

**Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze**

Katedra antropologie



Bakalářská práce

## **Laktázová persistence – evoluční hlediska**

Edita Priehodová

Školitel: RNDr. Viktor Černý, Ph.D.

Praha 2009

*Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Viktoru Černému, Ph.D. za vedení bakalářské práce, cenné rady a připomínky, dále své rodině za trpělivost a podporu.*

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, na základě uvedené literatury.

Praha 2009

## Abstrakt

Laktázová persistence (LP) je geneticky podmíněná schopnost štěpit mléčný cukr (laktózu) v dospělosti, vyskytuje se výhradně u člověka.

Enzym laktáza, který štěpí laktózu, je u savců produkován v období kojení a poté se jeho hladina výrazně snižuje. Větší konzumace čerstvého mléka v tomto stavu zvaném hypolaktázie, může způsobovat trávicí obtíže. Avšak u některých populací přetrvává vysoká hladina laktázy i v dospělém věku. Jedná se hlavně o pastervecké populace severní Afriky, Předního východu a obyvatelé severní a částečně i střední Evropy.

Na úrovni DNA za LP zodpovídají mutace typu SNP (single nucleotide polymorphism, tj. jedno nukleotidový polymorfismus) 13,9 kb upstream od laktázového genu, v genu MCM6. V nedávné době bylo objeveno ještě několik dalších SNP spojených s produkcí laktázy v dospělosti a ukazuje se, že laktázová persistence vznikla opakovaně u různých skupin lidí a následně se její četnost zvýšila díky působení pozitivní selekce.

Na otázku proč bylo pití čerstvého mléka tak výhodné, že se LP fixovala v některých populacích ve větší míře, existuje hned několik názorů. Nejrozšířenější teorie předpokládá, že laktázová persistence se vyvinula jen u národů, v jejichž historii jsou etapy, kdy se živilí pastervectvím, jednalo o tzv. genově-kulturní koevoluci. Dále mohlo mít vliv prostředí a podnebí nebo výskyt některých nemocí jako je malárie a cystická fibrosa. V severní Evropě zřejmě LP kompenzuje negativní vlivy nízké intenzity slunečního záření. V neposlední řadě rozšíření LP ovlivnily migrace a genetický drift.

Studiem tohoto specifického znaku můžeme získat další poznatky o průběhu a příčinách pozitivní selekce v lidské populaci.

## Klíčová slova

laktóza, laktáza, neolitická revoluce, SNP (jedno nukleotidový polymorfismus), pozitivní selekce

## Abstract

Lactase persistence (LP) is genetically determined trait, and it is an ability to digest lactose during adulthood. It occurs exclusively in humans.

Lactase enzyme which is essential for digestive hydrolysis of lactose in milk is in mammal population produced during the breast feeding period and then its level rapidly decreases. Hypolactasia causes that higher fresh milk consumption then leads into lactose maldigestion and its intolerance. However some population groups have high levels of lactase enzyme during adulthood. These are mainly pastoral populations located in North Africa, Middle East and habitants of North and Central Europe.

SNP (single nucleotide polymorphism) 13,9 kb upstream far from lactose gene in MCM6 gene, is responsible for creating LP at DNA level. Other several SNPs related to LP have recently been discovered. It seems that LP appeared several times independently in different groups of population and subsequently its frequency increased due to positive selection.

There are several opinions which answer the question why fresh milk consumption was an advantage of LP occurrence in some human populations. The most widespread theory assumes that LP was reflects past pastoral history related with a higher consumption of fresh milk. It was so called gene culture co-evolution. In addition other environmental issues such as malaria and cystic fibrosis have been debated. Apparently LP in North Europe might also compensate negative impacts of low intensity of solar radiation. Finally, migration and genetic drift have also influenced LP distribution.

Study of this specific human feature can bring further findings about the process and cause of positive selection in human populations.

## Keywords

lactose, lactase, Neolithic revolution, SNP (single nucleotide polymorphism), positive selection

## Seznam zkratek

CaBP	calcium binding protein
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
kb	kilo báze
kDa	kilo Dalton
LP	laktázová persistence
LTTE	lactose tolerance test with ethanol
LPH	laktáza phlorizin hydroláza
MCM6	minichromosome maintenance deficient 6 gene
mRNA	messenger ribonucleic acid
Oct-1	octamer transcription factor 1
SNP	single nucleotide polymorphism
TMRCA	time to the most recent common ancestor

## Obsah

1. Úvod	6
2. Neolitická revoluce a laktázová persistence	7
2.1 Počátky zemědělství	7
2.2 Domestikace mléko produkujících zvířat	9
2.3 Počátky mléčné produkce a LP	11
3. Laktóza a laktáza	13
3.1 Laktóza a laktáza	13
3.2 Trávení laktózy	14
3.2.1 Vliv bakterií na trávení laktózy	14
3.2.2 Diagnostika LP	15
4. Výskyt laktázové persistence v dnešním světě	16
5. Genetika LP	18
5.1 Příčiny exprese LPH u dospělých jedinců	18
5.2 Haplotypová diverzita	19
5.2.1 Haplotypové rozdělení	19
5.2.2 Původ jednotlivých mutací a souvislost s haplotypy	20
6. Evoluční hlediska	21
6.1 Evoluční mechanismy	21
6.2 Vliv prostředí	22
6.3 Vitamín D a LP	22
6.4 Pástevectví a LP	23
6.5 LP a malárie	25
6.6 Laktázová persistence a cystická fibrosa	25
7. Závěr	27
Použitá literatura	28

# 1. Úvod

Většina savců dokáže trávit mléčný cukr - laktózu jen v období kojení. Umožňuje to enzym laktáza. Vylučování laktázy v tenkém střevě následně klesá až na hodnotu 5 – 10% hladiny, jež byla při narození. Bez tohoto enzymu nejsou schopny střevní buňky laktózu absorbovat. Platí to i pro člověka, většině dospělých lidí působí zažívací obtíže požití víc než 200 ml čerstvého mléka denně. Avšak příslušníkům některých pasteveckých národů severní Afriky a Předního východu, nebo většině obyvatel severní a střední Evropy nečiní pití většího množství čerstvého mléka žádné problémy, je u nich rozšířena podivuhodná schopnost trávit mléčný cukr i v dospělosti – laktázová persistence (LP).

První část této práce, shrnující základní poznatky o LP, se zabývá neolitickou revolucí a počátky mléčné produkce na Předním východě a v Evropě.

Protože LP je geneticky podmíněný znak, připisovaný SNP C/T 13910 v sousedství laktázového genu, v kapitole věnované genetice jsou popsány dosud objasněné mechanismy působení této mutace. Dále jsou uvedeny poznatky relativně nedávných studií, které prokázaly, že u některých populací severní Afriky a Předního východu jsou za LP zodpovědné jiné mutace, než výše uvedená a ukazuje se, že tato schopnost vznikla opakovaně u různých populací.

Závěrečná kapitola je věnovaná teoriím objasňujícím, proč je LP u některých populací tak rozšířená a proč u nich probíhala silná pozitivní selekce tohoto znaku. Vystává totiž zajímavý fakt, podoba dnešního rozšíření LP nemusela být dána jen čistě genově kulturní koevolucí, ale mohlo mít vliv více faktorů, zřejmě i lokálního charakteru.

## 2. Neolitická revoluce a laktázová persistence

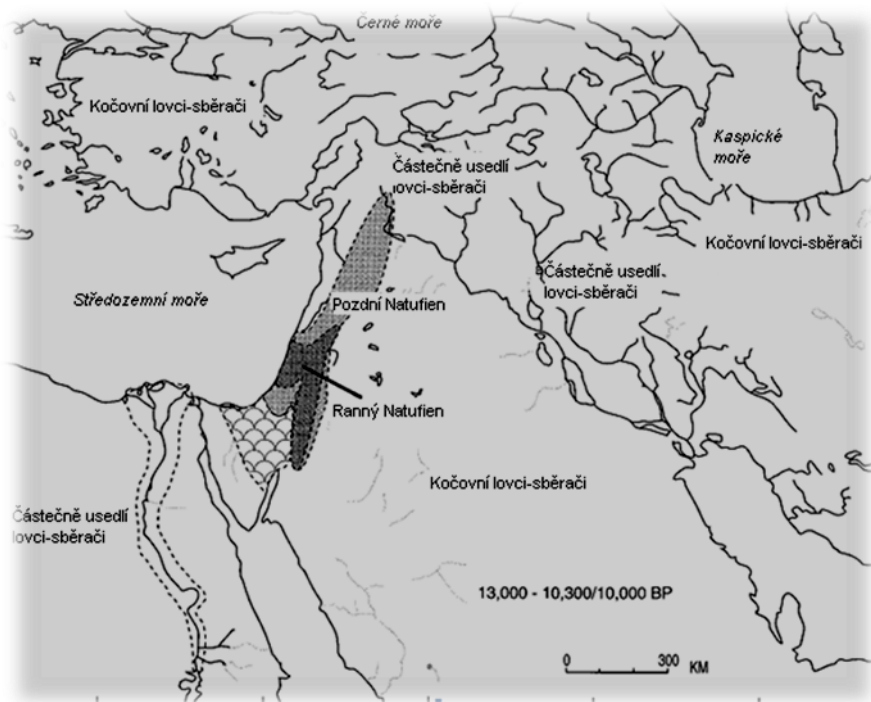
Neolitická revoluce označuje vznik zemědělství neboli schopnost produkce vlastních potravin. V období po posledním glaciálu (asi před 14 500 lety) začali někteří kočovní lovci sběrači Blízkého východu postupně přecházet k usedlému způsobu života. Významnější rozvoj zemědělské výroby před 10 000 lety, opět v oblasti Blízkého východu, označujeme jako počátek neolitické revoluce (Childe, 1966; Diamond, 2000).

