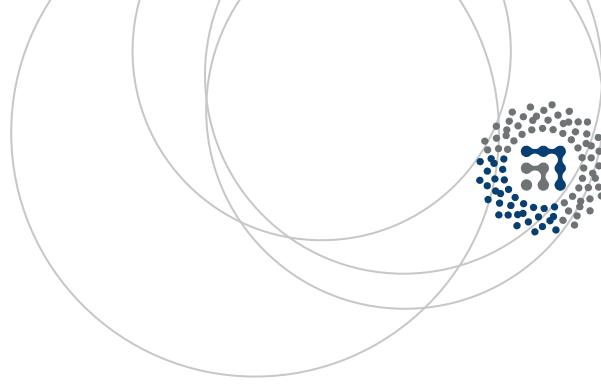


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



ZTF-FCT

Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología



Gradu Amaierako Lana
Biologiako Gradua

Laktosarekiko Tolerantziaren Eboluzioa Giza Populazioetan

Egilea:

Aida Gutiérrez Galiacho

Zuzendaria:

Neskuts Izagirre Arribalzaga

AURKIBIDEA

LABURPENA	2
ABSTRACT	2
SARRERA	3
METODOLOGIA	3
LAKTOSAREKIKO TOLERANTZIA	4
Laktosarekiko tolerantziaren erregulazio genetikoa	7
Banaketa geografikoa	10
SNPen adina	12
Hautespen naturalaren detekzioa	12
Gene-kultura koeboluzioa eta laktosarekiko tolerantzia izatearen abantailak	14
Datu paleogenetikoak	15
ONDORIOAK	17
BIBLIOGRAFIA	18

LABURPENA

Gizakiak gara ugaztunen artean, esneak daukan laktosa heldutasunean digeritzeko gai garen bakarrak. Laktosa digeritzeko gaitasuna edoskitzaroan soilik edukitzea normala den arren, indibiduo batzuek etapa horren ondoren, gaitasun hori mantentzen dutela behatu da. Honi laktosarekiko tolerantzia edo laktasarekiko iraunkortasuna esaten zaio. Laktosaren hidrolisiaz arduratzen den laktasa entzima ekoiztea ezinbestekoa da esnea energia-iturri moduan aprobetxatzeko. Gaitasun honen faktore genetiko arduradunak *MCM6* genean, laktasa (*LCT*) genetik hurbil, dauden SNP batzuk dira. SNP hauek laktosa entzimaren erregulazioan eragiten dute, ondorioz, laktasa entzima heldutasunean ere aktibo mantentzen da. Genomaren eskualde honen sekuentziak, munduko populazio desberdinetako indibiduoetan, agerian utzi du laktosaren iraunkortasunak eboluzio konbergentea jasan duela. Gainera laktosarekiko tolerantzia gene-kultura koeboluzioaren ondorio bat dela baieztatu daiteke, ohitura kulturalak (esnearen kontsumoa) locus genetiko honen eragilea izanik.

ABSTRACT

Humans are the only mammals who are able to digest lactose, the characteristic sugar of milk. Although it is common to have the ability to digest lactose during babyhood, it has been observed that among some individuals this ability remains after weaning. This is what we call lactose tolerance or lactase durability. The production of the enzyme lactase, which is responsible for the hydrolysis of lactose, is essential to take advantage of milk as a source of energy. The genetic factor responsible for the maintenance of this capacity are a series of SNPs located in the *MCM6* gene, which is close to the lactase (*LCT*) gene. These SNPs are involved in the regulation of the lactase gene, and as a consequence of this, the enzyme remains active during adulthood. Population genetics of this genomic region has shown that lactose tolerance is the result of convergent evolution. Besides, we can state that lactase persistence is the result of a gene-culture coevolution whereby the development of a cultural habit (milk consumption) acted as the driving force of this genetic locus.

SARRERA

Ugaztun jaioberrientzat esnea da elikagairik garrantzitsuena. Esneak kaltzioaren absortzioan laguntzen du eta proteina, gantz, bitamina eta beste mineralen iturri izateaz gain, energia-iturri garrantzitsuenetarikoa ere bada. *Laktosa* ($C_{12}H_{22}O_{11}$: galaktosa- β 1,4-glukosa) ugaztunen esnean dagoen azukrea da. Karbohidrato hau energia-iturri bezala erabilgarria izateko, laktosaren hidrolisia gertatu behar da. Laktosaren hidrolisiaz, heste meheko enterozitoek ekoizten duten *laktasa* entzima arduratzen da, laktosatik glukosa eta galaktosa monosakaridoak askatuz. Hauek hestean xurgatuak izango dira eta odolean zehar garraiatuko dira, gorputzeko atal ezberdinetan energia-iturri moduan aritzeko (Swallow 2003; Wilt et al. 2007).

Jaioberriek laktosa kantitate oso handiak digeritzeko gaitasuna daukate, euren elikagai bakarra amaren esnea baita. Laktasaren aktibitate altu hori edoskitzaroa amaitu arte (gutxi gorabehera 3-5 urte) mantendu egiten da. Izan ere, etapa horretan ugaztunek esnearen karbohidratoen kontsumoa, landare eta haragiz osaturiko dieta batengatik ordezkutzen dute. Beraz, laktasaren adierazpena murriztuz doa momentu horretatik aurrera (Valeria 2006). Hala ere, gizaki batzuetan gaitasun hori edoskitzaroa amaitu ondoren ere mantendu egiten da. Hemendik *laktosarekiko tolerantzia* edo *laktasarekiko iraunkortasun* kontzeptuak iradokitzen dira eta ondorioz, heldutasunean laktosa energia-iturri gehigarri horren iraupena luzatzeko aukera sortzen da (Swallow 2003; Valeria 2006).

Laktosarekiko tolerantzia giza eboluzioan gertaturiko moldapen biologiko bat da, hau da, ingurumeneko hautespen presioei erantzuteko sortutako aldaketa genetikoa. Hori dela eta, iraganeko populazioetan tolerantzia garatzeak zer eragin zuen jakitea eta ulertzea garrantzitsua da. Izan ere, gaur egun, ezaugarri honen fenotipo ezberdinen banaketa ulertzen lagun dezake. Laktosarekiko tolerantzia lehen aldiz deskribatu zenetik, ikuspuntu ezberdinetatik aztertua izan da: genetikoa, biomedikoa eta kulturala. Gaur egun, gai honen inguruan dagoen informazioa bildu nahian idatzi da lan hau.

METODOLOGIA

Errebisio bibliografiko hau egiteko Pubmed datu-basea erabili da, biomedikuntzaren artikuluen aipu eta laburpenak biltzen dituen datu-basean bilaketak egiteko sistema, alegia. Artikulu zientifikoaren bilaketarako gehien erabilitako hitz gakoak /human lactase genes/ /lactase persistence allele/ /LCT lactase/ /lactose intolerance SNP/ izan dira eta 1970-2014 urte tartean argitaraturiko lanetara mugatu da bilaketa. Artikulu zientifiko batzuetan ageriko zitak ere lan honen garapenerako erabili dira. Datu-baseetako informazioaz gain, liburuak eta interneten aurkituriko bideoez (<http://www.hhmi.org/>) baliatu gara.

