

ГЕНЕТИКА МЕТАБОЛИЗМА ЛАКТОЗЫ

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПОЛИМОРФИЗМА -13910 T>C В ГЕНЕ MCM6,
АССОЦИИРОВАННОГО С НЕПЕРЕНOSИМОСТЬЮ
ЛАКТОЗЫ, МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ
РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

РУ № РНЗ 2022/17418

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Около 60% населения мира испытывает трудности в переваривании лактозы — дисахарида, содержащегося в молочных продуктах. Этот показатель варьируется от 28% в европейской популяции до 70% на Ближнем Востоке [1]. Непереносимость лактозы — клинически проявляющаяся врожденная или приобретенная неспособность расщеплять лактозу вследствие снижения активности фермента лактазы (лактазной недостаточности). Непереваренная лактоза обладает осмотической активностью, что приводит к повышению осмотического давления в тонком кишечнике и ускоряет перистальтику. При попадании лактозы в толстый кишечник она расщепляется бактериями, что сопровождается продукцией большого количества короткоцепочечных жирных кислот и газов, включая молочную кислоту, метан, водород и углекислый газ. Именно они вызывают клинические симптомы: боли в животе, тошноту, диарею и метеоризм [2].

При этом в некоторых случаях неспособность расщеплять лактозу протекает бессимптомно, а заболеванием считаются только манифестные случаи с формированием вторичных метаболических нарушений, задержкой развития и/или влияющие на социальную активность.

Клиническая классификация лактазной недостаточности [3]:

Врожденная лактазная недостаточность	Относительно редкое заболевание, обусловленное мутацией в гене лактазы (<i>LCT</i>), проявляющееся с первых дней жизни ребенка. Может сопровождаться метаболическим ацидозом вследствие диареи и гиперкальциемией
Транзиторная лактазная недостаточность	Наблюдается у недоношенных детей и характеризуется низкой активностью лактазы — незрелостью ферментативных систем при рождении. В первые недели жизни ребенка лактазная активность нормализуется
Первичная лактазная недостаточность	Широко распространенное состояние, обусловленное генетическими полиморфизмами в энхансере гена лактазы, расположенном в гене <i>MCM6</i> . В первые месяцы жизни ребенка активность лактазы высокая, после завершения периода грудного вскармливания происходит ее снижение при морфологически сохраненных энтероцитах. Наследуется по аутосомно-рецессивному типу
Вторичная лактазная недостаточность	Снижение активности лактазы, связанное с повреждением энтероцитов, возможно при инфекционных (кишечная инфекция), иммунных (непереносимость белков коровьего молока), воспалительных процессах в кишечнике, а также при атрофических изменениях (при целиакии, после длительного периода полного парентерального питания и др.) и недостатке трофических факторов

Методы диагностики лактазной недостаточности [4]:

- **Диагностика по изменению диеты** предполагает наличие соответствующей симптоматики при употреблении содержащих лактозу продуктов и уменьшение симптомов при переходе на безлактозную диету или использовании фермента лактазы.
- **Лабораторные анализы кала** могут включать определение общего содержания углеводов в кале и определение pH кала. Определение общего содержания углеводов не позволяет дифференцировать различные виды дисахаридазной недостаточности (это становится возможным при выполнении хроматографического анализа углеводов кала), однако совместно с клиническими данными вполне достаточно для скрининга и контроля правильности подбора диеты. Определение pH кала (в норме 5,5 и выше) отражает процессы брожения в кишечнике: при лактазной недостаточности pH снижается.
- **Определение содержания водорода, метана или меченного ^{14}C CO_2 в выдыхаемом воздухе.** Методы позволяют косвенно оценить активность микрофлоры по ферментации лактозы. Определять концентрацию газов целесообразно после дозированной нагрузки обычной или меченой лактозой.
- **Гликемический нагрузочный тест с лактозой.** Уровень гликемии, регистрируемый до и после нагрузки лактозой, отражает суммарный результат расщепления и всасывания лактозы в тонкой кишке.
- **Определение активности лактазы в биоптатах слизистой оболочки тонкой кишки.** Инвазивность, сложность и высокая стоимость метода ограничивают его применение в повседневной практике. Кроме того, четкой корреляции между степенью снижения лактазы в кишечнике и клинической картиной нет, на полученные результаты может влиять место взятия биоптата.
- **Генетическое исследование** можно использовать для диагностики генетических форм непереносимости лактозы — врожденной и первичной лактазной недостаточности.