Domestikace zvířat a plodin radikálně změnila životní styl lidí, hlavně složení jejich jídelníčku. Výsledkem jsou některé fyziologické změny lidského těla a mezi ně neodmyslitelně patří schopnost produkovat laktázu v dospělém věku. Následující kapitola je porovnáním dat o vzniku a šíření zemědělské produkce a historii laktázové persistence.

### 2.1 Počátky zemědělství

Na kultuře natufien můžeme sledovat jak se z kočovných lovců sběračů postupně stával usedlý „sklizňový“ národ a nakonec skuteční zemědělci. Natufiané byli zřejmě jedni z prvních zemědělců. Obývali oblast Předního východu historicky označovanou jako centrální Levanta (viz mapa č.1). V období před 13 000 – 12 000 lety tvořilo hlavní složku potravy „Natufianů“ maso divoké zvěře, ale konzumovali také divoké obilí, které sklízeli srpy a drtili v těžkých zrnotěrkách. Nejdůležitější v této souvislosti je, že žili zcela usedle (Beneš, 1994; Bar-Yosef, 1998).





Mapa č. 1

Mapa Předního východu ukazující rozšíření rané kultury natufienu a následnou expanzi pozdní kultury natufienu  
(Převzato a upraveno z Bar-Yosef, 1998)

Zemědělství jako takové (tj. ovládnání technologií pro produkci vlastních potravin) se na Předním východě začalo rychle rozvíjet v období před 10 000 lety (Flannery, 1973).

Co se týče Evropy, první neolitické společnosti se objevily v jihovýchodní Evropě před 9 000 – 7 500 lety. Zemědělství se dále šířilo do Středomoří, kde se odhadují jeho počátky na dobu před 8 000 lety. Do střední Evropy dorazilo před 7 500 lety a do severozápadní Evropy před 6 000 lety (Whittle, 1996).

V Africe vznikaly první usedlé společnosti od doby před 9 000 let a rozvoj zemědělství začal asi před 6 000 lety v údolí Nilu (Herlin, 2003).

Proč se zemědělství začalo rozvíjet v relativně krátkém časovém rozpětí na různých místech světa? Odpovědi na tuto otázku jsou nejednoznačné, zde jen ve stručnosti přehled nejznámějších názorů.

V první polovině dvacátého století byla vyslovena tzv. „Oázová domněnka“ (jejímž stoupencem byl archeolog Gordon V. Childe). Tato teorie předpokládala vznik zemědělství v oblasti Blízkého východu, po údajném oteplení na konci pleistocénu. Teplejší klima zapříčinilo zvýšení hustoty lidí a zvířat například v říčních údolích. Mohl to být impulz pro vznik nové strategie obživy, založené na domestikaci zvířat a rostlin (Flannery, 1973; Beneš, 1994; Bar-Yosef, 1998).

S další teorií přišel anglický archeolog Robert J. Flannery. Tvrdil, že zemědělství vzniklo na zelených úbočích mezopotamských pahorkatin (arch. nálezy z dnešního Turecka a severního Iráku), kde se vyskytovaly původní druhy obilnin a zeleniny. Díky kulturnímu vývoji vedoucímu k usedlému stylu života mohl vzniknout i tento nový způsob obživy (Flannery, 1973; Beneš, 1994; Bar-Yosef, 1998).

Následoval názor autora Lewis R. Binforda z roku 1966, jedná se o myšlenku rovnováhy mezi velikostí populace a množstvím dostupné potravy. Více lidí potřebuje více jídla a řešením tohoto problému bylo zdomácňování, které skýtá vyšší výtěžek potravy, ovšem za cenu většího pracovního vypětí. Kent V. Flannery vytvořil nadstavbu této teorie – tzv. domněnku „marginální zóny“ tj. populační tlak nevznikl v jádru zabydleného biotopu, jak tvrdil Binford, ale na jeho okrajích, kde byl mnohem menší přirozený výskyt např. divokých obilovin (Flannery, 1973; Beneš, 1994; Bar-Yosef, 1998).

Podle teorie Barbory Benderové z roku 1990 mohl mít vliv i sociální faktor, tedy lidé se naučili hromadit a skladovat potraviny a ty pak směňovali za jiné suroviny (Beneš, 1994).

Autorem jednoho z nejnovějších názorů je J. Diamond. Podle něj zemědělství vzniká tam, kde jsou snadno domestikovatelné zdroje a dále se pak šíří horizontálně (Diamond, 2000).

Neopomeňme zmínit termín „Revoluce druhotných produktů“, v období eneolitu, jehož autorem je A.G. Sherratt (1979) (Evershed & Sherratt *et al.*, 2008). Nastává po rozvoji zemědělství a jedná se o využívání mléka a vlny, souvisí s hlubokými sociálními změnami (viz. např. již Neustupný, 1967). S rozvojem technologií využívajících další produkty zemědělství jsou samozřejmě spojeny i počátky mléčné produkce.

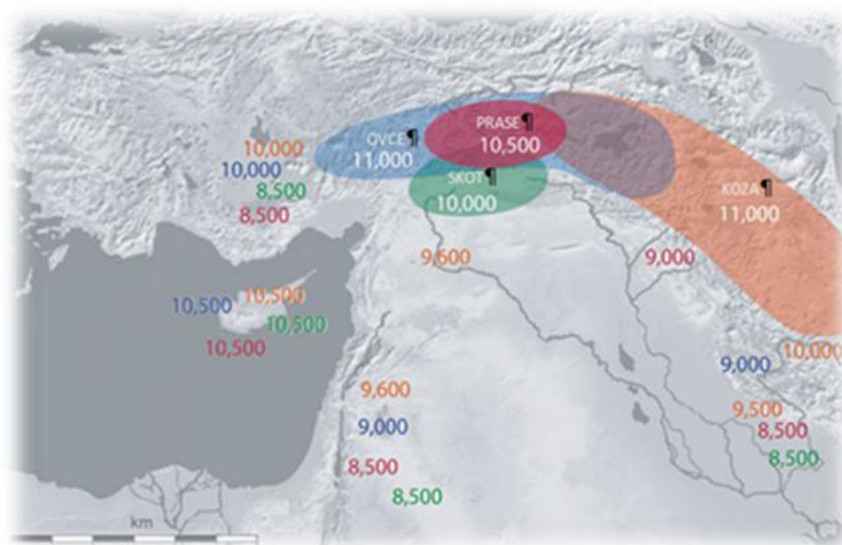
## 2.2 Domestikace mléko produkujících zvířat

První domestikovaná zvířata využívající se později k mléčné produkci byly ovce a kozy. Divokým předkem kozy domácí je koza bezoárová (*Capra aegagrus*), která se vyskytovala v oblastech, kde nalézáme první počátky zemědělství (tzv. oblast úrodného půlměsíce, pohoří Zagros v dnešním Iránu a Iráku a oblast jižní Levanty – viz mapa č. 2). Asi před 11 000 lety se z lovců, kteří pouze drželi po určitou dobu ulovená zvířata, stali skuteční chovatelé. Díky nenáročnosti chovu tohoto malého stádního zvířete se koza stala prvním domestikovaným hospodářským zvířetem (Brentjes, 1979; Zeder 2008).

Mezi předky ovce patří zřejmě někteří asijský mufloni (*Ovis ammon*, *Ovis orientalis*). Nejstarší nálezy pocházejí z horských oblastí severního Iráku. Počátky domestikace ovčí se odhadují na období před 11 000 – 10 500 lety (Brentjes, 1979; Zeder, 2008).

Předkem dnešního tura byl pratur (*Bos primigenius*), který byl prvně domestikován nejspíše v oblasti údolí horního Eufratu. Došlo k tomu asi před 11 000 – 10 000 lety. Z dalších forem divoce žijícího tura byl domestikován indický buvol (*B.indicus*) před 6 000 lety a také jak (*B. mutus*) asi před 4 000 lety. Domestikace se vyhnula evropskému zubrovi (*Bison bonasus*) a také africkým buvolům (*Syncerus caffer*) (Brentjes, 1979; Beja-Pereira, 2006; Zeder, 2008).