LAKTOSAREKIKO TOLERANTZIA

Hasiera batean, laktosarekiko tolerantzia ezaugarri autosomiko mendeliar gainhartzailea zela uste zen (Lisker et al. 1975), alelo bakar bat izatearekin nahikoa baita laktosa digeritzeko gaitasuna izateko. Honen arabera, gizakiak hiru genotipoetan silka daitezke: iraunkortasunerako homozigotoak (laktasaren aktibitate altua dutenak), iraunkortasunerako heterozigotoak (laktasaren aktibitate maila ertaina dutenak) eta iraunkorak ez diren homozigotoak (laktasaren aktibitate baxua dutenak) (Swallow 2003).

Laktosarekiko intolerantziaren kasuan, laktasaren aktibitate maila % 5-10era murriztu egiten da (Järvela et al. 1998). Laktasa aktibitatearen murrizketa dela eta digeritua ez den laktosa ileonean eta kolonean hartzitua izango da bertako bakterioen bidez, beste konposatuen artean, H₂, CO₂ eta CH₄ gasak sortuz. Produktu hauek flatulentziak eta sabeleko minaren eragileak izango dira. Gainera, osmosiaren ondorioz, odoletik ura galdu egiten da, segituan beherakoak gertatuz. Dena den, sintoma hauek ez dira indibiduo guztietan berdinak izango; indibiduotik indibiduora alda daitezke, batez ere, edandako esne kantitatearen arabera (Ehrenpreis 2007).

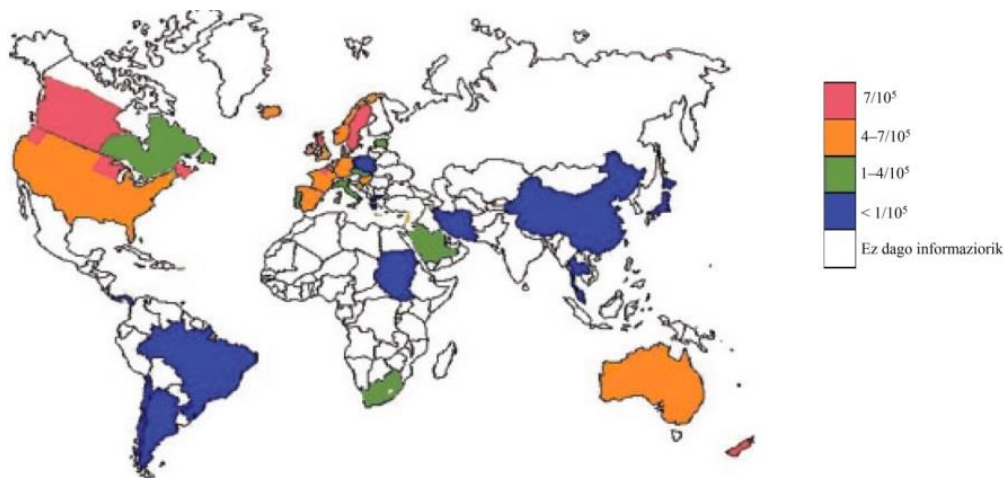
Laktosarekiko intolerantziaren etiologiaren arabera, hiru intolerantzia mota bereiz daitezke, hain zuzen ere, primarioa, sekundarioa (eskuratutako intolerantzia) eta tertziarioa (jaiotzetikoa edo alaktasia). Populazioan intolerantzia arruntena *primarioa* da, edoskitzaroa amaitzean gizakietan esnea digeritzeko gaitasuna desagertzen denean sortzen dena. Hori dela eta, heldutasunean laktasaren kontzentrazioa baxua da, sintomen agerpena erraza izanik. Intolerantzia primarioaren maiztasunak populazioen arabera ezberdinak izan daitezke (ikus [Banaketa geografikoa atala](#)).

Bigarren motako edo *eskuratutako intolerantzia* hesteko arazoan ondorioz garatzen da. Esaterako, gastroenteritisa, Crohn-en gaixotasuna (ikus [aurrerago](#)), fibrosi kistikoa eta Zollinger-Ellison sindromea intolerantzia sor dezaketen gaixotasunak dira. Eritasun hauek enterozitoak kaltetzen dituzte eta honen ondorioz, laktasaren aktibitatea murrizten da (Swallow 2003).

Azkenik, *jaiotzetiko intolerantzia* edo *alaktasia*, populazioan arraroa den eritasuna da. Honetan, laktasa entzimaren inolako aktibitaterik ez dago, laktasa ekoizten duen genearen bi kopia akastunak jaso direlako. Kasu honetan, jaioberriek sintomak garatzen dituzte, nahiz eta esne kantitate oso txikiak kontsumitu (Järvela et al. 1998; Wilt et al. 2007).

Honen ildoan, laktosarekiko tolerantzia eta Crohn-en gaixotasunaren (ingelesez “CD” laburbilduta) artean proposatu den erlazioa komentatzea merezi du. CD hesteko hanturazko gaixotasun kronikoa da, zeinean genetikak, inguruneak eta immunitate sistemak eragina daukaten. Gaixotasun honen garapenean, basa animalietan eta esnekietan aurkitzen den *Mycobacterium avium paratuberculosis* (“MAP” laburbilduta) bakterioak zerikusia daukala uste da (Chamberlin et al. 2001). Hain zuzen ere, CD-ren banapena (1. Irudia) laktosarekiko tolerantziaren banapenarekin (5. Irudia) bat

datorrela dirudienez, CD eta laktosarekiko iraunkortasunaren arteko erlazioa egon daitekeela proposatu da (Economou eta Pappas 2007; Nolan et al. 2010). Erlazio hau frogatu nahian, Zelanda Berriko populazioan laktosarekiko iraunkorrak ziren indibiduoek CD garatzeko arrisku gehiago zeukatela behatu zen (Nolan et al. 2010). Europako hogeit hamar populazio desberdin aztertu ondoren ere, laktosarekiko tolerantzia eta CD-ren artean lotura zegoela behatu zuten (Juste 2010). Hala ere, populazio alemaniar batean egindako ikerketa batean ez dute korrelazio hau frogatu (Büning et al. 2003). Badirudi, iraunkorrak diren indibiduoek esne gehiago edateko gaitasuna daukatenez, MAP-ren infekzio bat edukitzeko probabilitate handiagoa dutela. Ondorioz, CD garatzeko aukera gehiago daukate (Nolan et al. 2010).



