe, a J. Yanagisawa. 2006. "A specific CpG site demethylation in the human interleukin 2 gene promoter is an epigenetic memory". *EMBO Journal* 25(5):1081–92. doi: 10.1038/sj.emboj.7601012.
- Musilová, E., V. Fernandes, NM Silva, P. Soares, F. Alshamali, N. Harich, L. Cherni, AB El Gaaied, A. Al-Meer, L. Pereira, a V. Cerny. 2011. "Population History of the Red Sea - Genetic Exchanges Between the Arabian Peninsula and East Africa Signaled in the Mitochondria! DNA HV1 Haplogroup". *American Journal of Physical Anthropology* 145(4):592–98. doi: 10.1002/ajpa.21522.
- Myo-Khin, null, T. D. Bolin, null Khin-Mar-Oo, null Tin-Oo, S. Kyaw-Hla, a T. Thein-Myint. 1999. "Ineffectiveness of Breath Methane Excretion as a Diagnostic Test for Lactose Malabsorption". *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 28(5):474–79. doi: 10.1097/00005176-199905000-00006.
- Naim, HY, a H Naim. 1996. "Dimerization of lactase-phlorizin hydrolase occurs in the endoplasmic reticulum, involves the putative membrane spanning domain and is required for an efficient transport of the enzyme to the cell surface". *European Journal of Cell Biology* 70(3):198–208.
- Naim, HY, EE Sterchi, a MJ Lentze. 1987. "Biosynthesis and maturation of lactase-phlorizin hydrolase in the human small intestinal epithelial cells". *Biochemical Journal* 241(2):427–34. doi: 10.1042/bj2410427.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). NG_008104.2 Homo sapiens lactase (LCT), RefSeqGene on chromosome 2. Dostupné na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_008104
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). X07994.1 Human mRNA for lactase-phlorizin hydrolase LPH (EC 3.2.1.23-62). Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/X07994>
- Neele, Adriana M., Alexandra W. C. Einerhand, Jan Dekker, Hans A. Büller, Jean-Noel Freund, Menno Verhave, Richard J. Grand, a Robert K. Montgomery. 1995. "Verification of the Lactase Site of Rat Lactase-Phlorizin Hydrolase by Site-

- Directed Mutagenesis". *Gastroenterology* 109(4):1234–40. doi: 10.1016/0016-5085(95)90583-9.
- Németh, K., GW Plumb, JG Berrin, N. Juge, R. Jacob, HY Naim, G. Williamson, DM Swallow, a PA Kroon. 2003. "Deglycosylation by small intestinal epithelial cell β -glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans". *European Journal of Nutrition* 42(1):29–42. doi: 10.1007/s00394-003-0397-3.
- Newman, James L. 1995. *The peopling of Africa: a geographic interpretation*. Yale University Press.
- Nováčková, J., M. Čížková, MG Mokhtar, P. Duda, V. Stenzl, P. Tríska, Z. Hofmanová, a V. Cerny. 2020. "Subsistence strategy was the main factor driving population differentiation in the bidirectional corridor of the African Sahel". *American Journal of Physical Anthropology* 171(3). doi: 10.1002/ajpa.24001.
- Nurse, Derek, a Gérard Philippon. 2003. *The bantu languages*. Roč. 4. Routledge.
- Olds, L. C. 2003. "Lactase Persistence DNA Variant Enhances Lactase Promoter Activity in Vitro: Functional Role as a Cis Regulatory Element". *Human Molecular Genetics* 12(18):2333–40. doi: 10.1093/hmg/ddg244.
- O'Mahony, L., J. McCarthy, P. Kelly, G. Hurley, FY Luo, KS Chen, GC O'Sullivan, B. Kiely, JK Collins, F. Shanahan, a EMM Quigley. 2005. "Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome:: Symptom responses and relationship to cytokine profiles". *Gastroenterology* 128(3):541–51. doi: 10.1053/j.gastro.2004.11.050.
- Pagani, Luca, Toomas Kivisild, Ayele Tarekegn, Rosemary Ekong, Chris Plaster, Irene Gallego Romero, Qasim Ayub, S. Qasim Mehdi, Mark G. Thomas, Donata Luiselli, Endashaw Bekele, Neil Bradman, David J. Balding, a Chris Tyler-Smith. 2012. "Ethiopian Genetic Diversity Reveals Linguistic Stratification and Complex Influences on the Ethiopian Gene Pool". *American Journal of Human Genetics* 91(1):83–96. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.05.015.
- Peakall, Rod, a Peter E. Smouse. 2012. "GenAlEx 6.5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research—an Update". *Bioinformatics* 28(19):2537. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460.
- Peters, Joris, Angela Von den Driesch, Maria Sana Segui, a Daniel Helmer. 1999. "Early Animal Husbandry in the Northern Levant". *Paléorient* 27–48.
- Phelps, LN, O. Broennimann, K. Manning, A. Timpson, H. Jousse, G. Mariethoz, DA Fordham, TM Shanahan, BAS Davis, a A. Guisan. 2020. "Reconstructing the climatic niche breadth of land use for animal production during the African Holocene". *Global Ecology and Biogeography* 29(1):127–47. doi: 10.1111/geb.13015.
- Phillipson, D. 1993. *African archaeology*. 2. Cambridge University Press, Cambridge.

- Pimentel, Mark, Henry C. Lin, Pedram Enayati, Brian Van Den Burg, Hyo-Rang Lee, Jin H. Chen, Sandy Park, Yuthana Kong, a Jeffrey Conklin. 2006. "Methane, a Gas Produced by Enteric Bacteria, Slows Intestinal Transit and Augments Small Intestinal Contractile Activity". *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 290(6):G1089–95. doi: 10.1152/ajpgi.00574.2004.
- Poloni, ES, Y. Naciri, R. Bucho, R. Niba, B. Kervaire, L. Excoffier, A. Langaney, a A. Sanchez-Mazas. 2009. "Genetic Evidence for Complexity in Ethnic Differentiation and History in East Africa". *Annals of Human Genetics* 73:582–600. doi: 10.1111/j.1469-1809.2009.00541.x.
- Priehodová, Edita, Abdelhay Abdelsawy, Evelyne Heyer, a Viktor Černý. 2014. "Lactase Persistence Variants in Arabia and in the African Arabs". *Human Biology* 86(1):7–18. doi: 10.3378/027.086.0101.
- Priehodová, Edita, Frédéric Austerlitz, Martina Čížková, Mohammed G. Mokhtar, Estella S. Poloni, a Viktor Černý. 2017. "The Historical Spread of A Rabian P Astoralists to the Eastern A Frican S Ahel Evidenced by the Lactase Persistence –13,915*G Allele and Mitochondrial DNA". *American Journal of Human Biology* 29(3):e22950. doi: 10.1002/ajhb.22950.
- Priehodová, Edita, Frédéric Austerlitz, Martina Čížková, Jana Nováčková, François-Xavier Ricaut, Zuzana Hofmanová, Carina M. Schlebusch, a Viktor Černý. 2020. "Sahelian Pastoralism from the Perspective of Variants Associated with Lactase Persistence". *American Journal of Physical Anthropology* 173(3):423–36. doi: 10.1002/ajpa.24116.
- Priehodová, Mgr Edita. 2017. "Koevoluční aspekty genetické diverzity: mléčná produkce a laktázová persistence". Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta.
- Ranciaro, Alessia, Michael C. Campbell, Jibril B. Hirbo, Wen-Ya Ko, Alain Froment, Paolo Anagnostou, Maritha J. Kotze, Muntaser Ibrahim, Thomas Nyambo, Sabah A. Omar, a Sarah A. Tishkoff. 2014. "Genetic Origins of Lactase Persistence and the Spread of Pastoralism in Africa". *The American Journal of Human Genetics* 94(4):496–510. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.02.009.
- Rasinpera, H. 2004. "A Genetic Test Which Can Be Used to Diagnose Adult-Type Hypolactasia in Children". *Gut* 53(11):1571–76. doi: 10.1136/gut.2004.040048.
- Reed, Floyd A., a Sarah A. Tishkoff. 2006. "African Human Diversity, Origins and Migrations". *Current Opinion in Genetics & Development* 16(6):597–605. doi: 10.1016/j.gde.2006.10.008.
- Reynolds, J., BS Weir, a CC Cockerham. 1983. "Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance". *Genetics* 105(3):767–79.
- Rings, E. H., P. A. de Boer, A. F. Moorman, E. H. van Beers, J. Dekker, R. K. Montgomery, R. J. Grand, a H. A. Büller. 1992. "Lactase Gene Expression during Early Development of Rat Small Intestine". *Gastroenterology* 103(4):1154–61. doi: 10.1016/0016-5085(92)91498-s.