Z oblasti blízkého východu se chov zvířat rozšířil všemi směry (viz mapa č.2).



Mapa č. 2

Původ a další rozšíření domestikovaných zvířat  
(Převzato a upraveno z Zeder, 2008)

Pro některé pouštní kočovné kmeny je velbloudí mléko hlavním zdrojem potravy, jedná se převážně o dromedára (*Camelus dromedarius*). Divokou formu dromedára neznáme, jeho původní vlastí je ale jistě Arabský poloostrov. Domestikace začala zřejmě dříve než před 5 000 lety, protože okolo 5 000 let jsou staré kosterní nálezy ve starém Egyptě, kde se dromedár původně nevyskytoval. V okolí zemědělských oblastí v dnešní Palestině a Sýrii asi před 3 000 lety vystřídal kočovnictví s dromedáry původní polokočovný způsob chovu ovcí a koz (Brentjes, 1973; Saber, 1998).

### 2.3 Počátky mléčné produkce a LP

Kdy lidé začali využívat dobytek nejen jako zdroj masa, se pokoušeli archeologové zjistit chemickou analýzou reziduí organických látek na keramice z období neolitu (nálezy ze severozápadní Anatólie). Podle této studie počátky mléčné produkce spadají již do doby před 9 000 lety, brzy po rozvoji chovu zvířat a užívání keramiky (Evershed & Sherratt *et al.*, 2008).

V Evropě využívání mléka a mléčných produktů začalo nejspíš dříve než před 6 000 – 5 000 lety v oblastech mírného klimatického pásu a severní Evropě. Ve střední Evropě to bylo možná ještě dřív - již s počátky neolitu, tj. před 7 900 – 7 700 lety (Vigne & Helmer, 2007). V Británii asi před 7 000 lety (Copley *et al.*, 2003). Avšak autoři v otázkách počátků mléčné produkce v Evropě nejsou jednotného názoru.

Také byly zkoumány kosterní pozůstatky dobytka na vybraných evropských neolitických sídlištích (analýza izotopů dusíku ze zubů). Vyšlo najevo, že při stádním odchovu byla telata brzy odstavena. To mohlo mít dva důvody, buď byla doba laktace těchto prvních domestikovaných krav kratší, nebo už mléko využíval člověk (Balasse & Tresset, 2002).

I porovnáním kosterních nálezů dobytka z neolitu a eneolitu se ukázalo, že zatímco v neolitu se objevuje množství kosterních pozůstatků telat, v eneolitu náhle stoupá počet koster dospělých kusů dobytka (Peške, 1994). Souvislost s mléčnou produkcí je následující - u primitivních plemen skotu je nutná přítomnost telete pro spuštění vydojovacího reflexu a udržení laktace. Tato teorie vychází z etnografických poznatků o dojení domácích primitivních plemen skotu, chovaných pastevci súdánské Afriky (Černý, 2002).

A jak to vypadalo s alelou pro laktázovou persistenci? Většina studií se týká „evropské“ alely C/T 13910. Existuje domněnka, že k jejímu rozšíření došlo v období před již 20 650 – 2 188 lety (Bersaglieri *et al.*, 2004). Další studie intraalelické diversity předpokládá, že TMRCA (tedy období, kdy žil nejstarší společný předek) není delší než 45 000 let a nejspíše se jedná o dobu před 12 500 až 7 500 lety (Coelho *et al.*, 2005).

Dále byla analyzována DNA z devíti vzorků neolitických a mezolitických koster, plus jedna z období raného středověku. Nejstarší byly téměř 8 000 staré (většinou se stáří pohybovalo okolo 7 500 – 7 000 let). Pozůstatky pocházely z různých evropských nalezišť (severozápadní a severovýchodní Evropa a Maďarsko). Ukázalo se, že ani jeden z těchto lidí nebyl nositelem mutace C/T 13910, s výjimkou středověkého vzorku, který byl heterozygot. Tedy možná to znamená, že v počátcích evropského neolitu, ještě první zemědělci nebyli adaptováni na pití čerstvého mléka (Burger *et al.*, 2007).

Podle dnešní oblasti výskytu (co se týče Evropy), se zdá, že LP se následně nejvíce rozšířila v severozápadní Evropě a dále se šířila na východ díky migracím (Kozlov & Lisitsyn, 2000).

U afrických populací je také významnější rozšíření další alely pro LP (G/C 14010) relativně nedávného data – okolo 6 000 až 7 000 let u keňských a tanzanijských populací (Tishkoff *et al.*, 2006).

Odhad stáří další mutace zodpovědné za LP - T/G 13915 je 4095 let ( $\pm$  2045 let), původem je Arabský poloostrov a zřejmě souvisí s domestikací velbloudů (Ettanah *et al.*, 2008).

Dáme-li do souvislosti všechna tato fakta, je více než pravděpodobné, že platí teorie o genově-kulturní evoluci, která spojuje rozšíření alely pro LP a počátky mléčné produkce. Navrhovaný sled událostí: přechod lidí na zemědělský způsob života byl zřejmě odpověď na změnu vnějších podmínek, klimatu nebo sociální situace, později vzniklo i pastevectví a nezávisle na něm i mléčná produkce. Možnost konzumace mléka ve větším množství byla výhodnou, a tato výhoda podnítila pozitivní selekci ve prospěch fixace alely pro LP.

### 3. Laktóza a laktáza

#### 3.1 Laktóza a laktáza

Mléčný cukr, laktóza, je disacharid složený z  $\alpha$ -D-glukosy a D-galaktosy, spojených  $\beta(1,4)$ vazbou. Je méně sladká než sacharóza. Množství v savčím mléce je různé, v lidském je 6 %, v kravském 4,8 %. V mléčných výrobcích je její množství většinou velmi malé, v jogurtu, kefiru a jiných podobných výrobcích je zkonsumována bakteriemi, u tradičních tvrdých sýrů je situace obdobná díky použití fermentace. Při výrobě másla je separován tuk od vody, výskyt laktózy, jakožto látky rozpustné ve vodě, je tedy také nepatrný (Hauri *et al.*, 1985; Naim & Lentzell, 1992; Jacob *et al.*, 1992).

<b>Potravina</b>	<b>Obsah laktózy (g/100g)</b>
Kravské mléko	4,7
Jogurt (nízkotučný)	4,0-4,6
Smetana	3,0
Tvaroh	1,4
Zmrzlina (14% smetany)	3,6
Mléčná čokoláda	8,1

Tabulka č. 1

Obsah laktózy v některých potravinách  
(převzato a upraveno ze Savaiano & Levitt, 1987)

Laktáza phlorizin hydroláza (LPH) je enzym velký 130 – 160 kDa v závislosti na druhu savce. Je syntetizována jako jednořetězcový polypeptidový prekurzor (pro-LPH) v endoplasmatickém retikulu, dále je nitrobuněčně upravován do finální podoby, kterou vylučuje řasinková membrána tenkého střeva. Zde štěpí laktózu na monosacharidy – glukosu a galaktosu (Hauri *et al.*, 1985; Naim & Lentzell, 1992; Jacob *et al.*, 1992).

## 3.2 Trávení laktózy

LPH je vylučována enterocyty a absorpčními buňkami tenkého střeva, hydrolyzuje laktózu na monosacharidy. Glukóza a galaktóza jsou následně absorbovány transportním proteinem SGLT 1 (Murray *et al.*, 2003).

Za normálních okolností je LPH vylučována ve vyšší míře jen v kojeneckém věku, mezi druhým a třetím rokem její aktivita začne klesat na 5-10% hladinu, než jakou měla při narození. (Berg *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2003)

V tomto stavu, tzv. primární hypolaktázie<sup>1</sup>, větší konzumace čerstvého mléka může způsobovat zažívací obtíže. Laktózu začnou využívat střevní bakterie, které při jejím metabolismu vylučují metan a vodík, což způsobuje nadýmání. Kyselina mléčná, také produkovaná mikroorganismy, naruší osmotickou rovnováhu střeva a to vede k průjmům (Berg *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2003).

### 3.2.1 Vliv bakterií na trávení laktózy

Schopnost trávit mléčný cukr v dospělosti je dána geneticky a mělo by tedy platit, že se nedá nějak „vycvičit“. Avšak několik studií ukázalo, že u některých osob, bez tohoto znaku, nebyly symptomy po požití laktózy tak těžké, konzumovali-li jí nějakou dobu pravidelně (Flourie, 1993; Hertzler & Savaiano, 1995). Také například v Somálsku je mnoho lidí bez LP, kteří konzumují čerstvé mléku bez viditelných obtíží (Ingram *et al.*, 2009). Zřejmě zde probíhá určitá adaptace střevní mikroflóry, která zvyšuje schopnost trávit laktózu střevními mikroorganismy (Flourie, 1993).