Первичная лактазная недостаточность ассоциирована с полиморфизмами в регуляторной области гена лактазы, расположенной в гене *MCM6*. В европейских популяциях наиболее распространены два полиморфизма: -13910 T>C и -22108 G>A *MCM6*:

	Персистенция лактазы	Лактазная недостаточность
-13910 T>C	TT, CT	CC
-22108 G>A	AA, GA	GG

Между генотипами -13910 T>C и -22018 G>A отмечается корреляция. Согласно исследованиям, проведенным в Польше, у 42,4% людей с генотипом -13910CC наблюдается вариант -22018GG. При этом у всех лиц с -22018GG был выявлен генотип -13910CC, но не наоборот [5]. Указанные генотипы широко распространены в Европе и в Российской Федерации [6].

Генетическое тестирование для определения риска непереносимости лактозы, основанное на выявлении только полиморфизма -13910 T>C, является более информативным и позволяет снизить стоимость исследования.

Необходимо учитывать, что наличие генотипа -13910CC не всегда сопровождается непереносимостью лактозы. На развитие клинической картины оказывают влияние такие факторы, как количество потребляемой лактозы, присутствие в кишечной микробиоте способных к ферментации лактозы бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, время продвижения пищи по ЖКТ и другие факторы [7].

Набор реагентов «Генетика метаболизма лактозы» предназначен для определения полиморфизма -13910 T>C в гене *MCM6*, ассоциированного с непереносимостью лактозы, методом ПЦР в режиме реального времени.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕКОМЕНДУЕТСЯ



для диагностирования или прогнозирования возникновения лактазной недостаточности, связанной с полиморфизмами гена *MCM6*

ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

- цельная периферическая кровь
- сухие пятна крови
- буккальный эпителий

ОСОБЕННОСТИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

- **Мультиплексный формат** — в одной пробирке одновременно определяются несколько ДНК-мишеней.
- **Внутренний контроль** — оценка качества выделения ДНК и протекания полимеразной цепной реакции.
- **Автоматическое формирование бланка результатов** при использовании рекомендуемых амплификаторов серии ДТ и ПО RealTime_PCR.
- **Наличие файлов с параметрами тестов** для автоматической установки необходимых настроек и расчета результатов.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Состав набора реагентов:

- смесь для амплификации: МСМ6: -13910 Т>С
- полимеразы ТехноТаг МАХ
- ПЦР-буфер
- минеральное масло
- контрольный образец (частая гомозигота) — только в комплектации № 2
- контрольный образец (редкая гомозигота) — только в комплектации № 2

Набор реагентов рассчитан на 48 определений, включая положительный и отрицательный контрольные образцы.



Время проведения анализа

(без учета пробоподготовки): от 1,5 часов

КАНАЛЫ ДЕТЕКЦИИ ПРОДУКТОВ АМПЛИФИКАЦИИ:

Полиморфизм (наименование смеси для ампли- фикации)	Каналы детекции аллельных вариантов и внутреннего контроля				
	Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
МСМ6: -13910 Т>С	С	Т	—	ВК*	—

* Система внутреннего контроля (ВК) представляет собой систему амплификации геномной ДНК человека, позволяет оценить наличие ДНК в амплификационной пробе и исключить ошибки генотипирования.