- Rosenberg, MS, a CD Anderson. 2011. "PASSaGE: Pattern Analysis, Spatial Statistics and Geographic Exegesis. Version 2". *Methods in Ecology and Evolution* 2(3):229–32. doi: 10.1111/j.2041-210X.2010.00081.x.
- Ross, AB, Å. Johansson, M. Ingman, a U. Gyllensten. 2006. "Lifestyle, genetics, and disease in Sami". *Croatian medical journal* 47(4):553–65.
- Rossi, M., L. Maiuri, M. I. Fusco, V. M. Salvati, A. Fuccio, S. Auricchio, N. Mantei, L. Zecca, S. M. Gloor, a G. Semenza. 1997. "Lactase Persistence versus Decline in Human Adults: Multifactorial Events Are Involved in down-Regulation after Weaning". *Gastroenterology* 112(5):1506–14. doi: 10.1016/s0016-5085(97)70031-3.
- Sabeti, PC, SF Schaffner, B. Fry, J. Lohmueller, P. Varilly, O. Shamovsky, A. Palma, TS Mikkelsen, D. Altshuler, a ES Lander. 2006. "Positive natural selection in the human lineage". *Science* 312(5780):1614–20. doi: 10.1126/science.1124309.
- Sahi, T. 1974. "The Inheritance of Selective Adult-Type Lactose Malabsorption". *Scandinavian Journal of Gastroenterology. Supplement* 30:1–73.
- Sahi, T., M. Isokoski, J. Jussila, a K. Launiala. 1972. "Lactose Malabsorption in Finnish Children of School Age". *Acta Paediatrica Scandinavica* 61(1):11–16. doi: 10.1111/j.1651-2227.1972.tb15897.x.
- Sahi, T., M. Isokoski, J. Jussila, K. Launiala, a K. Pyorala. 1973. "Recessive inheritance of adult-type lactose malabsorption". *Lancet* 2(7833):823–25.
- Sahi, T., K. Launiala, a H. Laitinen. 1983. "Hypolactasia in a Fixed Cohort of Young Finnish Adults. A Follow-up Study". *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 18(7):865–70. doi: 10.3109/00365528309182107.
- Sanchez, JJ, C. Hallenberg, C. Borsting, A. Hernandez, a N. Morling. 2005. "High frequencies of Y chromosome lineages characterized by E3b1, DYS19-11, DYS392-12 in Somali males". *European Journal of Human Genetics* 13(7):856–66. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201390.
- Sarkar, A., a S. Mandal. 2016. "Bifidobacteria-Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action". *Microbiological Research* 192:159–71. doi: 10.1016/j.micres.2016.07.001.
- Scrimshaw, N. S., a E. B. Murray. 1988. "The Acceptability of Milk and Milk Products in Populations with a High Prevalence of Lactose Intolerance". *The American Journal of Clinical Nutrition* 48(4 Suppl):1079–1159. doi: 10.1093/ajcn/48.4.1142.
- Sebastio, G., M. Villa, R. Sartorio, V. Guzzetta, V. Poggi, S. Auricchio, W. Boll, N. Mantei, a G. Semenza. 1989. "Control of Lactase in Human Adult-Type Hypolactasia and in Weaning Rabbits and Rats". *American Journal of Human Genetics* 45(4):489–97.

- Ségurel, Laure, a Céline Bon. 2017. "On the Evolution of Lactase Persistence in Humans". *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 18(1):297–319. doi: 10.1146/annurev-genom-091416-035340.
- Semino, O., C. Magri, G. Benuzzi, AA Lin, N. Al-Zahery, V. Battaglia, L. Maccioni, C. Triantaphyllidis, PD Shen, PJ Oefner, LA Zhivotovsky, R. King, A. Torroni, LL Cavalli-Sforza, PA Underhill, a AS Santachiara-Benerecetti. 2004. "Origin, diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: Inferences on the neolithization of Europe and later migratory events in the Mediterranean area". *American Journal of Human Genetics* 74(5):1023–34. doi: 10.1086/386295.
- Semino, O., AS Santachiara-Benerecetti, F. Falaschi, LLC Sforza, a PA Underhill. 2002. "Ethiopians and Khoisan share the deepest clades of the human Y-chromosome phylogeny". *American Journal of Human Genetics* 70(1):265–68. doi: 10.1086/338306.
- Sherrat, A. 1983. "The Secondary Exploitation of Animals in The Old World". *World Archaeology* 15(1):90–104. doi: 10.1080/00438243.1983.9979887.
- Sherwin, WB, F. Jabot, R. Rush, a M. Rossetto. 2006. "Measurement of biological information with applications from genes to landscapes". *Molecular Ecology* 15(10):2857–69. doi: 10.1111/j.1365-294X.2006.02992.x.
- Scheinfeldt, LB, S. Soi, C. Lambert, WY Ko, A. Coulibaly, A. Ranciaro, S. Thompson, J. Hirbo, W. Beggs, M. Ibrahim, T. Nyambo, S. Omar, D. Woldemeskel, G. Belay, A. Froment, J. Kim, a SA Tishkoff. 2019. "Genomic evidence for shared common ancestry of East African hunting-gathering populations and insights into local adaptation". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116(10):4166–75. doi: 10.1073/pnas.1817678116.
- Scheinfeldt, LB, S. Soi, a SA Tishkoff. 2010. "Working toward a synthesis of archaeological, linguistic, and genetic data for inferring African population history". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:8931–38. doi: 10.1073/pnas.1002563107.
- Schlebusch, CM, a M. Jakobsson. 2018. "Tales of Human Migration, Admixture, and Selection in Africa". S. 405–28 v *Annual Review of Genomics and Human Genetic*. Roč. 19, zostavil A. Chakravarti a E. Green.
- Schlebusch, CM, P. Skoglund, P. Sjödin, LM Gattepaille, D. Hernandez, F. Jay, S. Li, M. De Jongh, A. Singleton, MGB Blum, H. Soodyall, a M. Jakobsson. 2012. "Genomic Variation in Seven Khoe-San Groups Reveals Adaptation and Complex African History". *Science* 338(6105):374–79. doi: 10.1126/science.1227721.
- Simoons, F. J. 1969. "Primary Adult Lactose Intolerance and the Milking Habit: A Problem in Biological and Cultural Interrelations. I. Review of the Medical Research". *The American Journal of Digestive Diseases* 14(12):819–36. doi: 10.1007/BF02233204.
- Simoons, F. J. 1970. "Primary Adult Lactose Intolerance and the Milking Habit: A Problem in Biologic and Cultural Interrelations. II. A Culture Historical