Na druhé straně existují i studie, které toto nepotvrdily (Briet *et al.*, 1997). Co je však jisté, je pozitivní vliv probiotických bakterií na trávení laktózy. Bakterie obsažené například v jogurtu, mají  $\beta$ -galaktosidázovou aktivitu (tj. štěpí laktózu), některé (např. *Lactobacillus acidophilus*) jsou odolné vůči žlučovým kyselinám a přežijí transport do tenkého střeva, kde napomáhají trávení laktózy. Dokonce bylo zjištěno, že i bakterie, které nejsou živé, ale obsahují  $\beta$ -galaktosidázu mají tento účinek (De Vrese *et al.*, 2001). I když po jednorázové konzumaci není tento efekt dlouhodobý (Lerebours *et al.*, 1989), všechna výše uvedená fakta

---

<sup>1</sup> Existuje i stav nazývaný sekundární hypolaktázie, ten je způsoben poškozením enterocytů např. střevními parazity.

podporují teorii o tom, že vznik mléčného hospodářství a pití mléka předcházelo významnějšímu rozšíření alely pro LP. (Ingram *et al.*, 2009).

### 3.2.2 Diagnostika LP

Vodík, vylučovaný bakteriemi, se využívá jako indikátor osob pozitivních pro laktázovou persistenci, jedná se o tzv. vodíkový dechový test, probandi požijí určité množství laktózy (obvykle 50g) a po určené době se měří množství vodíku v jejich dechu. Dalšími metodami jsou měření hladiny cukrů v krvi po konzumaci laktózy nebo intestinální biopsie (Flatz *et al.*, 1984).

Co se týče průkaznosti jednotlivých testů, testování vzorku intestinální biopsie jednoznačně prokáže, zda je či není osoba LP pozitivní, používá se také jako reference k ostatním, méně přesným, metodám. Avšak tento test není vhodný pro běžnou klinickou praxi a musíme brát v potaz, že určité (i když relativně malé) části vyšetřovaných probandů může způsobit následné zdravotní komplikace (Arola, 1994).

Vodíkový dechový test je v současnosti standardně používán pro zjišťování osob, které metabolizují resp. nemetabolizují mléčný cukr. Výhodou je, že je neinvazivní. Vylučování vodíku však mohou zvýšit i jiné faktory, např. onemocnění zažívacího traktu, hladovění, tělesná aktivita, spánek, užití antibiotik, kouření ad. Ve střevní mikroflóře některých lidí je zvýšené množství bakterií, které naopak vodík konzumují, za následného vylučování metanu (Arola, 1994). Zpřesněním tohoto testu může být například zkombinování s metodou detekcí uhlíku  $^{13}\text{C}$  v dechu po podání značené  $^{13}\text{C}$ -laktózy. Avšak nevýhodou je relativně nákladné technické vybavení pro vyhodnocování tohoto testu (Arola, 1994; Kočna, 2006).

Test měření hladiny glukózy v krvi po požití laktózy je také běžně užívanou metodou a jeho varianta LTTE (lactose tolerance test with ethanol) přináší přesnější výsledky než vodíkový test (Arola, 1994).



## 4. Výskyt laktázové persistence v dnešním světě

Většina lidí, z globálního pohledu, nedokáže trávit mléčný cukr v dospělosti, stav, tzv. primární hypolaktázie, se vyskytuje asi u 65 % lidí (Inghram *et al.*, 2009).

Nejvyšší procento lidí, kteří dokážou zpracovat mléčný cukr i v dospělosti (tj. > 70 % populace) nacházíme u pasteveckých národů, reprezentovaných pastevci afrického sahelu, například Tuaregů nebo Fulbů, také u východoafrických Tutsijů, žijících se chovem dobytka, dále pastevci středního východu a beduínské kmeny, chovající velbloudy. Často u pastevců nacházíme vysoké zastoupení LP pozitivních osob na rozdíl od jejich nepasteveckých sousedů z téže oblasti (Holden & Mace, 2002; Swallow, 2003).

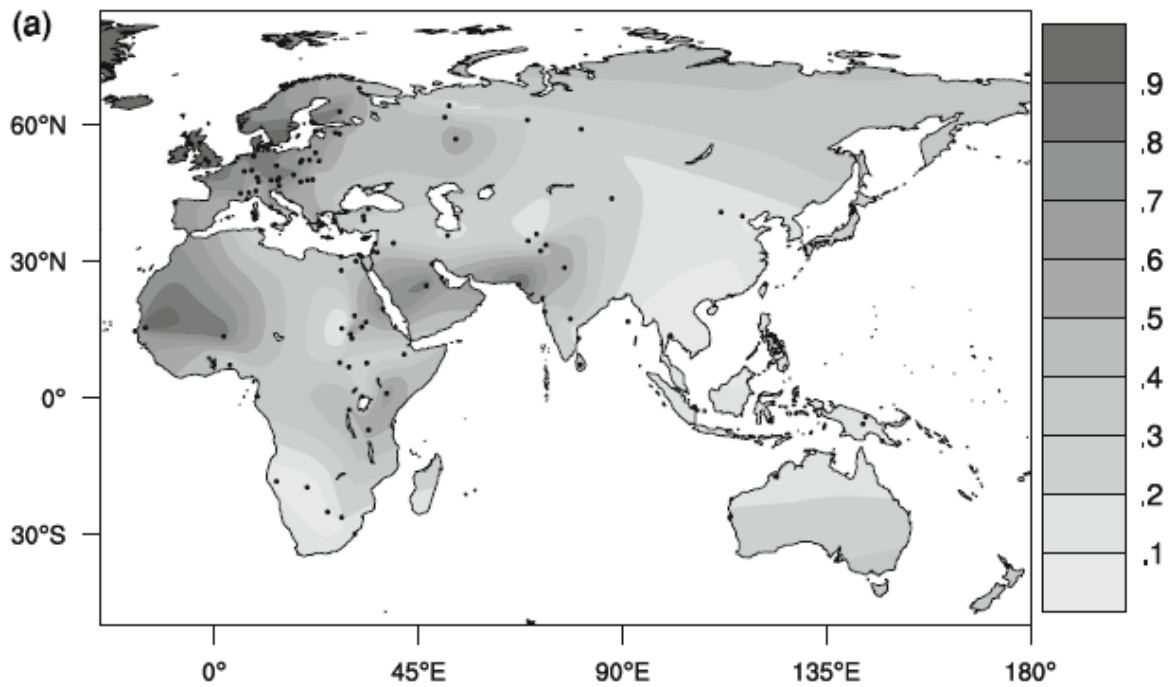
Střední hodnoty LP osob (30-70 %) jsou v Africe zastoupeny dalšími pasteveckými a zemědělsko-pasteveckými národy – nomády Baggara a nubijskými pastevci ze severní Afriky, dále jihoafrickými kmeny Sotho a Nama. V Asii jsou to Indové, Pákistánci, Afgánci a některé populace jižní Asie (Holden & Mace, 2002; Swallow, 2003).

V ostatních částech světa je podíl LP pozitivních jedinců menší než 30 %, je tomu tak mezi mnoha africkými populacemi, národy jižní a jihovýchodní Asie a Pacifiku, australskými Aborigines a náleží sem i původní obyvatelé Ameriky. A překvapivě do této skupiny patří i tradiční pastevecký národ Mongolů, nebo afričtí pastevci Herero, Nuer a Dinka. Vysvětlením je, že využívají hlavně mléko fermentované, v podobě jogurtů sýrů apod., nebo pastevecký způsob obživy provozují příliš krátce na to, aby se alela pro LP stihla fixovat ve větší míře (Holden & Mace, 2002; Swallow, 2003).

Záměrně jsem nezmínila Evropu, kde můžeme pozorovat zajímavý trend, nejvyšší zastoupení LP osob (> 70 %) nacházíme v severozápadní Evropě, v první řadě jsou to Dánové, Švédové a Irové, dále sem patří některé národy střední Evropy například Češi. Směrem na jih a východ Evropy výskyt LP osob klesá (30-70 %) (Holden & Mace, 2002; Swallow, 2003). Například lokální studie italské populace také ukazuje, že na severu Itálie je vyšší frekvence alely pro LP a směrem k jihu klesá (0,237 ku 0,08 – sever vs. jih) (Anagnostou *et al.*, 2009).

Podobně je to mu i na Indickém poloostrově, na severovýchodě je frekvence LP osob nejvyšší z této oblasti a klesá směrem k jihovýchodu (viz mapa č. 3) (Inghram *et al.*, 2009).

Avšak jednoznačná příčina těchto analogií zatím zůstává nezodpovězenou otázkou. Je možné, že na dnešní podobě rozmístění tohoto znaku se podíleli kromě pastevevství i další kulturní zvyky a zřejmě i působil vliv podnebí a evolučních mechanismů jako je pozitivní selekce a genetický drift. Podrobnější popis bude následovat.