1. Irudia. Crohn gaixotasunaren maiztasun geografikoa herrialde ezberdinetan (Economou eta Pappas 2007 eraldatua).

“Laktosarekiko intolerantzia” eta “laktasa entzimaren urritasuna” kontzeptuek ez dute esanahi bera. Laktosarekiko intolerantzia edozein etiologiagatik, esnea kontsumitzeak sortzen duen ondoreza da, hesteko arazoak sortzen dituen. Laktasa entzimaren urritasuna, berriz, laktasa entzimaren kontzentrazioaren murrizpena da, laktosarekiko intolerantzia sor dezakeena esnea edatekotan. Hitz hauen ildoan, “esnearekiko alergia” ere maiz nahasten da. Kasu honetan, indibiduoak behi esneak dituen proteinei alergia die (Ehrenpreis 2007; Wilt et al. 2007).

Populazio bereko indibiduo ugariak laktosa digeritzeko gaitasuna ez eduki arren, indibiduo bakoitzaren intolerantzia maila ezberdina da. Komentatu dugunez, heldu batzuek intoleranteak izan gabe, ezin dute esnerik kontsumitu hesteko gaixotasunak direla eta (bigarren motako intolerantzia). Baina, normalean, helduak intoleranteak izanik esne kantitate moderatuak edateko gai dira. Intoleranteak inolako sintomarik garatu gabe 250 mL esne jarraian edateko gai direla estimatu da (Savaiano eta Levitt 1987). Indiako populazio batean egindako ikerketa batean, indibiduo intoleranteek inolako sintoma garatu gabe, < 250 mL esne edan zitzaketela ikusi zen, baina edandako kantitateak bolumen hori gainditzekotan, sintomak ager daitezke (Kuchay et al. 2013). Intoleranteen

kasuan, esnerik gabeko dieta bat hartzea ez da guztiz beharrezkoa izango. Izan ere, dietan esnerik ez hartzea ez da batere gomendagarria, osasunarentzat beharrezkoak diren kaltzioaren, A eta D bitaminen eta fosforoaren falta ekiditeko (Swagerty et al. 2002). Hori dela eta, laktosarik gabeko produktu gero eta gehiago saltzen dira (<http://www.lactosa.org/>): Kaiku Sin lactosa, Mañanas Ligeras (Puleva), Savia (Danone) etab. Horrez gain, dietan jogurta eta gazta hartzeko aukera dago. Izan ere, intolerantea den indibiduo batek produktu hauek kontsumituz, esnearen onurak eskura ditzake laktosarekiko intolerantziaren sintomarik garatu gabe (Ehrenpreis 2007).

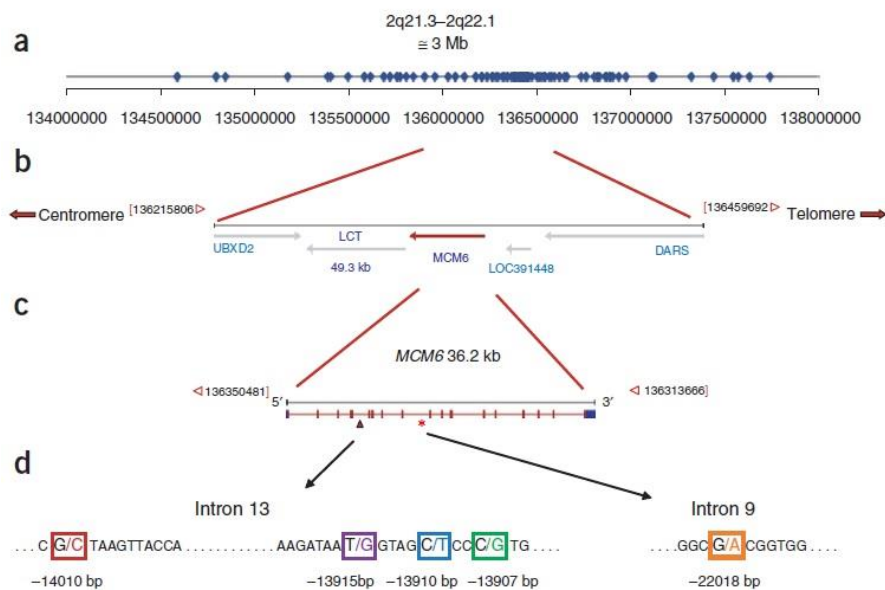
Laktosarekiko intolerantziaren tratamendurako, laktosa gutxiko dietaz gain, indibiduoek laktasa entzimak erabili ahal dituzte esnea kontsumitu baino lehen (<http://www.lactosa.org/>); adibidez, NUTIRA (Laboratorios Salvat) edo LAC-TAS (Laboratorios Dominguez, Argentina). Laktasa dosia indibiduoaren laktasa ekoizpen propioaren arabera izango da. Indibiduoek laktosa hidrolizatua daukan esnea kontsumitzean, esne arrunta kontsumitzean baino sintoma gutxiago garatzen dituela behatu da (Suárez et al. 1995).

Indibiduoaren laktosarekiko duten sentikortasuna neurtzeko, froga mediko ezberdinak erabiltzen dira, batez ere, odoleko glukosa maila, hidrogenoaren froga eta hesteko biopsia (Peña et al. 2002; Ehrenpreis 2007).

- a) Odoleko glukosa mailaren azterketan, gizabanako helduari odoleko glukosa kontzentrazioa baraurik dagoenean neurtzen zaio (glukosa maila basala). Ondoren, ikerketa-indibiduoak 50 g laktosa hartu behar ditu eta ordu bat igaro ondoren, berriro odoleko glukosa kontzentrazioa neurtzen zaio. Ikerketa-indibiduoak laktosa digeritzeko arazorik ez badu, haren glukosa maila, glukosa maila basaletik 20 mg/dL inguru igoko da. Aldiz, intoleranteen kasuan, ez da glukosa kontzentrazioaren emendiorik behatuko.
- b) Hidrogenoaren frogan, ikerketa-indibiduo baten hidrogeno basala (baraurik), 25 g esne kontsumitu ondoren (15-30 min) lortzen den hidrogeno mailarekin konparatzen da. Izan ere, kolonean dauden mikroorganismoek laktosaren hartzidura burutuko dute, hidrogenoa ekoiztuz. Kasu honetan, indibiduo intoleranteen kasuan, esne kontsumoaren ondorioz neurturiko hidrogeno kantitatea maila basala baino altuagoa izango da. Aldiz, ikerketa-indibiduoak laktasa entzimaren iraunkortasuna badu, laktosa digerituko du.
- c) Endoskopia baten bidez, hesteko biopsia bat egitea posiblea da. Esnea edan ondoren, hesteko mukosan laktosa agertzekotan, indibiduo intolerantea dela ondoriozta daiteke. Metodo hau erasokorra denez, ez da askotan erabiltzen.
- d) Froga horiez gain, laktasa genearen eskualdea genotipatzean indibiduo bat laktosarekiko iraunkorra den jakin daiteke.