- Hypothesis". *The American Journal of Digestive Diseases* 15(8):695–710. doi: 10.1007/BF02235991.
- Simoons, FJ. 1979. "Dairying, milk use, and lactose malabsorption in Eurasia: a problem of culture history". *Anthropos* 74(1–2):61–80.
- Sokal, RR, a NL Oden. 1978. "Spatial Autocorrelation in Biology. 1. Methodology". *Biological Journal of the Linnean Society* 10(2):199–228. doi: 10.1111/j.1095-8312.1978.tb00013.x.
- Suzuki, T., E. Furuhashi, S. Maeda, M. Kishima, Y. Miyajima, Y. Tanaka, J. Lim, H. Nishimura, Y. Nakanishi, A. Shojima, a H. Suzuki. 2022. "GATA6 is predicted to regulate DNA methylation in an in vitro model of human hepatocyte differentiation". *Communications Biology* 5(1). doi: 10.1038/s42003-022-03365-1.
- Swallow, Dallas M. 2003. "Genetics of Lactase Persistence and Lactose Intolerance". *Annual Review of Genetics* 37(1):197–219. doi: 10.1146/annurev.genet.37.110801.143820.
- Tadesse, K., Dty Leung, a Rcf Yuen. 1992. "The Status of Lactose Absorption in Hong Kong Chinese Children". *Acta Paediatrica* 81(8):598–600. doi: 10.1111/j.1651-2227.1992.tb12308.x.
- Tishkoff, Sarah A., Floyd A. Reed, Françoise R. Friedlaender, Christopher Ehret, Alessia Ranciaro, Alain Froment, Jibril B. Hirbo, Agnes A. Awomoyi, Jean-Marie Bodo, Ogobara Doumbo, Muntaser Ibrahim, Abdalla T. Juma, Maritha J. Kotze, Godfrey Lema, Jason H. Moore, Holly Mortensen, Thomas B. Nyambo, Sabah A. Omar, Kweli Powell, Gideon S. Pretorius, Michael W. Smith, Mahamadou A. Thera, Charles Wambebe, James L. Weber, a Scott M. Williams. 2009. "The Genetic Structure and History of Africans and African Americans". *Science (New York, N.Y.)* 324(5930):1035–44. doi: 10.1126/science.1172257.
- Tishkoff, Sarah A., Floyd A. Reed, Alessia Ranciaro, Benjamin F. Voight, Courtney C. Babbitt, Jesse S. Silverman, Kweli Powell, Holly M. Mortensen, Jibril B. Hirbo, Maha Osman, Muntaser Ibrahim, Sabah A. Omar, Godfrey Lema, Thomas B. Nyambo, Jilur Ghorri, Suzannah Bumpstead, Jonathan K. Pritchard, Gregory A. Wray, a Panos Deloukas. 2007. "Convergent Adaptation of Human Lactase Persistence in Africa and Europe". *Nature Genetics* 39(1):31–40. doi: 10.1038/ng1946.
- Treudler, Regina, Beate Tebbe, Matthias Steinhoff, a Constantin E. Orfanos. 2002. "Familial Aquagenic Urticaria Associated with Familial Lactose Intolerance". *Journal of the American Academy of Dermatology* 47(4):611–13. doi: 10.1067/mjd.2002.124599.
- Triska, P., P. Soares, E. Patin, V. Fernandes, V. Cerny, a L. Pereira. 2015. "Extensive Admixture and Selective Pressure Across the Sahel Belt". *Genome Biology and Evolution* 7(12):3484–95. doi: 10.1093/gbe/evv236.

- Troelsen, Jesper T. 2005. "Adult-Type Hypolactasia and Regulation of Lactase Expression". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1723(1–3):19–32. doi: 10.1016/j.bbagen.2005.02.003.
- Troelsen, Jesper T., Jørgen Olsen, Jette Møller, a Hans Sjöström. 2003. "An Upstream Polymorphism Associated with Lactase Persistence Has Increased Enhancer Activity". *Gastroenterology* 125(6):1686–94. doi: 10.1053/j.gastro.2003.09.031.
- Uerpmann. 1989. "The Walking Larder | Patterns of Domestication, Pastoralism, and Preda". Cit 29. január 2025 (<https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.4324/9781315746456/walking-larder-juliet-clutton-brock>).
- Usai-Satta, Paolo, Mariella Scarpa, Oppia Francesco, a Francesco Cabras. 2012. "Lactose malabsorption and intolerance: What should be the best clinical management?" *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics* 3:29–33. doi: 10.4292/wjgpt.v3.i3.29.
- Vandenplas, Y. 2015. "Lactose intolerance". *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 24:S9–13. doi: 10.6133/apjcn.2015.24.s1.02.
- Vernia, P., M. Di Camillo, V. Marinaro, a R. Caprilli. 2003. "Effect of Predominant Methanogenic Flora on the Outcome of Lactose Breath Test in Irritable Bowel Syndrome Patients". *European Journal of Clinical Nutrition* 57(9):1116–19. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601651.
- Vesa, T. H., P. Marteau, a R. Korpela. 2000. "Lactose Intolerance". *Journal of the American College of Nutrition* 19(2 Suppl):165S-175S. doi: 10.1080/07315724.2000.10718086.
- Vesa, T. H., P. R. Marteau, F. B. Briet, M. C. Boutron-Ruault, a J. C. Rambaud. 1997. "Raising Milk Energy Content Retards Gastric Emptying of Lactose in Lactose-Intolerant Humans with Little Effect on Lactose Digestion". *The Journal of Nutrition* 127(12):2316–20. doi: 10.1093/jn/127.12.2316.
- Vicente, Mário, Edita Priehodová, Issa Diallo, Eliška Podgorná, Estella S. Poloni, Viktor Černý, a Carina M. Schlebusch. 2019. "Population History and Genetic Adaptation of the Fulani Nomads: Inferences from Genome-Wide Data and the Lactase Persistence Trait". *BMC Genomics* 20(1):915. doi: 10.1186/s12864-019-6296-7.
- Vigne, Jean-Denis. 2008. "Zooarchaeological Aspects of the Neolithic Diet Transition in the Near East and Europe, and Their Putative Relationships with the Neolithic Demographic Transition". S. 179–205 v *The Neolithic Demographic Transition and its Consequences*.
- Vigne, Jean-Denis, Hijkle Buitenhuis, a Simon Davis. 1999. "Les premiers pas de la domestication animale à l'Ouest de l'Euphrate: Chypre et l'Anatolie Centrale". *Paléorient* 25. doi: 10.3406/paleo.1999.4686.