Mapa č. 3

Interpolovaná mapa ukazující rozšíření LP ve starém světě.  
(Ingram *et al.*, 2009)

## 5. Genetika LP

### 5.1 Příčiny exprese LPH u dospělých jedinců

Laktázová persistence je geneticky podmíněný znak, lišící se v intenzitě rozšíření u různých populací, dědí jako dominantní znak. Gen pro LPH se nachází na druhém chromozomu – 2q21.

Porovnáním množství mRNA transkriptů jedinců s různou mírou produkce laktázy, se ukázalo, že je LPH gen ovlivňován cis regulačním faktorem (tedy ležícím na stejném vlákně) (Wang, 1995).

Při výzkumu LP u vzorku finské populace byla analýzou 47 kb dlouhého úseku vedle LCT genu, objevena mutace v tomto sousedním genu MCM6, která je zodpovědná za produkci laktázy v dospělosti (Enattah *et al.*, 2002). Jedná se o SNP 13,9 kb upstream (proti proudu transkripce) od laktázového genu, záměnu tyminu za cytosin – C/T 13910. (Enattah *et al.*, 2002).

SNP 13910T zřejmě váže silněji transkripční faktor Oct-1, který má enhancerovou aktivitu, tedy po skončení období kojení nedochází u jedinců s tímto znakem k poklesu exprese laktázy (Lewinsky *et al.*, 2005). Mechanismus stojící za „podstavným“ poklesem hladiny LPH zatím nebyl identifikován, ale je známo, že výsledkem je snížení navazování aktivátorů transkripce a zvýšení navazování represorů transkripce na LPH promotor (Lewinsky *et al.*, 2005). Podle studie na potkanech bylo zjištěno, že na expresi laktázy u kojených mláďat mají vliv některé hormony – tyroxin, inzulin a kortizon (Chaudhry *et al.*, 2008).

Mutace C/T 13910 je zodpovědná za LP u hlavně Evropanů, u některých afrických populací se schopností štěpit laktózu v dospělosti však nalezena nebyla a ještě donedávna byla genetická podstata laktázové persistence u těchto lidí nejasná, avšak nyní známe několik dalších mutací v intronu MCM6, úzce spojených s tímto znakem. Jedná se o mutaci G/C 14010, jejíž frekvence je vysoká hlavně u východoafrických populací (Keňa, Tanzanie) (Tiskhoff *et al.*, 2006; Ingram *et al.*, 2007).

Dále byly identifikovány mutace C/G 13907 a T/G 13915 u Súdánců z kmene Beja a Keňanů z afro-asijské jazykové rodiny. Vyšší frekvence alely T/G 13915 byla také prokázána u Beduínů ze Středního Východu a Arabů. Další, vzácně se vyskytující, alela C 13913 byla nalezena u afrických Fulbů (Tiskhoff *et al.*, 2006; Ingram *et al.*, 2007).

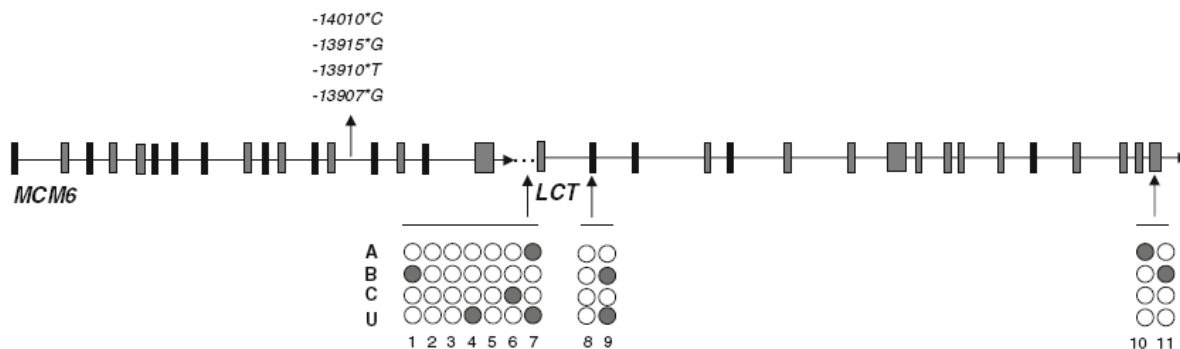
U mutací G/C 14010 a T/G 13915 *in vitro* testy prokázaly silnou afinitu k Oct-1, funguje tedy analogicky jako C/T 13910. U zbylých je přesný mechanismus zvýšení exprese LCT genu nejasný (Tiskhoff *et al.*, 2006; Ingram *et al.*, 2007).

## 5.2 Haplotypová diverzita

### 5.2.1 Haplotypové rozdělení

Analýzou 11 polymorfních míst laktázového genu bylo určeno více než 40 haplotypů (tedy různých kombinací mutací). Nejrozšířenější jsou čtyři haplotypy tohoto znaku - A, B, C a U (viz obrázek č. 1). Ačkoliv mají všechny původ v Africe, nemají mezi sebou bližší spojitosti, tvoří valnou většinu celkové haplotypové diverzity u neafrických populací, avšak jen asi polovinu subsaharských haplotypů (Hollox *et al.*, 2000, 2001).

Haplotyp A je ze všech nejčastější. V nevyšší frekvenci se vyskytuje v severní Evropě, kde je jeho frekvence neobvykle vysoká v porovnání se zbytkem světa. Haplotyp B nacházíme také u všech populací, haplotyp C je opět zastoupen všude, jen u severo evropanů a Sanů je vzácnější. Zajímavý je haplotyp U, který se vyskytuje u všech populací kromě indoevropské populace, kde chybí úplně nebo jej zde nacházíme jen vzácně (Hollox *et al.*, 2000, 2001).



Obrázek č. 1

Znázornění genu MCM6 a LCT s lokalizací 4 SNP mutací (spojených s LP) v MCM6 a 11 SNP v LCT genu, podle kterých jsou určeny haplotypy A, B, C, U.  
(Ingram *et al.*, 2009)

### 5.2.2 Původ jednotlivých mutací a souvislost s haplotypy

Nejdéle známá C/T 13910, která je zodpovědná za LP v Evropě, z části na Středním východě a východní Africe, má stejný původ jako východoafrická C/G 13907, nejspíš souvisí s počátky chovu dobytka (před 10 000 lety). Obě dvě můžeme přiřadit k haplotypu A (Enattah *et al.*, 2008; Ingram *et al.*, 2009).

„Saudsko-arabská“ T/G 13915 má naproti tomu odlišný základ, zřejmě souvisí s domestikací velbloudů (před 6 000 lety) a můžeme ji přiřadit k haplotypu C (Enattah *et al.* 2008, Ingram *et al.*, 2009).

Původ a největší výskyt další mutace spojně s LP - G/C 14010 je u keňských, nilo-saharských a tanzanských populací. Začala se šířit přibližně v období přes 6 000 – 7 000 lety a pravděpodobně má vztah k haplotypu B (Tiskhoff *et al.*, 2007; Enattah *et al.*, 2008; Ingram *et al.*, 2009). U ostatních mutací je původ zatím nejasný (Enattah *et al.*, 2008; Ingram *et al.*, 2009).

Na základě dalšího porovnání haplotypových základů jednotlivých mutací (byla vytvořena haplotypová síť zahrnující 55 SNP umístěných v 98 kb dlouhé oblasti zahrnující LCT a MCM6 geny) a jejich geografického rozšíření ukázalo, že LP vznikla několikrát nezávisle. T/G-13915 se objevila na Předním východě, C/G-13907 a G/C 14010 vznikly ve východní Africe. Haplotypové základy, na kterých tyto mutace vznikly, byly totiž vysoce divergované a geograficky oddělené (Tiskhof *et al.*, 2007; Ingram *et al.*, 2009).

## 6. Evoluční hlediska

### 6.1 Evoluční mechanismy

Laktázová persistence je jedním z nejvýraznějších příkladů pozitivní selekce a také je to jeden z prvních jasně prokázaných polymorfismů v regulačním elementu genu (Ingram *et al.*, 2009).

Výzkumy se zabývají převážně Evropskou mutací 13910T. Kozlov a Lisitsyn (2000) dále uvádějí, že pozitivní selekce měla vliv při „vzniku“ LP, a její další rozšíření reflektuje spíše historii migrací a vliv genového toku.

Sledujeme-li tento znak z hlediska haplotypové diverzity (v LCT lokusu různých populací je značná), nejvyšší naházíme v Africe. Mimo Afriku se vyskytují převážně čtyři haplotypy A, B, C a U (tyto 4 zastupují 89 % haplotypové diverzity u neafrických populací a však jen 51 % haplotypové diverzity sub-saharských populací), dá se přepokládat, že původ všech těchto mutací je v Africe a snížení genetické diverzity, v ostatním světě po migracích, způsobil hlavně genetický drift (Hollox *et al.*, 2000, 2001).