Laktosarekiko tolerantziaren erregulazio genetikoak

Laktasa laktosa digeritzen duen entzima da eta 2. kromosoman dagoen 50 Kb-ko gene bakar batek kodetzen du, *LCT* geneak (2q21) hain zuzen ere (Harvey et al. 1993). Harrigarria da laktosarekiko iraunkortasuna/ez-iraunkortasunarekin zuzenki erlazionatuta dagoen nukleotidoen aldaketarik ez aurkitzea *LCT* genean. Are harigarriagoa, fenotipoarekin lotura duten polimorfismoak, *LCT*-tik ur gora dagoen *MCM6* genearen 9. eta 13. intronetan egotea (2. Irudia) (Enattah et al. 2002). Beraz, polimorfismo hauek ez dira laktasaren aktibitatearen kodifikatzaileak baizik eta erregulatzaileak: edoskitzaroa eta gero laktasaren sintesia mantentzearen arduradunak dira.



2. Irudia. Bigarren kromosomaren 2q21.3-2q22.1 eskualdearen mapa. (a) 123 SNPen (♦) kokapena eskualde horretan. (b) Besteak beste, *MCM6* eta *LCT* geneen eskualdearen mapa. (c) *MCM6* genearen mapan 9. introna (*) eta 13. introna (Δ) adierazita daude. (d) 9. eta 13. intronetan dauden SNPen kokapena (Tishkoff et al. 2007).

Laktasaren adierazpena, gizakietan zein beste animalietan, heste meheko mekanismo konplexu baten bidez kontrolatuta dago (Swallow 2003). Gene baten adierazpenerako kontrolean *promotoreak* (transkripzioak non hasi behar duen adierazten duten sekuentziak), *sekuentzia erregulatzaileak* eta *transkripzio faktoreak* parte hartzen dute.

Seinale induzigarri baten presentzian, sekuentzia erregulatzaileetara lotuko diren transkripzio faktoreak (ikus aurrerago) sintetizatzen edo aktibatzen dira (Latchman 2005; Fantom 2014). Sekuentzia erregulatzaile hauetariko bat hasiera gunea edo TATA kutxa da, transkripzio hasieratik -30 nukleotido ur goran. RNA polimerasa II-a (RNA pol) TATA sekuentzia horri lotuko zaio transkripzioa hasteko. Lotura hori ahalbidetzeko, alde zuzenetik RNA pol-ri loturiko proteinek TATA kutxari lotuta egon behar dute (Latchman 2005). Transkripzio faktoreak aktibatzaile edota sustatzaile diren sekuentzia erregulatzaileei lotzen zaizkien proteinak dira, gene espezifikoaren transkripzioa bultzatuz edo inhibituz (Fantom 2014). Lotura honek gene baten aktibitatea emendatzen du kromatina

destolestuz edota DNA tolestean transkripzio aparatuko proteinekin elkarri eraginez. Proteina eta sekuentzia hauen lotura gertatzen denean, beraz, transkripzioa erregulatzen da. Gene baten adierazpena modu honetan gertatzen denean, *cis erregulazioari* buruz hitz egiten da (Latchman 2005).

Hain zuzen ere, laktasarekiko iraunkortasuna *cis* erregulazioaren adibide bat da (Wang et al. 1995). Laktasarekiko iraunkortasunarekin lotuta dauden SNP nagusiak (gero ikusiko dugunez, -13910 C/T Europan eta -14010 G/C, -13915 T/G eta -13907 C/G Afrikan) *MCM6* genearen 9. eta 13. intronetan kokatuta daude (2. Irudia) (Enattah et al. 2002). SNP horien kokapena transkripzio faktoreen lotura guneekin (sekuentzia erregulatuzaileekin) bat dator (3. Irudia) (Jones eta Swallow 2011). *MCM6* genearen 13. intronean, Oct-1 eta GATA-6 (-13909 bp-tik -13934 bp-ra), HNF1 α (Oct-1etik 100 bp-ra), HNF3 α /Fox eta HNF4 α (-13857 bp-tik -13817 bp-ra) eta Cdx-2 (-14022bp-tik -14032 bp-ra) transkripzio faktoreen lotura guneak agertzen dira (Lewinsky et al. 2005; Ingram et al. 2009). Lotura gune hauek edoskitzaroa ostean *LCT* genearen aktibitatea mantentzeko ezinbestekoak dira. Hau da, transkripzio faktore hauek *LCT* genearen aktibitatea edoskitzaroa eta gero mantentzen dute, laktosarekiko tolerantzia ondorio gisa sortuz (Lewinsky et al. 2005).

```

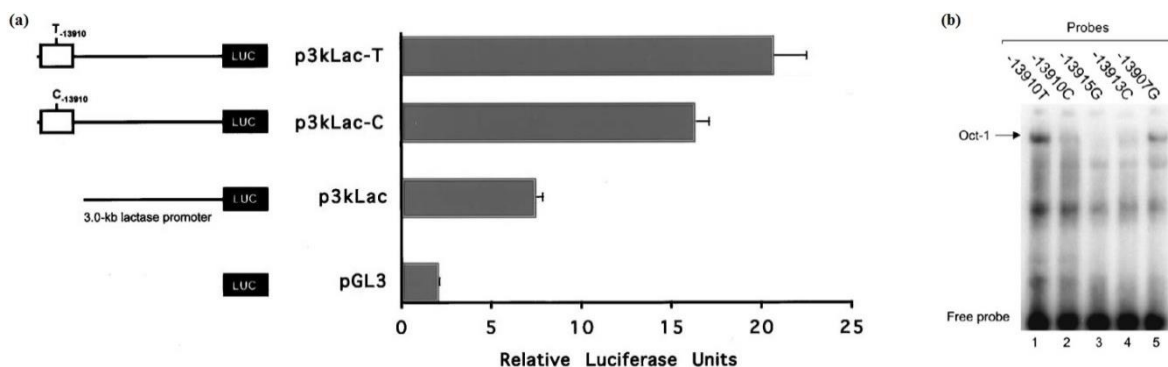
-14133 TTTATGTAACCTGTTGAATGCTCATACGACCATGGAATTCCTCCCTTTAAAGAGCTTGGTAAGCATTGAGTGTAGTTGTTAGACGGAGACGATCACGTC
      Cdx-2
-14034 ATAGTTTATAGAGTGCATAAAGACCTAAGTTACCATTTAATACCTTTCATTTCAGGAAAAATGTAAGTACTAGACCCCTACAATGTACTAGTAGGCCTCTGCGCT
      GATA6
-13934 GGCAATACAGATAAGATAAGTAGTACCTGGCCCTCAAAGGAACTCTCCTCCTTAGGTTGCATTGTATAATGTTTGTATTTAGATTTGTTCTTTGAGCCCT
      Oct-1
-13833 GCATTCACGAGGATAGGTCAGTGGGTATTAACGAGGTTAAAGGGGAGTAGTACGAAAGGGCATTCAAGCGTCCCCTCTCGCTTCAACCAAAGCAGCCC
      HNF3 $\alpha$ /Fox HNF4 $\alpha$ 
-13733 TGCTTTTTCCTAGTTTATTAATAGGTTTGATGTAAGGTCGCTTTTGAAA -13684

```

3. Irudia. *MCM6* genearen 13. intronaren eskualdea, zeinean laktasarekiko iraunkortasunarekin loturiko SNP garrantzitsuenak eta hainbat transkripzio faktoreen lotura guneak agertzen diren (Ingram et al. 2009).