- Vigne, Jean-Denis, a Daniel Helmer. 2007. “Was milk a ‘secondary product’ in the Old World Neolithisation process? Its role in the domestication of cattle, sheep and goats”. *Anthropozoologica* 42.
- Vigne, Jean-Denis, Joris Peters, a Daniel Helmer. 2005. *First Steps of Animal Domestication: New Archaeozoological Approaches Proceedings of The*. Oxford: Oxbow books.
- Villicaña, S., a JT Bell. 2021. “Genetic impacts on DNA methylation: research findings and future perspectives”. *Genome Biology* 22(1). doi: 10.1186/s13059-021-02347-6.
- Wang, Y. G., Y. S. Yan, J. J. Xu, R. F. Du, S. D. Flatz, W. Kühnau, a G. Flatz. 1984. “Prevalence of Primary Adult Lactose Malabsorption in Three Populations of Northern China”. *Human Genetics* 67(1):103–6. doi: 10.1007/BF00270566.
- Wang, Y., C. B. Harvey, E. J. Hollox, A. D. Phillips, M. Poulter, P. Clay, J. A. Walker-Smith, a D. M. Swallow. 1998. “The Genetically Programmed Down-Regulation of Lactase in Children”. *Gastroenterology* 114(6):1230–36. doi: 10.1016/s0016-5085(98)70429-9.
- Wang, Y., C. B. Harvey, W. S. Pratt, V. R. Sams, M. Sarner, M. Rossi, S. Auricchio, a D. M. Swallow. 1995. “The Lactase Persistence/Non-Persistence Polymorphism Is Controlled by a Cis-Acting Element”. *Human Molecular Genetics* 4(4):657–62. doi: 10.1093/hmg/4.4.657.
- Weir, BS, a CC Cockerham. 1984. “Estimating F-statistics for the analysis of population structure”. *Evolution* 38(6):1358–70. doi: 10.2307/2408641.
- Weiss, S. L., E. A. Lee, a J. Diamond. 1998. “Evolutionary Matches of Enzyme and Transporter Capacities to Dietary Substrate Loads in the Intestinal Brush Border”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(5):2117–21. doi: 10.1073/pnas.95.5.2117.
- Wells, JCK, E. Pomeroy, a JT Stock. 2021. “Evolution of Lactase Persistence: Turbo-Charging Adaptation in Growth Under the Selective Pressure of Maternal Mortality?” *Frontiers in Physiology* 12. doi: 10.3389/fphys.2021.696516.
- Wiley, AS. 2018. “The Evolution of Lactase Persistence: Milk Consumption, Insulin-Like Growth Factor I, and Human Life-History Parameters”. *Quarterly Review of Biology* 93(4):319–45. doi: 10.1086/700768.
- Zecca, Laura, José E. Mesonero, Alfred Stutz, Jean-Claude Poirée, Jean Giudicelli, Raffaele Cursio, Sergio M. Gloor, a Giorgio Semenza. 1998. “Intestinal Lactase-phlorizin Hydrolase (LPH): The Two Catalytic Sites; the Role of the Pancreas in pro-LPH Maturation”. *FEBS Letters* 435(2–3):225–28. doi: 10.1016/S0014-5793(98)01076-X.
- Zeltner, Jean-Claude. 2002. *Histoire des Arabes sur les rives du lac Tchad*. Paris, France: KARTHALA Editions.

ZOZNAM TABULIEK A GRAFOV

Tabuľka 1: Prehľad LP asociovaných variant. SNP ID či rs číslo predstavuje referenčné číslo polymorfizmu a fyzická poloha polymorfizmov na chromozóme 2 je uvedená podľa najnovšej verzie referenčného genómu GRCh38. Hviezdičkou sú označené varianty, ktorých asociácia s LP bola polemizovaná, ale nepreukázaná (podľa Priehodová 2017 – upravené)

.....	13
Tabuľka 2: Prehľad výskytu jednotlivých LP asociovaných variant v krajinách východnej Afriky s uvedenými populáciami s ich najvyšším výskytom	22
Tabuľka 3: Prehľad populácií datasetu použitých pre následné štatistické vyhodnotenie s uvedenými frekvenciami jednotlivých LP variant. n. je počet jedincov v mutácii a.....	43
Tabuľka 4: Identifikované LP varianty s ich frekvenciami u somalilandskej populácie (SML)	51
Tabuľka 5: Výsledky intra-populačného vyhodnotenia populácie Somalilandu, kde Na je počet rozdielnych alel, Ne je efektívny počet alel, I je Shannonov index, Ho je pozorovaná heterozygotita, He je očakávaná heterozygotita a F je fixačný index	51
Tabuľka 6: Výsledky AMOVA analýzy. FCT reprezentuje variabilitu medzi jednotlivými skupinami, FST reprezentuje vnútro-populačnú variabilitu (teda variabilitu v rámci populácií) a FSC reprezentuje variabilitu medzi populáciami v rámci skupín.....	52
Tabuľka 7: Prehľad dominantných LP variant a ich pravdepodobného pôvodu v rámci jednotlivých jazykových rodín.....	62
Tabuľka 8: Výsledky AMOVA analýzy s využitím datasetu obsahujúceho populácie so známymi frekvenčnými dátami pre všetkých 5 LP asociovaných variant obsahujúceho 53 populácií.....	66

Graf 1: PCoA vizualizujúca skúmané populácie rozdelené na základe praktizovanej subsistencie s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G.....	53
Graf 2: PCoA vizualizujúca skúmané populácie rozdelené do skupín Pastoralisti a Ostatné formy subsistencie s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu	54
Graf 3: PCoA vizualizujúca rozdelenie populácií na základe jazykovej príslušnosti s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu.....	55
Graf 4: PCoA vizualizujúca rozdelenie populácií na základe geografickej lokality vo vertikálnej osi s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu.....	56
Graf 5: PCoA vizualizujúca rozdelenie populácií na základe geografickej lokality v horizontálnej osi s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant -13 910*T, -14 010*C a -13 915*G. SML predstavuje mnou analyzovanú populáciu Somalilandu	56
Graf 6: Graf zobrazujúci percentuálne zastúpenie populácií v závislosti od celkovej frekvencie LP danej populácie v rámci jednotlivých jazykových rodín.....	62
Graf 7: Graf zobrazujúci zastúpenie varianty -14 009*G v rámci jednotlivých typov subsistenčných stratégií	65
Graf 8: Graf zobrazujúci zastúpenie varianty -14 009*G v rámci jednotlivých jazykových rodín.....	65