Vraťme se zpět k působení pozitivní selekce, ukazuje na ni i haplotypový základ mutace 13910T u haplotypu A, který je neobvykle zvětšený, zřejmě díky efektu evolučního svezení se (neutrální mutace se fixují v okolí výhodné mutace). LCT lokus má více než milion bp bez porušení rekombinacemi, což je mnohem větší délka než je u genu s takovým výskytem obvyklé (v severní Evropě u 77 % populace). Je to ukázka silného vlivu recentní pozitivní selekce, jedné z nejsilnějších, kterou můžeme pozorovat v lidském genomu (Bersaglieri *et al.*, 2004; Sabeti *et al.*, 2006; Ingram *et al.*, 2009).

Na otázku proč k této selekci došlo nejen u mutace C/T 13910, čím je schopnost štěpit laktózu v dospělosti tak výhodná, existuje několik teorií, které následují.

## 6.2 Vliv prostředí

Vliv prostředí na vznik LP byl brán v potaz již v počátcích výzkumů tohoto znaku.

Jedna z prvních teorií vysvětlovala rozšíření této výhodné schopnosti jako následek přizpůsobení se prostředí: například Beduíni po tisíce let žijí jako nomádi v arabských pouštích, jedinci s LP jsou značně zvýhodněni, protože voda a kalorie obsažené ve velbloudím mléce jim pomáhají přežít nehostinné krajině. Tuto domněnku dále podporují pastevcí severní Afriky např. Tuaregové nebo Fulbové.

Schopnost štěpit laktózu je výhodná i při těžkých průjmových onemocněních (např. cholera), jelikož absorpce monosacharidů v tenkém střevě je spojena s absorpcí vody<sup>2</sup> (Cook & Al-Torki, 1973; Holden & Mace, 2002). V nehostinném a aridním prostředí a v místech výskytu průjmových onemocnění jsou osoby s LP jsou značně zvýhodněny oproti „nepersistentním“ jedincům.

## 6.3 Vitamin D a LP

Proč je výskyt LP osob tak vysoký v severní Evropě? Nabízí se celkem jednoduché vysvětlení - díky nižšímu slunečnímu osvětlení. Hypotéza o souvislosti intenzity slunečního světla, vitamínu D a vápníku byla formulována už v roce 1973 autory Flatzem a Rothauwem.

Pro začátek připomeňme několik poznatků o metabolismu vitamínu D. Vitamin D vstupuje do organismu nejen v potravě, ale vzniká i v epidermis po ozáření UV paprsky z prekursoru 7-dehydrocholesterolu. Vlastní vitamin D (cholecalciferol) je následně v játrech a ledvinách přeměněn na kalcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D). Kalcitriol zvyšuje absorpci vápníku ve střevě - reguluje syntézu proteinu CaBP (calcium binding protein) jež je zodpovědný za transport vápníku (Murray *et al.*, 2003).

---

<sup>2</sup> Voda se v tenkém a tlustém střevě pohybuje podle místního osmotického gradientu, který také souvisí s rozmístěním Na<sup>+</sup> iontů vně a uvnitř buněk. Přítomnost glukózy v tenkém střevě stimuluje zpětnou resorpci Na<sup>+</sup> do buněk. Tato skutečnost je se například využívá fyziologickém léčení ztrát Na<sup>+</sup> a vody při průjmových onemocněních podáním NaCl a glukózy. Používá se to i při léčení cholery, protože Na<sup>+</sup> - glukózový kotransporter zůstává nepoškozen (Ganong, 2005).

Hypovitaminosa může být příčinou křivice a osteomalacie (Thacher, 1999; Murray *et al.*, 2003), prevencí těmto onemocněním je zvýšení příjmu vápníku. (Thacher, 1999).

Několik studií prokázalo, že laktóza zvyšuje absorpci vápníku v tenkém střevě (Guegen & Pontiliard, 2000) (avšak existují i studie, které toto úplně nepotvrdily - Wasserman & Lengemann, 1960; Griessen *et al.*, 1989 ). Mléčný vápník může být za pomoci laktózy absorbován i bez přítomnosti vitamínu D, intercelulární cestou bez pomoci CaBP (Guegen & Pontiliard, 2000).

V severní Evropě je značný výskyt LP pozitivních osob. Tato teorie předpokládá, že díky nižšímu slunečnímu osvitů byla u obyvatel těchto oblastí také nižší syntéza vitamínu D z epidermálních prekurzorů. Tedy u původních severoevropanů bylo zvýšeno riziko křivice a osteomalacie. Když se objevila možnost přijímat vápník z mléka, LP mohla zvyšovat reprodukční zdatnost a alela pro LP se tak rychle šířila (Flatz & Rotthauwe, 1973).

#### 6.4 Pasterectví a LP

Laktázová persistence a pasterectví k sobě rozhodně patří. Existuje předpoklad, že laktázová persistence se vyvinula jen u národů, v jejichž historii jsou etapy, kdy se živilo pasterectvím. Silným argumentem je také, že chov dobytka a mléčná produkce začala dříve, než byla alela pro LP významně zastoupena.

Analýzy porovnávající geografické rozšíření pasterectví a laktázové persistence, také fylogenetické studie potvrdily silnou provázanost mezi těmito znaky (Holden & Mace, 2002). Naopak významnější vliv přenosu těchto znaků mezi sousedními populacemi potvrzen nebyl. Tedy tyto znaky jsou přenášeny z mateřské populace na dceřinou (Pasterectví je v tomto směru specifické, protože kulturní znaky bývají většinou přenášeny horizontálně.) (Holden & Mace, 2002). Celkově to oponuje teoriím o vlivu zeměpisné šířky na vznik LP, pasterectví je spíše adaptací na nehostinné podmínky, ve kterých nelze provozovat zemědělství. Podle některých studií (Lidén, 1995) i Severoevropané byli původně spíše pasterectví než „smíšenými“ zemědělci, kterými jsou dnes.

Také je zde vysvětlení proč některé pasterectvé národy nejsou adaptovány na pití nezpracovaného mléka (např. afričtí Nuerové a Dinkové nebo asijské Mongolové), uvedené



populace zřejmě provozují tento životní styl příliš krátce na to, aby se u nich alela pro LP ve větší míře rozšířila (Holden & Mace, 2002).

V oblastech s nedostatkem vody bylo nevýhodné pěstování rostlin, s chovem zvířat pro mléko je to jiné, totiž mléko mohlo být okamžitým zdrojem tekutin a kalorií. Je tedy možné, že chov zvířat pro mléčnou produkci vznikl právě jako odpověď na ariditu prostředí (Cook & Al-Torki, 1973). Avšak pastevcí zprvu nebyli adaptováni na pití čerstvého mléka. Mléko bylo původně konzumováno jen v menších množstvích nezpůsobujících trávicí obtíže. Když se objevila LP, byla pro své nositele velkým přínosem a alela pro LP se tedy začala směle šířit (Holden & Mace, 2002).

Jiná myšlenka uvažující o zeměpisném rozšíření pastevectví bere také v potaz rozšíření nemocí znemožňujících chov dobytka, což souvisí s přírodními poměry. Tedy výskyt několika smrtelných onemocnění (antrax, malárie, cholera, brucelóza ad.) určil výskyt pastevectví a následné rozšíření alely pro LP (Bloom & Sherman, 2005).

Ještě jedna zajímavost, můžeme sledovat koevoluci lidí a zvířat chovaných pro mléko, respektive evoluci znaků zvýhodňující konzumaci mléka. Tedy u původních plemen skotu ze severní Evropy se objevuje vyšší počet nesynonymních mutací v genech kódujících mléčné proteiny. Tato selekce probíhající od dob neolitu vedla ke zvyšování obsahu tuku a proteinů v mléce a výtěžek z jeho konzumace byl ještě větší (Beja-Perreia *et al.*, 2001).

Teorie o genově kulturní koevoluci, zdá se být jednou z nejelegantněji vysvětlujících rozšíření alely pro LP, většina autorů popisujících další aspekty tohoto znaku z ní vychází. Avšak ani další vysvětlení nelze zcela odmítnout a je možné, že výskyt LP je dán mnohem komplexnějšími souvislostmi.

## 6.5 LP a malárie

K vysvětlení, proč se někde LP vyskytuje a jinde ne, se tato teorie staví z opačného úhlu pohledu. Fenotyp LP je považován za standardní a původně široce rozšířen, naopak fenotyp s nízkou hladinou LPH v dospělosti byl druhotně vyselektován působením malárie (Andeson & Vullo, 1994).

Hypotéza vychází z porovnání zeměpisného rozšíření malárie a LP, tedy LP se vyskytuje hlavně v nemalarických oblastech jako je severní Evropa a pouště. Zatímco původní obyvatelé tropických a subtropických oblastí Afriky, jižní a jihovýchodní Asie nebo Středomoří nemají mutaci pro LP valně zastoupenou, přes to, že také konzumují nefermentované mléko (Andeson & Vullo, 1994).