Gene baten adierazpena aztertzeko luziferasan oinarritutako teknikak erabiltzen dira. Laktasarekiko iraunkortasunaren kasuan, luziferasa genea daukaten Caco2 zelulak erabiltzen dira. Koloneko tumore zelula hauek enterozitoen antzeko ezaugarriak dituztenez, laktasaren adierazpena neurtzeko erabilgarriak dira. Horretarako, Caco2 zeluletan luziferasa genea eta laktosaren promotorea dauzkan konstruktoa diseinatu da. Laktasarekiko iraunkortasunarekin loturiko SNPek (ikus [Banaketa geografikoa atala](#)), luziferasa genean duten eraginaren arabera, luziferasa unitate erlatibo (RLU) ezberdinak ekoiztuko dituzte. Modu honetan, *MCM6*-ko SNP bakoitzak *LCT* genean eduki dezakeen eragina ondoriozta daiteke (Olds eta Sibley 2003; Tishkoff et al. 2007). Adibide gisa, 4a. Irudian, -13910 C/T SNPak laktasaren adierazpenean duen eragina beha daiteke: laktasaren promotorean -13910 nukleotidoan T agertzen denean, RLU balioa >20 u-koa da, aldiz, C agertzean, RLU-ren balioa 15-20 u tartera mugatzen da. Beraz, transkripzio faktoreen afinitatea altuagoa da T aleloarekiko (>20 u). Hau da, transkripzio faktoreek modu eraginkorrago batean eragingo dute -13910 nukleotidoan T bat dagoenean C bat dagoenean baino (Olds eta Sibley 2003).

RLU ekoizpena aztertzeaz gain, transkripzio faktoreen eta aleloen arteko interakzioak aztertzeko, EMSA froga ere egin daiteke. Honetan, elektroforesi gel batean intereseko sekuentzia eta transkripzio faktorea migra daitezke. Transkripzio faktore horrek sekuentziarekin lotura estua edukitzekotan, pisu molekular handiko konplexu bat eratuko da eta gelean gutxiago migratzen duela ikusiko da. Hau da, 4b. Irudian, Oct-1 transkripzio faktorearekin batera bost sekuentzia migratu dira zeinetan laktasarekiko iraunkortasunarekin erlazionaturiko SNP ezberdinak dauden. Beha daitekeenez, 1.go zutabea (-13910 T), pisu molekular handiko konplexu bat eratu da, Oct-1 faktoreak sekuentziari lotu dela azalduz. Honek, Oct-1 faktoreak -13910 T aleloarekin lotzeko afinitate altuagoa daukala adierazten du. Beraz, T aleloa dagoenean, laktasaren adierazpena burutuko da (Enattah et al. 2008).



4. Irudia. (a) Caco2 zeluletan egindako luziferasa eta laktosa promotorearen konstruktio desberdinen eragina. Luziferasa genea (LUC) bakarrik agertzean, RLU ekoizpen minimoa agertzen da: 0-5 u. Laktosa promotorea eraikitzean, RLU ekoizpena 5-10 u tartekoa da. Promotorean -13910 nukleotidoan C bat agertzean RLU ekoizpena 15-20 u-koa da. Promotorean -13910 nukleotidoan T bat agertzean RLU ekoizpena maximoa da: 20-25 u (Olds eta Sibley 2003 eraldatua). (b) EMSA froga Oct-1 transkripzio faktorea eta DNAREN arteko interakzioak aztertzeko. (1) -13910 T aleloak eta Oct-1 proteinak pisu molekular handiko konplexu bat eratu dute. (2-5) -13910 C, -13915 G, -13913 C eta -13907 G aleloak eta Oct-1 proteinak ez dute loturarik eratu (Enattah et al. 2008 eraldatua).

Teknika hauek erabilita, transkripzio faktore bakoitzak SNPen alelo bakoitzarekiko duen afinitatea ondorioztatu da. Oct-1 faktorearen lotura gunean -13910 C/T eta -13915 T/G SNPak daude eta hauetatik hurbil, -13907 C/G SNPak (3. Irudia). Afrikan laktasarekiko iraunkortasuna adierazten duen beste SNPak, -14010 C/G, Cdx-2 faktorearen lotura gunetik hurbil dago (3. Irudia) (Lewinsky et al. 2005; Ingram et al. 2007; Enattah et al. 2008; Ingram et al. 2009). Laktasarekiko iraunkortasuna adierazten duen -13910 T aleloak, ez iraunkortasuna adierazten duen -13910 C aleloak baino estukiago lotzen zaio Oct-1 transkripzio faktoreari (4. Irudia) (Lewinsky et al. 2005). Oct-1 transkripzio faktorearen sekuentziatik hurbil dagoen laktasarekiko iraunkortasunaren -13907 G aleloak, -13910 T aleloaren antzeko lotura maila dauka (Enattah et al. 2008). Afrikan, -13915 G aleloak laktasarekiko iraunkortasuna adierazten duen arren, laktasarekiko ez iraunkortasuna adierazten duen -13910 C aleloa baino ahulago lotzen da Oct-1 gunean (Ingram et al. 2007; Enattah et al. 2008). Honek zera adierazten

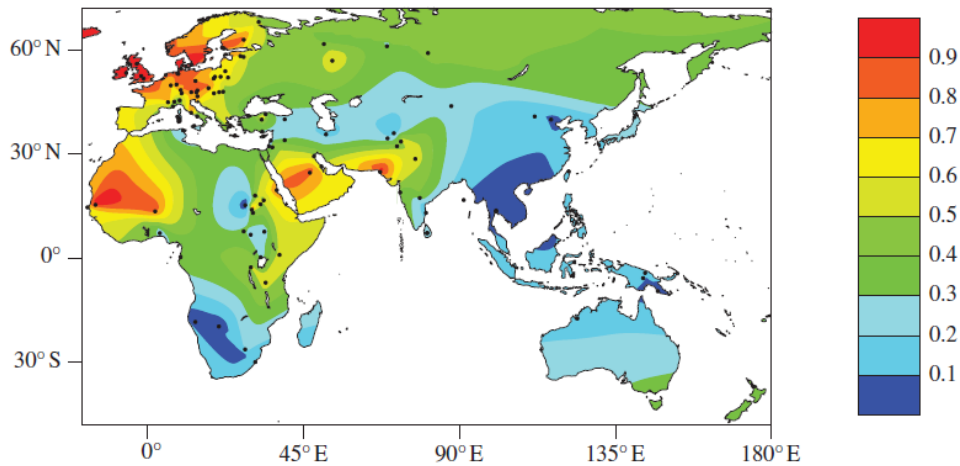
du: transkripzio faktoreek Europan laktasarekiko iraunkortasunarekin erlazionaturiko SNPekin, Afrikakoekin baino askoz ere afinitate altuagoa dutela.