Graf 9: PCoA vizualizujúca vybrané populácie skúmané v rámci praktickej časti rozdelené na základe praktizovanej subsistencie s vyznačenými trendami nárastu frekvencií variant - 13 910*T, -14 010*C a -13 915*G..... 68

ZOZNAM OBRÁZKOV

Obrázok 1: Laktóza (zdroj internet: https://byjus.com/).....	3
Obrázok 2: Prehľad doménových štruktúr LPH proteínu (Troelsen 2005).....	4
Obrázok 3: Biosyntéza laktázového proteínu. (I) a – transkripcia laktázového génu do mRNA. V diferencovaných enterocytoch tenkého čreva; b – translácia laktázovej mRNA ústiaca v vznik pre-pro-LPH formy, ktorá je translokovaná cez ER. Translokácia je mediovaná signálnym peptidom lokalizovaným v pre-regióne, ktorý je v ER odštiepený; c – N-glykozylácia pro-LPH v ER; d – dimerizácia v ER. (II) Transport pro-LPH do Golgiho aparátu (GA); e – O-glykozylácia v GA; f – odštiepenie veľkého pro-regiónu. (III) Transport maturovaného LPH na membránu mikrokľvkov (Troelsen 2005).....	5
Obrázok 4: Dedičnosť LP (Cohen et al. 2024)	12
Obrázok 5: Mapa MCM6 a LCT génov chromozómu 2 a umiestnenia sekvenovaných genómových oblastí a štyroch polymorfizmov (Ranciaro et al. 2014).....	14
Obrázok 6: Schéma intrónu 13 MCM6 génu s vyznačenými väzobnými miestami pre transkripčné faktory zapojené do regulácie laktázy a LP asociovanými SNPs s ich relatívnymi pozíciami (červené čiary) (Cohen et al. 2024)	14
Obrázok 7: Genetický mechanizmus LP a laktázovej non-perzistencie (LNP) u ľudí. Obdĺžniky znázorňujú transkripčné faktory podieľajúce sa na LP, okrem v texte spomenutých je na obrázku znázornený aj transkripčný faktor Pdx-2, na základe in vitro štúdií potvrdený transkripčný represor redukujúci LCT expresiu. Ovály reprezentujú metyláciu v rámci LCT regiónu (Anguita-Ruiz. et al. 2020).....	16
Obrázok 8: Mapa znázorňujúca svetové frekvencie LP Wells et al. (2021).....	17
Obrázok 9: Európske populácie usporiadané na základe frekvencie LP, ilustrujúce klinálnu distribúciu s poklesom smerom zo severo-západu na juho-východ (Swallow 2003).....	18
Obrázok 10: Frekvencie varianty -13 915*G na Arabskom polostrove a v severovýchodnej Afrike (Priehodová et al. 2017)	19
Obrázok 11: Prehľad migrácií v oblasti východnej Afriky (upravené Lucas-Sánchez, et al. 2021).....	32
Obrázok 12: Rozšírenie jednotlivých jazykových rodín v Afrike (Scheinfeldt et al. 2010).....	32
Obrázok 13: Rozšírenie vetiev afroázijskej jazykovej rodiny v rámci Afriky (Černý et al. 2009).....	33
Obrázok 14: Mapa zobrazujúca jednotlivé priemerné komponenty v rámci populácií Afriky. Červená farba reprezentuje západoafrické dedičstvo, fialová farba reprezentuje centrálne-africké dedičstvo, tyrkysová farba reprezentuje blízkovýchodné dedičstvo a modrá farba reprezentuje európske dedičstvo (Fortes-Lima et al. 2022).....	35
Obrázok 15: Mapa Somalilandu	38
Obrázok 16: PCA analýza genetických vzdialeností populácií Afriky a Eurázie založená na interpolácii Slatkinových linearizovaných Fst hodnôt získaných z mitochondriálnej DNA. Analýza zobrazuje vzťah medzi genetickou a geografickou vzdialenosťou populácií a poukazuje na koreláciu medzi priestorovou vzdialenosťou a genetickou diferenciáciou ($R^2 = 0.2611$) (Messina et al. 2017)	39
Obrázok 17: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -14 010*C vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty.....	57
Obrázok 18: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -13 907*G vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty.....	57

Obrázok 19: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -13 915*G vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty.....	58
Obrázok 20: Výsledok autokorelačnej analýzy varianty -13 910*T vizualizovaný formou korelogramu. Červené kruhy predstavujú signifikantné hodnoty a krížiky predstavujú nesignifikantné hodnoty.....	58
Obrázok 21: Mapa 70 populácií východnej Afriky analyzovaných v rámci praktickej časti diplomovej práce. U jednotlivých populácií sú vo forme koláčového grafu vizualizované i frekvencie 4 LP asocioaných variant.....	59

PRÍLOHY

Príloha 1: Celkový dataset obsahujúci 107 populácií východnej Afriky s frekvenciami 5 LP variant. n. Značí počet skúmaných jedincov danej populácie, ID značí skratku názvu populácie, ZD je zemepisná dĺžka, ZŠ je zemepisná šírka, SUBS značí subsistenciu, JR jazykové rodiny a LP je celková frekvencia LP v danej populácii.

n.	Populácia	ID	ZD	ZŠ	-14 010*C	-13 915* G	-13 910* T	-13 907* G	-14 009* G	SUBS	JR	Krajina pôvodu	LP	Zdroj
26	Abbala	ACH	15,31	14,12	0,00	0,44	0,02	0,00	0,04	Past	AA	Čad	0,50	Priehodová et al. 2017, Priehodova et al. 2013
37	Afar	AF1	41,44	11,56	0,00	0,12	0,01	0,30	0,01	Past	AA	Etiópia	0,44	Ingram et al. 2009b
26	Afar	AFA	40,36	13,33	0,00	0,14	0,00	0,14	0,00	Past	AA	Džibuti	0,27	Priehodová et al. 2020
76	Afar	AF3	41,36	11,60	0,01	0,18	0,01	0,24	0,01	Past	AA	Etiópia	0,45	Jones et al. 2015
2	Ama	AMA	30,00	20,00	0,00	0,00	0,00	0,00	x	Agro- past	NS	Sudán	0,00	Tishkoff et al. 2007
54	Amhara	AMR	38,66	9,87	0,00	0,04	0,00	0,02	0,05	Farm	NS	Etiópia	0,11	Jones et al. 2013
19	Amharic	AMH	38,70	9,03	0,00	0,13	0,00	0,05	0,00	Farm	AA	Etiópia	0,18	Ingram et al. 2009b
69	Anuak	ANU	34,41	7,95	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Etiopiia	0,00	Jones et al. 2015
31	Arabský Baggara	AB1	14,67	11,33	0,00	0,03	0,08	0,00	0,00	Past	AA	Kamerun	0,11	Ranciaro et al. 2014
53	Arabský Baggara 1	ABG	28,35	11,53	0,00	0,20	0,02	0,00	0,19	Past	AA	Čad	0,41	Priehodová et al. 2017
50	Arabský Baggara 2	ABA	17,95	13,18	0,00	0,26	0,04	0,00	0,03	Past	AA	Sudán	0,33	Priehodová et al. 2017
5	Bajun	BAJ	40,12	-3,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NK	Keňa	0,00	Ranciaro et al. 2014
37	Bani Amir	BA1	36,69	20,24	0,00	0,34	0,00	0,15	0,00	Past	AA	Sudán	0,49	Hassan et al. 2016
5	Baria	BAR	38,00	16,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Agro- past	NS	Južný Sudán	0,00	Hollfelder et al. 2021
9	Bataheen	BAT	x	x	0,00	0,28	0,00	0,00	0,17	Agro- past	AA	Sudán	0,45	Hollfelder et al. 2021