Аналитическая
чувствительность

не менее 1,0 нг ДНК человека на амплификационную
пробирку (300 копий ДНК)

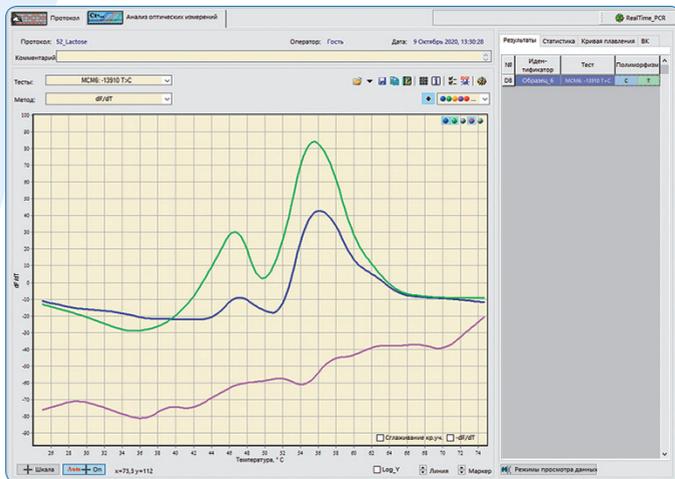
РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Наборы реагентов для выделения нуклеиновых кислот	Детектирующие амплификаторы
<ul style="list-style-type: none">▪ ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА▪ ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА▪ ПРОБА-ЦИТО СП▪ ПРОБА-МЧ МАКС▪ ПРОБА-ОПТИМА▪ ПРОБА-ОПТИМА МАКС	<ul style="list-style-type: none">▪ ДТпрайм▪ ДТлайт▪ ДТ-96

ООО «НПО ДНК-Технология»

ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

ПО RealTime_PCR

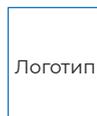


Учет и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически для приборов серии «ДТ» производства ООО «НПО ДНК-Технология» при использовании ПО RealTime_PCR.

ПРИМЕР БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Определение полиморфизма -13910 T>C в гене MCM6, ассоциированного с непереносимостью лактозы, методом ПЦР в режиме реального времени (Генетика метаболизма лактозы)

Дата:
Номер пробирки:
Ф. И. О. пациента:
Пол:
Возраст:
Организация:
Врач:
Примечание:



Информация о лаборатории

Идентификатор образца:

№	Наименование исследования	Результаты	
		Генотип	
1	MCM6: -13910 T>C	C	T

Исследование выполнил:

Дата:
Подпись:

Бланк результатов ПЦР-анализа получен с использованием детектирующих амплификаторов серии «ДТ» и программного обеспечения.



Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более пяти суток.

Все компоненты набора, за исключением полимеразы ТехноТaq МАХ, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности.

Полимеразу ТехноТaq МАХ следует хранить в морозильной камере при температуре от -18 °С до -22 °С в течение всего срока годности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Storhaug C. L., Fosse S. K., Fadnes L. T. Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: a systematic review and meta-analysis // *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. — 2017. — Т. 2. — №. 10. — С. 738–746.
2. Catanzaro R., Sciuto M., Marotta F. Lactose intolerance: An update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment // *Nutrition Research*. — 2021. — Т. 89. — С. 23–34.
3. Szilagyi A., Ishayek N. Lactose intolerance, dairy avoidance, and treatment options // *Nutrients*. — 2018. — Т. 10. — №. 12. — С. 1994.
4. Хавкин А. И. Непереносимость лактозы: современные подходы к диагностике и лечению. *Вопросы диетологии*. 2020; 10(1): 59–67. DOI: 10.20953/2224-5448-2020-1-59-67.
5. Tomczonek-Moruś J. et al. 13910C> T and 22018G> A LCT gene polymorphisms in diagnosing hypolactasia in children // *United European gastroenterology journal*. — 2019. — Т. 7. — №. 2. — С. 210–216.
6. Kovalenko E. et al. Lactase Deficiency in Russia: Multiethnic Genetic Study. — 2022. (Prepr. /*European Journal of Clinical Nutrition*.)
7. Di Costanzo M., Canani R. B. Lactose intolerance: common misunderstandings // *Annals of Nutrition and Metabolism*. — 2018. — Т. 73. — №. 4. — С. 30–37.



040-2 2023.07.05



ООО «ДНК-Технология»
www.dna-technology.ru
hotline@dna-technology.ru
+7 (495) 640-17-71

8 800 200 75 15 (Звонок по России бесплатный)