Baina, *LCT* genearen erregulazioaren faktore genetikoez gain, laktasaren adierazpenean beste faktore batzuek ere eragina daukate (Swallow 2003). Proteina baten sintesian zehar proteina horrek heldu egin behar du. Heltze prozesua egokia ez bada (proteina ondo tolestu ez delako adibidez), laktasaren aktibitate maila baxua edo ohikoaren desberdina izan daiteke. Beste alde batetik, enterozitoen DNAREN metilazio maila desberdina izan daiteke. Honek laktasaren aktibitate ezberdina sortzen du zelulaz zelula, hau da, zenbait indibiduoetan laktasaren aktibitateari dagokiola, mosaiko bat agertzen da (Maiuri et al. 1994).

Banaketa geografikoa

Laktasaren aktibitatearen fenotipo desberdinek, banaketa geografiko desberdina azaltzen dute (5. Irudia). Laktosarekiko toleranteak diren populazioak artzaintzaren garapenarekin loturiko herrialdeetan agertzen dira (Simoons 1969; McCracken 1971). Orokorrean, Afrika, Asia eta Europako populazioaren gehiengoak (% 65) ez du laktasarekiko iraunkortasunik (Ingram et al. 2009), baina Europako ipar mendebaldean, laktasarekiko iraunkortasunaren maiztasun handienak aurkitzen dira, Finlandian % 100a izanik (Enattah et al. 2002). Europako hegoalde zein ekialdera mugitu ahala, maiztasun horiek gero eta baxuagoak dira. Asiako populazio helduan ezaugarri arruntena laktosa digeritzeko gaitasunik ez izatea da. Hala ere, Indiako populazioan iraunkortasunaren maiztasun nahiko altuak behatu dira (Ingram et al. 2009), batez ere iparraldean (% 63) (Hollox eta Swallow 2002). Afrikan laktasarekiko iraunkortasunaren banaketa partxekatua da (Swallow 2003): esne kontsumoaren historia luzea duten populazioetan (Sudaneko Beja eta Nigeriako Fulani taldeak) iraunkortasunak portzentaje altuak lortzen ditu, baina esnearen erabilera garatu ez duten eta esnea kontsumitzen duten populazioetatik hurbil bizi diren populazio afrikar batzuetan (Sudaneko Nilotes eta Nigeriako Yoruba taldeak), iraunkortasun maila baxuak azaltzen dira (Ingram et al. 2009).

Laktosaren digestiorako fenotipoen maiztasunak banapen geografiko desberdina duten bezala, laktasarekiko iraunkortasunaren arduradun diren SNPen maiztasunak ere aldakorrek dira. Horrenbestez, Europan laktosarekiko tolerantziarekin lotuta bi SNP daude: -13910 C/T (rs4988235) eta -22018 G/A (rs182549). Finlandiako laktosarekiko tolerantteen % 100a eta europar populazioko laktosarekiko tolerantteen gehienetan -13910 T aleloa agertzen da (Enattah et al. 2002). Ikusi dugunez luziferasan oinarritutako teknikak erabiliz (4a. Irudia), T aleloak *LCT* promotorearen aktibazioan C aleloak baino hobeto eragiten du (Olds eta Sibley 2003). Horregatik europar tolerante gehienetan T aleloa aurkituko da.



5. Irudia. Laktasarekiko iraunkortasunaren banaketa Afrikan, Asian eta Europan. Europaren Iparraldean iraunkortasunaren maiztasun altuenak aurkitzen dira. Afrikan, ordea, iraunkortasunaren banaketa ez da hain homoginoa, parteketa da. Asian maiztasun baxuenak aurkitzen diren arren, herrialde batzuetan laktasarekiko iraunkortasun maiztasun nahiko altuak aurkitzen dira, Indian adibidez (Ingram et al. 2009).

Afrikako egoera erabat ezberdina da. Afrikako populazioen genoman ez da Europan agertzen den SNP bera (-13910 C/T) aurkitu (Mulcare et al. 2004). Honek giza populazioetan laktosarekiko tolerantziaren mutazio bakarra eman ez zela adierazten du. Adibidez, Afrikan laktasarekin erlazionatuta SNP ugari aurkitu dira (rs145946881, rs4988233, rs41380347 eta rs41525747). Hala ere, -14010 G/C (rs145946881) da maiztasun handiena agertzen duena (Olds eta Sibley 2003). Beraz, laktasarekiko iraunkortasuna *eboluzio konbergentearen* adibide bat da (Sverrisdóttir et al. 2014).

Asiako populazioetan, laktasarekiko iraunkortasunarekin lotuta dauden SNPak Europan agertzen diren berdinak dira, -13910 C/T India eta Israelen batez ere (Kuchay et al. 2013; Raz et al. 2013) eta -22018 G/A Txinan (Xu et al. 2010). Honek Asiako eta Europako populazioetan laktosarekiko tolerantziaren jatorria bera izan zitekeela iradokitzen du. Hala ere, Saudi Arabian -13915 T/G SNPa da laktasarekiko iraunkortasunarekin erlazionatuta dagoena (Imtiaz et al. 2007). SNP hau Afrikako populazioetan ere agertu da baina Saudi Arabian baino maiztasun baxuagoan (Ingram et al. 2007). Eskualde hauetan laktasarekiko iraunkortasunaren -13915 G aleloaren banaketa behatuta, SNP hau Afrikatik Saudi Arabiara mugitu zela ondoriozta daiteke (Richards et al. 2003).

Azaldu den moduan, laktasarekiko iraunkortasunaren ezaugarriarekin lotuta, SNP ugari daude. Horiatariko batzuk eskualde ezberdinetan berdinak dira baina beste eskualde batzuetan (Afrika eta Europa) laktasarekiko iraunkortasunerako aztertu diren SNPak erabat ezberdinak dira. Honek, laktosarekiko tolerantziak eboluzio konbergentea izan duela adierazten du (Sverrisdóttir et al. 2014). Hau da, antzeko inguruneetan bizi diren populazioak era independentean laktosa digeritzeko ahalmena garatu dute.

SNPen adina

Laktosa digeritzeko gaitasunarekin lotuta dauden SNPen adina estimatzeko (*LCT-MCM6* eskualdean), ikertzaileek metodo ezberdinak erabili dituzte. Europaren kasuan, laktosa digeritzeko gaitasunarekin lotuta dagoen -13910 T aleloaren adina, mikrosateliteen metaketan oinarritutako metodo bi erabilia estimatu da: *Ytime* programa (Behar et al. 2003) eta -13910 T aleloarekin erlazonaturiko mikrosateliteen maiztasunaren murrizpena erakusten duen metodoa (Seixas et al. 2001). *Ytime* programa Y kromosoman oinarrituta dago, hori dela eta, ez du errekonbinazioarik onartzen. Beraz, programa honen arabera, genomak gertaturiko aldaketak mutazioen ondoriozkoak dira (Behar et al. 2003). Metodo honek -13910 T aleloa duela 4125-11000 urte sortu zela estimatu du. Aldiz, errekonbinazioa onartzen duen metodoak, 7500-3000 urteko tartea proposatzen du (Coelho et al. 2005). Ikertzaile bakoitzak datazioa estimatzeko metodo ezberdinak erabiltzen dituzenez, laktasarekiko iraunkortasunaren jatorriaren datak aldakorrak dira. Dena den, tarte horiek laktasarekiko iraunkortasuna Neolito garaian sortu zela adierazten dute.