47	Beja	BEJ	36,34	15,55	0,00	0,17	0,00	0,05	0,43	Past	AA	Sudán	0,65	Priehodová et al. 2020
6	Beja Banuamir	BBA	36,40	16,10	0,00	0,17	0,00	0,25	0,24	Past	AA	Sudán	0,66	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
11	Beja Hadandawa	BHA	36,40	15,50	0,00	0,18	0,00	0,18	0,24	Past	AA	Sudán	0,60	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
81	Beni Amer	BA2	37,22	19,62	0,00	0,25	0,01	0,01	0,10	Past	AA	Sudán	0,37	Ingram et al. 2009b
77	Beni Amer	BA3	37,22	19,62	0,00	0,24	0,01	0,13	0,12	Past	AA	Sudán	0,50	Jones et al. 2015
18	Beta Israeli	BTI	37,47	12,60	0,00	0,03	0,00	0,08	0,00	Agro- past	AA	Etiópia	0,11	Ranciaro et al. 2014
24	Boni	BON	40,49	-2,21	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	L-Z	AA	Keňa	0,21	Ranciaro et al. 2014
17	Borana	BOR	38,02	2,33	0,09	0,09	0,00	0,12	0,00	Past	AA	Keňa	0,30	Ranciaro et al. 2014
22	Boulala	BOU	17,54	12,89	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	Farm	NS	Čad	0,02	Ranciaro et al. 2014
8	Burji	BUR	37,78	5,60	0,06	0,06	0,00	0,00	0,00	Agro- past	AA	Etiópia	0,12	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
39	Copts	COP	32,45	15,06	0,00	0,00	0,00	0,00	x	Farm	AA	Sudán	0,00	Hassan et al. 2016
50	Daju	DAJ	24,35	12,74	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	Farm	NS	Sudán	0,01	Priehodová et al. 2020
12	Danagla	DAN	x	x	0,00	0,04	0,00	0,04	0,04	Farm	NS	Sudán	0,12	Hollfelder et al. 2021
49	Dangaleat	DNG	18,52	12,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	AA	Čad	0,00	Priehodová et al. 2020
49	Darfurian	DAR	23,74	13,95	0,00	0,01	0,00	0,00	x	Farm	NS	Sudán	0,01	Hassan et al. 2016
1	Dikiri Maasai	DIM	37,16	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,00	Ranciaro et al. 2014
9	Dinka	DI2	28,50	8,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Sudán	0,00	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
6	Dunglawi	DUN	30,00	20,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	Farm	x	Sudán	0,08	Ingram et al. 2009b
34	Egypt'ania	EGY	28,66	28,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,06	Farm	AA	Egypt	0,08	Priehodová et al. 2017, Priehodova et al. 2013
16	Elmolo	ELM	36,68	2,83	0,22	0,03	0,00	0,00	0,00	L-Z	AA	Keňa	0,25	Ranciaro et al. 2014
40	Etiópci	ET5	39,99	8,13	0,00	0,10	0,00	0,11	x	Agro- past	AA	Etiópia	0,21	Hassan et al. 2016
24	Fulbovia	FU2	14,50	10,50	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	Past	NK	Kamerun	0,23	Ranciaro et al. 2014
39	Fulbovia	FU3	24,00	11,00	0,00	0,01	0,27	0,01	x	Past	NK	Sudán	0,29	Hassan et al. 2016

49	Fulbovia Bongor	FBO	15,41	10,28	0,00	0,00	0,57	0,00	x	Past	NK	Čad	0,57	Priehodová et al. 2020
27	Fulbovia Linia	FLI	15,31	12,05	0,00	0,00	0,50	0,00	x	Past	NK	Čad	0,50	Priehodová et al. 2020
20	Gaali	GAA	32,53	15,59	0,00	0,00	0,00	0,05	x	Farm	AA	Sudán	0,05	Enattah et al. 2008
40	Gaalien	GAL	34,25	15,79	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	Farm	AA	Sudán	0,13	Hassan et al. 2016
41	Gabra/Gabra migos	GAB	37,07	3,32	0,05	0,20	0,00	0,09	0,00	Past	AA	Keňa	0,34	Ranciaro et al. 2014
19	Garreh	GAR	39,24	3,47	0,00	0,16	0,00	0,08	0,00	Past	AA	Keňa	0,24	Ranciaro et al. 2014
5	Gemar	GEM	x	x	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	Agro- past	NS	Sudán	0,10	Hollfelder et al. 2021
39	Halfawien	HAL	31,07	21,64	0,00	0,12	0,00	0,01	x	Farm	NS	Sudán	0,13	Hassan et al. 2016
11	Il'gwesi Maasai	ILG	37,14	0,37	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,68	Ranciaro et al. 2014
10	Ilchamus Maasai	ILC	36,08	0,51	0,55	0,00	0,00	0,05	0,00	Past	NS	Keňa	0,60	Ranciaro et al. 2014
86	Jaali	JAA	33,43	16,69	0,00	0,13	0,01	0,01	0,01	Farm	AA	Sudán	0,16	Ingram et al. 2009b
27	Kababish	KAB	30,75	16,13	0,00	0,33	0,00	0,02	0,11	Past	AA	Sudán	0,46	Priehodová et al. 2020
2	Keiyo	KIY	34,95	-0,38	0,50	0,00	0,00	0,00	x	Past	NS	Keňa	0,50	Tishkoff et al. 2007
7	Kikuyu	KIK	37,15	-0,72	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NK	Keňa	0,50	Ranciaro et al. 2014
6	Konso	KON	37,48	5,25	0,08	0,08	0,00	0,00	0,00	Farm	AA	Etiópia	0,16	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
47	Kotoko	KOT	15,04	11,75	0,00	0,02	0,00	0,00	x	Farm	AA	Kamerun	0,02	Priehodová et al. 2020
23	Laka	LAK	15,97	7,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NS	Čad	0,00	Ranciaro et al. 2014
22	Luo	LUO	34,53	-0,11	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	Rybár	NS	Keňa	0,05	Ranciaro et al. 2014
66	Maale	MAA	36,64	5,71	0,00	0,04	0,00	0,02	0,05	Past	AA	Etiópia	0,11	Jones et al. 2015
15	Mahas	MA2	32,53	16,32	0,00	0,17	0,00	0,00	x	Past	NS	Sudán	0,17	Enattah et al. 2008
39	Mahas	MA1	30,72	19,63	0,00	0,04	0,00	0,01	x	Farm	NS	Sudán	0,05	Hassan et al. 2016
21	Mandara	MAN	14,00	11,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	AA	Kamerun	0,00	Ranciaro et al. 2014
40	Manjo	MAJ	36,23	7,27	0,00	0,00	0,01	0,01	0,03	Farm	AA	Etiópia	0,05	Jones et al. 2015
7	Marakwet	MAR	35,26	1,09	0,36	0,07	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,43	Ranciaro et al. 2014