Mléko je kromě jiného zdrojem riboflavinu, jeho mírná deficiencie je pro lidský organismus snesitelná, ale inhibuje malarická stádia v erytrocytech, takže malárie nemá tak těžký případně fatální průběh. Nedokonalé metabolizování mléka by tedy mělo mít protektivní funkci (Andeson & Vullo, 1994).

Zatím však výzkumy na Sardinii, v bývalé malarické endemické oblasti, tuto teorii nepotvrdily (Meloni *et al.*, 1998).

## 6.6 LP a cystická fibrosa

Cystická fibróza je vrozené onemocnění, podmíněné autozomálně recesivní dědičností.

Příčina tohoto onemocnění tkví v mutaci genu pro transmembránový regulátor vodivosti, tzv. CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Při poruše funkce tohoto proteinu dochází k chybnému transportu chloridových a sodíkových iontů přes epiteliální membrány. S tím jsou spojeny vážné obtíže dýchacího a gastrointestinálního systému (Jakubec, 2006; Vávrová, 2006).

V Evropě je incidence této nemoci vysoká – 1/2500. Souvisí to s výhodou heterozygotů, v tomto stavu mutace snižuje závažnost bakteriálních průjemových onemocnění. (Jakubec, 2006; Vávrová, 2006)

Jedna z hypotéz dává do souvislosti značný výskyt cystické fibrosy v Evropě a laktázovou persistenci. Tedy první evropští zemědělci začali konzumovat mléko ve větším

množství, ještě bez alely pro LP, ale neměli trávicí obtíže, díky polovičnímu množství abnormálně fungujících CFTR proteinů (Modiano *et al.*, 2007).

Zajímavá teorie, zatím minimálně citovaná, avšak myslím, že stojí za povšimnutí, už proto, že například u keltské populace byl zaznamenán významný výskyt mutace genu pro CFTR.

## 7. Závěr

Laktázová persistence je v dnešní době studována z mnoha hledisek. Biochemické studie se zabývají například postranlačnými úpravami laktázy a jejich vlivem na funkci tohoto enzymu (Naim & Lentzell, 1992), na úrovni fyziologické jsou studovány procesy stojící za podstavným poklesem laktázy (Chaudry *et al.*, 2008) a velmi zajímavé je také hledisko mikrobiologické, studium změn střevní mikroflóry v souvislosti s metabolizováním laktózy (Flourie, 1993; Hertzler & Savaiano, 1995; Briet *et al.*, 1997). Velká část studií se zabývá genetickou podstatou a rozšířením jednotlivých mutací zodpovědných za LP.

V této práci jsou uvedeny základní poznatky o LP a zejména je zaměřená na vlivy určující její výskyt v dnešním světě. Ačkoliv se téměř s jistotou hovoří o genově-kulturní koevoluci, probíhající od dob neolitu, existuje zde mnoho nejasností. Otázkou zůstává, zda je výskyt LP ovlivněn jednotlivě, okolnostmi působícími lokálně, nebo zda existuje jednoznačné vysvětlení objasňující rozšíření LP globálně. Hledáním odpovědi na tuto otázku můžeme získat nové informace o tom, jak a proč v lidské populaci působí pozitivní selekce a ostatní evoluční mechanismy.

## Použitá literatura

Anagnostou, P., Battaglia, C., Coia, V., Capelli, C., Fabbri C., Petterner D., Destro-Bisol, G., Luiselli, D., (2009). Tracing the Distribution and Evolution of Lactase Persistence in Southern Europe through the Study of the T-13910 Variant, *American Journal of Human Biology* 21, 217–219.

Anderson, B., Vullo, C., (1994). Did malaria select for primary adult lactase deficiency?, *Gut* 35, 1487-1489.

Arola, H., (1994). Diagnosis of Hypolactasia and Lactose Malabsorption, *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 202, 26-35.

Balasse, M. & Tresset, A. (2002). Early Weaning of Neolithic Domestic Cattle (Bercy, France) Revealed by Intra-tooth Variation in Nitrogen Isotope Ratios, *Journal of Archaeological Sciences* 29, 853–859.

Bar-Yosef, O. (1998). The Natufian Culture in the Levant Threshold to the Origins of Agriculture, *Evolutionary Anthropology*, 159 – 174.

Beja-Pereira, A., Luikart, G., England, P. R., Bradley, D. G., Jann, C. O., Bertorelle, G., Chamberlain, T. A., Nunes, P. T., Metodiev, S., Ferrand, N., Erhardt, G., (2003). Gene-culture co-evolution between cattle milk protein genes and human lactase genes, *Nature Genetics* 35, 1-3.

Beja-Pereira, A. Caramellic, D., Lalueza-Foxe, C., Vernesif, C., Ferranda, N., Casolih, A., Goyachei, F., Royoi, L., R., Contid, S., Larid, C., Martinij, A., Ouraghk, L., Magidl, A., Atashl, A., Zsolnaim, A., Boscaton, P., Triantaphylidiso, C., Ploumip, K., Sineoq, L., Mallegnir, F., Taberletb, P., Erhardts, G., Sampietrot, L., Bertranpetitt, J., Barbujaniu, G., Luikartbc, G, Bertorellec, G., (2006). The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA, *PNAS*, vol. 103, No. 21, 8113–8118.

Beneš, J., *Člověk*, (1994). *Mladá Fronta*, 145-159.

Berg, J., Tymoczko, J. L., Stryer, L.,(2002). *Biochemistry*, New York: W. H. Freeman and Co.

Bersaglieri, T., Sabeti, P., Patterson, N., Vanderploeg, T., Schaffner, F. S., Drake, A. J., Rhodes, M., Reich, E. D., Hirschhorn, H. J., (2004). Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *American Journal of Human Genetics* 74, 1111–1120.

Bloom, G., Sherman., P. W., (2005). Dairying – barriers affect the distribution of lactose malabsorption, *Evolution and human Behavior*, Vol 26, No 4, 301-312.

Brentjes, B., (1973). *Jak zvířata zdomácněla (Die Erfindung des Haustiers)*, transl.by Jiří Stach, *Horizont*.

- Briet, F., Pochart, P., Marteau, P., Flourie, B., Arrigoni, E., Rambaud, C., (1997). Improved clinical tolerance to chronic lactose ingestion in subjects with lactose intolerance placebo effect?, *Gut* 41, 632-635.
- Burger, J., Kirchner, M., Bramanti, B., Haak, W., Thomas, M. G., (2007). Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans, *PNAS vol. 104 No 10*, 3736-3740.
- Černý, V., (2002). Pastervecká ekonomie, mléčná produkce skotu a výskyt laktózové tolerance u subsaharských populací, *Evoluce člověka a antropologie recentních populací Sborník příspěvků 21. kongresu Společnosti pro vědu a umění*, ed Sládek, V., Galeta, P., Blažek, V., 1-18.
- Chaudhry, K. K., Mahmood, S., Mahmood, A., (2008). Hormone induced expression of brush border lactase in suckling rat intestine, *Molecular Cell Biochemistry* 312, 11-16.
- Childe, V. G., (1966). Na prahu dějin (What Happened in History), transl. by Špinka, V., *Orbis*.
- Coelho, M., Luiselli, D., Bertorelle G., Lopes. A. I., Seixas, S., Destro-Bisol G., Rocha, J., (2005). Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Human Genetics* 117, 329 – 339.
- Cook, G. C., Al-Torki, M. T., (1973). High Intestinal Lactase Concentrations in Adult Arabs in Saudi Arabia, *British Medical Journal*, 135-136.
- Copley, M. S., Berstan, R., Dudd, S. N., Docherty, G., Mukherjee, A. J., Straker, J. V., Payne, S., Evershed R. P., (2003). Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain, *PNAS vol. 100 no. 4*, 1524–1529
- De Vrese, M., Stegelmann, A., Richter, B., Fenselau, S., Laue, C., Schrezenmeir, J., (2001). Probiotics - compensation for lactase insufficiency, *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 421-429.
- Diamond, J., (2000). Osudy lidských společností (Guns, Germs, and Steel: The Fates of Human Societies), transl. by Urban, Z., *Columbus*.
- Enattah, N. S., Sahi, T., Savilahti, E., Terwilliger, D. J., Peltonen L., Järvelä, I., (2002). Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nature Genetics* 30, 233–237.
- Enattah, N. S. Jensen, T. G. K., Nielsen, M., Lewinski, R., Kuokkanen, M., Rasinpera, H., El-Shanti, H., Kee Seo, J., Alifrangis, M., Khalil, I. F., Natah, A., Ali, A, Natah, S., Comas, D., Mehdi, S. Q., Groop, L., Vestergaard, E. M., Imtiaz, F., Rashed, M., Meyer, B., Troelsen, J., Peltonen, L., (2008). Independent Introduction of Two Lactase-Persistence Alleles to Human Populations Reflects Different History of Adaptation to Milk Culture, *The American Journal of Human genetics* 82, 57-72.