Afrikako egoera, esan den bezala, beste eskualdeekiko ezberdina da, bertan aurkitu diren SNPen dibertsitatea askoz zabalagoa baita. Afrikan aurkituriko -14010 C aleloa, duela 23200-1200 urte sortu zela proposatu da (Tishkoff et al. 2007), hautespen naturala eta errekonbinazioa kontuan hartzen dituen *SelSim* izeneko programa erabilia (Spencer eta Coop 2004).

Hautespen naturalaren detekzioa

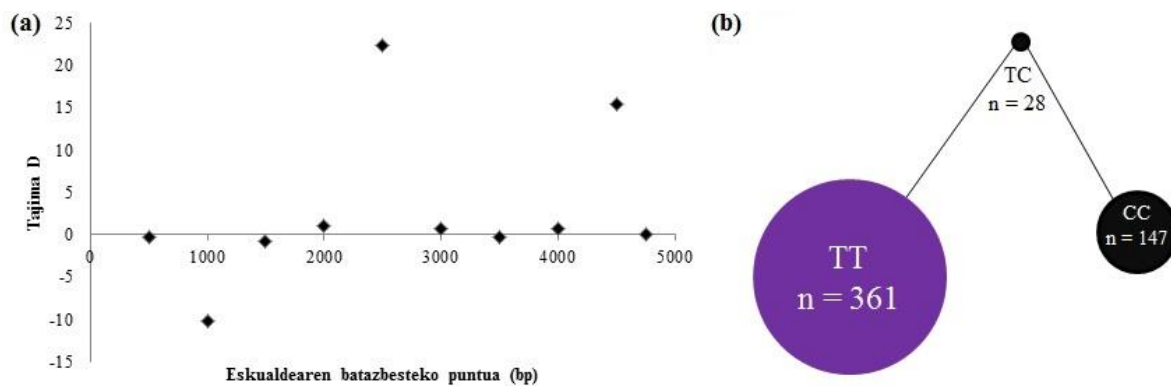
Gainontzeko ugaztunekin konparatuta, gizakia da ugaztun bakarra edoskitzaroa ondoren laktosa digeritzeko gai dena. Honek aitzinean ezaugarri honen egoera arrunta laktasarekiko ez iraunkortasuna zela adierazten du (Jobling et al. 2011). Laktasarekiko iraunkortasuna duten indibiduoek intoleranteekin konparatuz, abantaila daukate; toleranteek esneak eskaintzen dituen onurak aprobetxa ditzaketelako, besteek ez ordea. Honez gain, esnea kontsumitzen duten populazioetan iraunkortasunean eragiten duten aleloen maiztasunak oso altuak direnez, hautespen naturalak toleranteen alde egin zuela proposatzea zentzuzkoa dirudi.

Populazioen genetikan, hautespen naturala, ingurumen zehatz batean, genotipo desberdinen arabera gizabanakoek bizirauteko probabilitate eta ugaltzeko gaitasun desberdina izatea eragiten duen prozesua da. Hautespen naturalak laboratuko duen genotipoaren arabera, hiru hautespen mota daude: *egonkortzailea* (heterozigotoaren abantaila), *direkzionala* (homozigoto baten abantaila) eta *dibertsifikatzailea* (heterozigotoen desabantaila). Hautespen direkzionalaren barnean, populazioen fitness-a emendatzen duten mutazioek, hautespen positiboa jasango dute.

Laktasarekiko iraunkortasuna zein hautespen motaren menpe egon den frogatzeko analisi metodo ezberdinak erabili dira: F_{ST} eta EHH (Bersaglieri et al. 2004). Populazio batean dauden

maiztasun alelikoen konparazioa egiteko, F_{ST} estatistikoa estimatzen da (Akey et al. 2002). EHH metodoak (Extended Haplotype Homozygosity), zoriz aukeraturiko bi kromosomek haplotipo bera eramateko duten probabilitatea neurtzen du. Beraz, errekonbinaziorik jaso ez duen haplotipoen transmisioa detektatzen du (Sabeti et al. 2002). F_{ST} eta EHH metodoak erabilia, *LCT* genea hautespen natural positiboan egon dela egiaztatu da: laktasarekiko iraunkorren aldeko hautespena, populazioak Europara migratu ondoren gertatu zen (duela 5000-10000 urte), laktosarekiko tolerantzia izatea abantailatsua baitzen (Bersaglieri et al. 2004).

Metodo hauek, SNPen haplotipoak aztertuz ezaugarri batek hautespen positiboa jaso duen frogatzeko erabiltzen dira. Gaur egun, eskualde luzeak sekuentziatzea ekonomikoki eskuragarria denez, hautespen naturala detektatzeko sekuentzia osoak erabiltzea metodo arrunta bihurtzen ari da. Haplotipoak baino DNA sekuentziak erabiltzea abantailatsua da, informazio gehiago ematen dutelako. Kasu honetan, hautespen positiboaren presentziaren frogapenerako Tajima-ren D (Tajima 1989), Fu-ren FS (Fu 1995), Fay eta Wu-ren H (Fay eta Wu 2000) eta Zeng taldearen E frogak (Zeng et al. 2006) erabiliko dira. Dena den, literaturan DNA sekuentzietan oinarritutako laktasarekiko iraunkortasunaren hautespenaren analisisirik ez dugu aurkituko. Horregatik, eta lan hau osatzeko, -13910 C/T SNParen inguruko gutxi gorabehera 5kb-tako eskualdearen datuak Europako iparraldeko populazioetan (CEU; FIN; GBR; 2N = 536 kromosoma) 1000Genomas proiektutik eskuratu ditugu, SPSmart (spsmart.cesga.es) programaren bidez. Datu genotipikoak datu haplotipikoetan bihurtu ditugu Antropologiako taldeko ikerlari batek (S Alonso) garaturiko softwareari esker. DnaSP 5.0 (www.ub.edu/dnasp/) erabili da datu horiek analizatzeko.



6. Irudia. (a) -13910 C/T SNParen inguruko eskualdeko (5kb) batez besteko puntu ezberdinen Tajima-ren D estatistikoaren balioaren neurketa. 2000-3000 bp-ko eskualdean Tajima-ren D balio esanguratsua ikus daiteke. (b) -13910 C/T SNParen inguruan dagoen eskualde batean (2000-3000 bp) agertzen diren hiru haplotipoen (TC, TT eta CC) network-a. TT haplotipoa da Europako iparraldeko populazioetan maiztasun altuenak agertzen dituen.