35	Masa	MAS	15,26	10,34	0,00	0,00	0,00	0,00	x	Farm	AA	Kamerun	0,00	Priehodová et al. 2020
8	Messiria	MES	28,00	11,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	Past	AA	Sudán	0,13	Hollfelder et al. 2021
7	Mumonyot	MU												
7	Maasai	M	37,14	0,43	0,50	0,00	0,00	0,07	0,00	Past	NS	Keňa	0,57	Ranciaro et al. 2014
4	Nandi	NND	35,18	0,11	0,25	0,00	0,00	0,00	x	Past	NS	Keňa	0,25	Tishkoff et al. 2007
24	Ngambay	NGA	16,32	8,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NS	Čad	0,00	Ranciaro et al. 2014
48	Nilotes	NIL	31,56	8,01	0,00	0,00	0,00	0,00	x	Agro-past	NS	Južný Sudán	0,00	Hassan et al. 2016
40	Nuba	NUB	31,07	10,65	0,00	0,03	0,00	0,00	x	Agro-past	NS a NK	Sudán	0,03	Hassan et al. 2016
5	Nuer	NU1	32,00	8,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Sudán	0,00	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
37	Nuer	NU2	34,58	8,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Etiópia	0,00	Jones et al. 2015
6	Nyimang	NYI	30,75	12,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Sudán	0,00	Ranciaro et al. 2014
11	Ogiek	OGK	35,83	-0,37	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	L-Z	NS	Keňa	0,36	Ranciaro et al. 2014
24	Orma	ORM	40,44	-2,39	0,23	0,13	0,00	0,02	0,00	Past	AA	Keňa	0,38	Ranciaro et al. 2014
75	Oromo	ORO	37,31	7,84	0,01	0,07	0,00	0,05	0,03	Past	AA	Etiópia	0,16	Jones et al. 2013
19	Ouldoume	OUL	14,24	10,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	AA	Kamerun	0,00	Ranciaro et al. 2014
18	Pare Kenya	PAR	37,76	-3,48	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	Agro-past	NK	Keňa	0,20	Ranciaro et al. 2014
10	Fenotyp.													
9	Somálčania	SO1	41,87	9,58	0,01	0,05	0,02	0,06	0,01	Past	AA	Etiópia	0,15	Ingram et al. 2009b
7	Pokomo	PKM	40,12	-3,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NK	Keňa	0,00	Ranciaro et al. 2014
14	Pokot	PKT	36,09	0,68	0,29	0,04	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,33	Ranciaro et al. 2014
	Purko													
1	Maasai	PUR	36,08	0,51	1,00	0,00	0,00	0,00	x	Past	NS	Keňa	1,00	Tishkoff et al. 2007
18	Pygmy	PYG	14,75	2,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	L-Z	NK	Kamerun	0,00	Jones et al. 2015
	Rašajdskí													
51	Arabi	RAS	36,30	15,35	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	Past	AA	Sudán	0,77	Priehodová et al. 2017
12	Rendille	REN	37,58	2,51	0,08	0,08	0,00	0,04	0,00	Past	AA	Keňa	0,22	Ranciaro et al. 2014
6	Sabaot	SAB	35,26	1,09	0,17	0,08	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,25	Ranciaro et al. 2014

9	Samburu	SAM	36,70	1,10	0,28	0,06	0,00	0,06	0,00	Past	NS	Keňa	0,40	Ranciaro et al. 2014
14	Sanye	SAN	40,50	-2,37	0,04	0,07	0,00	0,00	0,00	L-Z	AA	Keňa	0,11	Ranciaro et al. 2014
16	Sengwer	SEN	35,26	1,09	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	L-Z	NS	Keňa	0,06	Ranciaro et al. 2014
24	Shabo	SHB	35,41	7,56	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NS	Etiópia	0,00	Jones et al. 2015
9	Shaigi	SHA	30,00	20,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,17	Farm	x	Sudán	0,23	Ingram et al. 2009b
8	Shilluk	SHI	31,66	9,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Sudán	0,00	Ranciaro et al. 2014 and Tishkoff et al. 2007
40	Shokrya	SHO	35,36	17,07	0,00	0,30	0,01	0,03	x	Past	AA	Sudán	0,34	Hassan et al. 2016
38	Shwaiga	SHW	31,66	18,64	0,00	0,13	0,00	0,03	x	Farm	AA	Sudán	0,16	Hassan et al. 2016
1	Somálčania	SO4	38,00	1,00	0,00	0,50	0,00	0,00	x	Past	AA	Keňa	0,50	Tishkoff et al. 2007
37	Somálčania	SO3	42,80	9,35	0,03	0,04	0,00	0,10	0,01	Past	AA	Etiópia	0,18	Ingram et al. 2009b
62	Somálčania	SO2	45,37	2,07	0,00	0,02	0,00	0,00	x	Farm	AA	Somalia	0,02	Enattah et al. 2008
98	Somálčania	SML	43,18	9,94	0,01	0,05	0,00	0,06	0,01	Past	AA	Somalila nd	0,13	diplomová práca Priehodová et al. 2017, Priehodova et al. 2013
46	Sudánci	ARS	30,75	18,41	0,00	0,09	0,00	0,01	0,13	Farm	AA	Sudán	0,23	Jones et al. 2015
50	Suri	SUR	35,59	7,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Etiópia	0,04	Jones et al. 2015
10	Taita	TAI	38,29	-3,40	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	Farm	NK	Keňa	0,10	Ranciaro et al. 2014
44	Tigray	TIG	39,47	13,50	0,00	0,11	0,00	0,19	0,03	Farm	AA	Etiópia	0,33	Jones et al. 2013
15	Tugen	TUG	35,85	0,52	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,23	Ranciaro et al. 2014
13	Turkana	TUR	35,99	0,48	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Keňa	0,19	Ranciaro et al. 2014
22	Wata	WAT	37,07	3,32	0,16	0,16	0,00	0,02	0,00	L-Z	AA	Keňa	0,34	Ranciaro et al. 2014
26	Wolayta	WOL	37,76	6,84	0,02	0,12	0,00	0,08	0,04	Farm	AA	Etiópia	0,26	Jones et al. 2013
14	Yaaku	YAK	37,18	0,45	0,54	0,00	0,00	0,04	0,00	L-Z	AA	Keňa	0,58	Ranciaro et al. 2014
48	Zaghawa	ZGW	23,51	13,05	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	Past	NS	Sudán	0,03	Priehodová et al. 2020