Evershed, R. P., Sherratt, A. G., Payne, S., Copley, M. S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Bailey, D., Andeescu, R., Campbell, S., Farid, S., Hodder, I., Yalman, N., Bıc, E., Garfinkel, Y., Levy, T., Burton, M. M., *et al.*, (2008). Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding, *Nature* 455, 528-531.

Flannery, K. V., (1973). The Origins of Agriculture, *Annual Review of Anthropology*, 271-310.

Flatz, G., Rothawue, H. W., (1973). Lactose nutrition and natural selection, *The Lancet*, 76- 77.

Flatz, G., Kuhnau, W., Nafiali D., (1984). Breath hydrogen test for lactose absorption capacity: importance of timing of hydrogen excretion and of high fasting hydrogen concentration, *The American Journal of Clinical Nutrition* 39, 752-755.

Flourie, B., Briet, F., Florent, C., Pellier, P., Maurel, M., Rambaud, J. C., (1993). Can diarrhea induced by lactulose be reduced by prolonged ingestion of lactulose?, *The American Journal of Clinical Nutrition* 58, 367-375.

Gangong, W. F., (2005). Přehled lékařské fyziologie, dvacáté vydání (Review of Medical Physiology, twentieth edition), transl. by Bravený, P. *et al*, *Galén*.

Griessen, M., Cochet, B., Infante, F., Jung, A., Bartholdi, P., Donath, A., Loizeau, E., Courvoisier, B., (1989). Calcium absorption from milk in lactase-deficient subjects., *American Journal of Clinical Nutrition* 49, 377–384.

Guegen, L., Pointilliard, A., (2000). The Bioavailability of Dietary Calcium, *Journal of the American College of Nutrition*, Vol 19, No. 2, 119–136.

Hauri H. P., Sterchi, E. E., Bienz, D., Fransen, J. A. M., Marxer, A., (1985). Expression Membrane and Intracellular Transport of Microvillus Hydrolases in Human Intestinal Epithelial Cells, *The Journal of Cell Biology* . Vol. 101, 838-851.

Herlin, J. S., (2003). Ancient African civilizations to ca. 1500, [online] <http://louisville.edu/a-s/history/herlin/textsup.htm>.

Hertzler, S. R., Savaiano, D. A., (1995). Daily lactose feeding improves lactose tolerance by enhancing colonic fermentation, *Gastroenterology*, A328.

Holden, C., Mace, R., (2002). Pastoralism and the evolution of lactase persistence, *Human Biology of Pastoral Populations*, ed Leonard, W.R., Crawford, M.H., 280-307.

Hollox, E. J., Poulter, M., Zvarik, M., Ferak, V., Krause, A., Jenkins, T., Saha, S., Kozlov, A., I., Swallow, D. M., (2001). Lactase haplotype diversity in the Old World, *American Journal of Human Genetics* 68, 160-172.

- Hollox, E. J., Poulter, M., Swallow D. M., (2000). Lactase Haplotype Diversity in the Old World, *Archeogenetics: DNA and the population prehistory of Europe*, ed Renfrew, C., Boyle, K., 305-308.
- Ingram C. J. E., Mulcare J. A. C., Itan Y., Thomas, M. G., Swallow, D. M., (2009). Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence, *Human genetics* 124, 579-571.
- Inrgam, C. J. E., Elamin M. F., Mulcare C. A., Weale, M. E., Tarekegn, A., Oljira T., Bekele, R. E., Elamin, M. F., Thomas M. G., Bradman N., Swallow D. M., (2007). A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple cause for lactase persistence?, *Human Genetics* 120, 779-788.
- Jacob, R. Brewer, C., Fransenn, J. A. M., Naim, H. Y., (1994). Transport, Function, and Sorting of Lactase-Phlorizin Hydrolase in Madin-Darby Canine Kidney Cells, *The Journal of Biological Chemistry Vol 269, No. 4*, 2712-2721.
- Jakubec, P., (2006). Cystická fibróza, *Univerzita Palackého v Olomouci*.
- Kočna, P., (2006). Dechové testy – moderní neinvazivní diagnostika, *Interní medicína pro praxi 7 a 8*, 336-341.
- Kozlov, I.A., Lisitsyn, D.V., (2000). History of Dairy Cattle-breeding and Distribution of LAC\*R and LAC\*P Alleles among European Populations, ed. Renfrew, C. and Boyle, K. *Archeogenetics DNA and the population prehistory of Europe, McDonald Institute Monographs* 309-313.
- Lerebours, E., N'Djitoyp, C. N., Lavoine, A., Hellot, M. F., Antoine, J. M., Colin, R., (1989). Yogurt and fermented-then-pasteurized milk: effects of short-term and long-term ingestion on lactose absorption and mucosal lactase activity in lactase-deficient subjects, *The American Journal of Clinical Nutrition* 49, 832-837.
- Lewinsky, R. H. Jensen, T. G., Møller, J., Stensballe, A., Olsen, J., Troelsen, J. T., (2005). T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro., *Human Molecular Genetics* 14, 3945–3953.
- Lidén, K., (1995). Megaliths, Agriculture, and Social Complexity: A Diet Study of Two Swedish Megalith Populations, *Journal of Anthropological Archeology* 14, 404 – 417.
- Meloni, T., Colombo, C., Ruggiu, G., Dessena, M., Meloni, G. F., (1998). Primary lactase deficiency and past malarial endemicity in Sardinia, *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 494-5.
- Modiano, G., Ciminelli, B. M., Pignatti, P. F., (2007). Cystic fibrosis and lactase persistence: a possible correlation, *European Journal of Human Genetics*, 255-259.
- Murray, R. K., Granner, D. G., Mayes, P. A., Rodwel, W., V., (2003). Harper's Illustrated Biochemistry, *McGraw-Hill Companies*.



- Naim H. I., Lentzell J. M., (1992). Impact of O-Glycosylation on the Function of Human Intestinal Lactase-Phlorizin Hydrolase, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol 267, No. 35, 25494-25504.
- Neustupný, E., (1967). K počátkům patriarchátu ve střední Evropě., The beginnings of patriarchy in Central Europe., *Rozpravy ČSAV* 77/2.
- Peške, L. (1994). Příspěvek k poznání počátku dojení skotu v Pravěku. Contribution the beginning of milking in Prehistory. *Archeologické Rozhledy* XLVI, 97-104.
- Saber, A. S., (1998). The Camel in Ancient Egypt, *Proceedings of the Third Annual Meeting for Animal Production Under Arid Conditions*, Vol. 1, 208-215.
- Sabeti, P. C., Schaffner, S. F., Fry, B., Lohmueller, J., Varilly, P., Shamovsky, O., Palma, A., Mikkelsen, T. S., Altshuler, D., Lander, E. S., (2006). Positive Natural Selection in the Human Lineage, *Science* 312, 1614-1620.
- Savaiano, D., A., Levitt, M., D., Milk Intolerance and Microbe-Containing Dairy Foods, *Journal of Dairy Science* Vol. 70, No. 2, 1987, 398-406.
- Swallow D. M., (2003). Genetics of Lactase persistence and Lactose Intolerance, *Annual Reviews of Genetics* 37, 197-219.
- Thacher, T. D. Fischer, P. D., Pettiford, J. M., Lawson, J., Sichei, C., Reading, J., Chan, M., (1999). A comparison of calcium, vitamin D, or both for nutritional rickets in Nigerian children, *The New England Journal of Medicine*, Vol 314, No. 8, 583 – 568.
- Tishkoff, S. A., Reed, A. F., Ranciaro, A., Voight, B. F., Babbitt, C. C., Silverman, J. S., Powell, K., Mortensen, H. M., Hirbo, J. B., Osman, M., Ibrahim, M., Omar, S. A., Lema, G., Nyambo, B. T., Ghorri, J., Bumpstead, S., Pritchard, K. J., AWRay, G., Deloukas, P., (2006). Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe, *Nature Genetics*, 1-10.
- Vávrová, V., (2006). Cystická fibróza 1. vydání Praha, *Granda*.
- Vigne, J. D., Helmer, D., (2007). Was milk a “secondary product” in the Old World Neolithisation process? Its role in the domestication of cattle, sheep and goats, *Anthropozoologica* 42 (2), 9-40.
- Wang, Y., Harvey, C. B., Pratt, W. S., Sams, V. R. , Sarner, M., Rossi, M., Auricchio, S., Swallow, D.M., (1995). The lactase persistence/non-persistence polymorphism is controlled by a *cis*-acting element. *Human Molecular Genetics* 4, 657–662.
- Wasserman, R. H., Lengemann, F. W., (1960). Further observations on lactose stimulation of the gastrointestinal absorption of calcium and strontium in rats. *The Journal of Nutrition* 70, 377–384.

Whittle, A, (1996). *Europe in the Neolithic*, Cambridge University press, 1 – 9.

Zeder, M. A., (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact, *PNAS*, vol. 105, No 33, 11597 – 11604.