Príloha 2: Dataset obsahujúci 53 populácií, u ktorých boli známe frekvencie 5 LP asociovaných variant. n. značí počet jedincov danej populácie a ID skratku danej populácie

n.	POPULÁCIA	ID	KRAJINA	14010*C	13915*G	13910*T	13907*G	14009*G	SUBSISTENCIA	JAZYKOVÁ RODINA
26	Abbala	ACH	Čad	0,00	0,44	0,02	0,00	0,04	pastoralizmus	Afroázijská
37	Afar	AF1	Etiópia	0,00	0,12	0,01	0,30	0,01	pastoralizmus	Afroázijská
26	Afar	AFA	Džibuti	0,00	0,14	0,00	0,14	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
76	Afar	AF3	Etiópia	0,01	0,18	0,01	0,24	0,01	pastoralizmus	Afroázijská
54	Amhara	AMR	Etiópia	0,00	0,04	0,00	0,02	0,05	farmástvo	Nilo-saharská
19	Amharic	AMH	Etiópia	0,00	0,13	0,00	0,05	0,00	farmástvo	Afroázijská
69	Anuak	ANU	Etiopia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
31	Arabský Baggara	AB1	Kamerun	0,00	0,03	0,08	0,00	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
53	Arabský Baggara 1	ABG	Čad	0,00	0,20	0,02	0,00	0,19	pastoralizmus	Afroázijská
50	Arabský Baggara 2	ABA	Sudán	0,00	0,26	0,04	0,00	0,03	pastoralizmus	Afroázijská
37	Bani Amir	BA1	Sudán	0,00	0,34	0,00	0,15	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
47	Beja	BEJ	Sudán	0,00	0,17	0,00	0,05	0,43	pastoralizmus	Afroázijská
81	Beni Amer	BA2	Sudán	0,00	0,25	0,01	0,01	0,10	pastoralizmus	Afroázijská
77	Beni Amer	BA3	Sudán	0,00	0,24	0,01	0,13	0,12	pastoralizmus	Afroázijská
18	Beta Israeli	BTI	Etiópia	0,00	0,03	0,00	0,08	0,00	agro-pastoralizmus	Afroázijská
24	Boni	BON	Keňa	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Afroázijská
17	Borana	BOR	Keňa	0,09	0,09	0,00	0,12	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
22	Boulala	BOU	Čad	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	farmástvo	Nilo-saharská
50	Daju	DAJ	Sudán	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Nilo-saharská
49	Dangaleat	DNG	Čad	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Afroázijská
34	Egypt'ania	EGY	Egypt	0,00	0,02	0,00	0,00	0,06	farmástvo	Afroázijská
16	Elmolo	ELM	Keňa	0,22	0,03	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Afroázijská
24	Fulbovia	FU2	Kamerun	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00	pastoralizmus	Nigero-konžská
40	Galien	GAL	Sudán	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Afroázijská
41	Gabra/Gabramigos	GAB	Keňa	0,05	0,20	0,00	0,09	0,00	pastoralizmus	Afroázijská

19	Garreh	GAR	Keňa	0,00	0,16	0,00	0,08	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
86	Jaali	JAA	Sudán	0,00	0,13	0,01	0,01	0,01	farmástvo	Afroázijská
27	Kababish	KAB	Sudán	0,00	0,33	0,00	0,02	0,11	pastoralizmus	Afroázijská
23	Laka	LAK	Čad	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Nilo-saharská
22	Luo	LUO	Keňa	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	rybárstvo	Nilo-saharská
66	Maale	MAA	Etiópia	0,00	0,04	0,00	0,02	0,05	pastoralizmus	Afroázijská
21	Mandara	MAN	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Afroázijská
40	Manjo	MAJ	Etiópia	0,00	0,00	0,01	0,01	0,03	farmástvo	Afroázijská
24	Ngambay	NGA	Čad	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Nilo-saharská
37	Nuer	NU2	Etiópia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
24	Orma	ORM	Keňa	0,23	0,13	0,00	0,02	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
75	Oromo	ORO	Etiópia	0,01	0,07	0,00	0,05	0,03	pastoralizmus	Afroázijská
19	Ouldoume	OUL	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Afroázijská
18	Pare Kenya	PAR	Keňa	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	agro-pastoralizmus	Nigero-konžská
109	Fenotyp. Somálčania	SO1	Etiópia	0,01	0,05	0,02	0,06	0,01	pastoralizmus	Afroázijská
18	Pygmy	PYG	Kamerun	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Nigero-konžská
51	Rašajdskí Arabi	RAS	Sudán	0,00	0,77	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Afroázijská
16	Sengwer	SEN	Keňa	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Nilo-saharská
24	Shabo	SHB	Etiópia	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	farmástvo	Nilo-saharská
37	Somálčania	SO3	Etiópia	0,03	0,04	0,00	0,10	0,01	pastoralizmus	Afroázijská
98	Somálčania	SML	Somaliland	0,01	0,05	0,00	0,06	0,01	pastoralizmus	Afroázijská
46	Sudánci	ARS	Sudán	0,00	0,09	0,00	0,01	0,13	farmástvo	Afroázijská
50	Suri	SUR	Etiópia	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
44	Tigray	TIG	Etiópia	0,00	0,11	0,00	0,19	0,03	farmástvo	Afroázijská
15	Tugen	TUG	Keňa	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská
22	Wata	WAT	Keňa	0,16	0,16	0,00	0,02	0,00	lovečstvo-zberačstvo	Afroázijská
26	Wolayta	WOL	Etiópia	0,02	0,12	0,00	0,08	0,04	farmástvo	Afroázijská
48	Zaghawa	ZGW	Sudán	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	pastoralizmus	Nilo-saharská

Lactase persistence mutations genotyping protocol

Lactase persistence mutations G/C -14010, T/G -13915, C/T -13910 and C/G -13907 were genotyped by direct sequencing. A 359bp fragment containing all mentioned mutations and located in the intron 13 of the *MCM6* gene was amplified using primers 5'-GCAGGGCTCAAAGAACAATC-3' (forward) and 5'-TGTTGCATGTTTTTAATCTTTGG-3' (reverse). PCR reactions contained 0,5µM of each primer, 0,2mM of each deoxynucleotide triphosphate (dNTP), 750 mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C), 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1% (v/v) Tween 20, 1,5mM MgCl₂ and 1 U Taq polymerase. The PCR profile consisted of: 94oC for 5 min, 35 cycles of 94oC for 1 min, 58oC for 1 min and 72oC for 1min, followed by a 20-min extension at 72oC.

Sequencing reactions were carried out using the ABI Big Dye v3.1 Ready Reaction Kit and using the protocol specified by the manufacturer (Applied Biosystems, Inc. Foster City, CA). Products were run on an ABI PRISM 3130xl sequencer and analyzed in the ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer software (Applied Biosystems, Inc. Foster City, CA). The resulting chromatograms were inspected for the presence/absence of the lactase mutations using MEGA4.0 software [1].

References:

1. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S: **MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0.** *Mol Biol Evol* 2007, **24**:1596-1599.