6a. Irudian ikus daitekeenez, -13910 C/T SNParen inguruan badago eskualde bat (2000-3000 bp artean) zeinak hautespenaren seinaleak erakusten dituen ($p(\text{Taj.D} > 2.243) = 0.04$) (koaleszentea

erabiliz, 1000 simulazio egin ondoren lortutako probabilitatea). Tajima-ren D balioa positiboa izateak populazioan bi alelo (C eta T) daudela adierazten du. Horietariko bat, eratorria (T), laktasarekiko iraunkortasunaren arduraduna da. Honek maiztasun oso altuak lortu ditu, daukan abantaila ebolutiboa dela eta. Datu hauek EHH testarekin lorturiko emaitzekin bat datoz (Bersaglieri et al. 2004). Gainera, Network 4.6.12 erabilia eskualde horretan (2000-3000 bp) dauden hiru haplotipoen (TC, TT eta CC) network-a egin da (6b. Irudia). Honetan laktasarekiko iraunkortasunarekin loturiko haplotipoa TT dela beha daiteke, bigarren aleloa (T) iraunkortasunarekin erlazionaturiko eratorritako aleloa izanik.

Gene-kultura koeboluzioa eta laktosarekiko tolerantzia izatearen abantailak

Kulturak, indar ebolutibo moduan, maiztasun alelikoetan eragina daukanean, *gene-kultura koeboluzioa* dagoela esaten da (Jobling et al. 2011). Laktosarekiko tolerantzia artzaintzaren garapenarekin (beraz, esnearen erabilerarekin) koeboluzionatu zuela proposatu da (Gerbault et al. 2011): esnea, dituen ezaugarri onuragarriengatik, gizakien dietan sartu zenean, gizaki tolerantzak (hasierako populazioetan gutxiengoa zirenak) faboratuak izan ziren, laktasarekiko iraunkortasuna sortuz. Hortaz, laktasarekiko iraunkortasuna Neolitoaren garapenak faboratu zuen moldapena da.

Helduen laktasarekiko iraunkortasunaren banapena (ikus [Banaketa geografikoa atala](#)) azaltzeko bi hipotesi planteatu dira: kultura historikoaren hipotesia eta kausa-erreserba hipotesia. *Kultura historikoaren hipotesiaren* (Simoons 1969; McCracken 1971) arabera, Neolito aurreko populazioetan laktasarekiko iraunkorrek ziren indibiduo gutxi zeuden. Esneak eskaintzen dituen abantaila onuragarriak direla eta, indibiduo tolerantzak ez tolerantzak baino ondorengo gehiago utzi zituzten, belaunaldi batetik bestera, populazioan laktasarekiko iraunkortasunaren maiztasunak emendatuz. Beraz, laktasarekiko iraunkortasuna esneak dietaren parte gero eta handiagoa hartzen zuen heinean hedatu zen (Ingram et al. 2009).

Kausa-erreserba hipotesiak (McCracken 1971), aldiz, esnearen kontsumoa laktasarekiko iraunkortasunaren maiztasun altuak edo moderatuak zituzten populazioetan bakarrik ezarri zela defendatzen du, hau da, laktosa digeritzeko gaitasuna zeukaten populazioetan bakarrik hasi zela esnearen kontsumoa.

Planteaturiko bi hipotesien artean, kultura historikoaren hipotesia indartsuena da, antzinako DNAtik lorturiko datuekin bat datorrelako (ikus [Datu paleogenetikoak atala](#)). Dena den, bi hipotesien arabera, esnearen erabileragatik populazioetan laktasarekiko iraunkorren maiztasunak emendatu ziren. Zenbait egoeratan indibiduoak laktosarekiko tolerantzak izatea abantailatsua izan zitekeen (Ingram et al. 2009; Gerbault et al. 2011):

- a) *Kaltzioaren xurgapenaren hipotesia* (Flatz eta Rotthauwe 1973): kaltzioa hezurren osasunerako ezinbestekoa da eta D bitamina kaltzioaren xurgapenerako beharrezkoa da.

Gizaki gehienek D bitaminaren ekoizpen propioa dute azalean, eguzkiaren eraginez. Hala ere, latitude altuetan (Europako iparraldean) bizi diren populazioek D bitaminaren falta eduki dezakete, bertako eguzkiaren erradiazio ultramorearen oso baxua baita. Neolito garaian herrialde horietan bizi ziren ehiztari-biltzaileek arazo hori arrainen ehizaz konpontzen zuten (D bitamina-iturri delako), baina nekazaritza-abelzaintzaren garapenarekin batera, arrainen kontsumoa murriztu zenez, gizakiek arazo larriak zituzten kaltzioaren xurgapenerako. Kaltzioaren xurgapenaren garrantzia dela eta, latitude altuko herrialdeetan laktosarekiko tolerantien maiztasuna oso altua da.

- b) *Klima lehorraren hipotesia* (Cook eta Al-Torki 1975): ur gutxi dagoen herrialdeetan esnea ur-iturri ona dela proposatu da. Esnea edateko gaitasuna edukitzeak deshidratazioaren aurkako babesak dakar, beraz, herrialde hauetan laktosarekiko tolerantien maiztasuna oso altua da.
- c) *Malariaren aurkako babesaren hipotesia* (Anderson eta Vullo 1994): flabina maila baxua daukaten indibiduoek malariatik babestuta daude. Esnearen kontsumoak riboflabinaren maila emendatzen duenez, malaria pairatzeko arriskua emendatzen du. Beraz, malaria dagoen herrialdeetan laktosarekiko ez-iraunkortasuna izan zen faboratua.
- d) *Barrera ekologikoaren hipotesia* (Bloom eta Sherman 2005): artzaintza garatzeko zailtasunak dituzten eskualdeetan laktosarekiko intolerante gehiago daude, basa-animaliak zaintzeko, eta ondorioz, esnea ekoizteko ingurune egokiak ez direlako.

Datu paleogenetikoak

Neolitizazioa, arlo ezberdinetan aldaketa ugari ekarri zituen prozesua izan zen: teknologian (tresna berrien sorrera), demografian (populazioen hedapena lurralde berrietara eta horiei moldatzea), gizarte antolaketan (talde bizimodu sedentarioa) eta biologian (ezaugarri berrien agerpena). Teknologia berri hau lurralde ezberdinetan momentu ezberdinetan gertatu zen arren, nekazaritzaren lehenengo jatorri puntua orain dela 11-12 mila urte Anatoliaren hegoaldean (gaur egungo Iranen) sortu ondoren, gainontzeko lurraldetara hedatu zen (Jobling et al. 2011). Eskualde horri *Fertile Crescent* izena eman zitzaion (Breasted 1916), eskualdearen ezaugarri ekologiko eta kulturalak kontuan hartuz. Sorrera puntuetatik nekazaritza eskualde ezberdinetara ailegatu zen. Hedapena, ekialde-mendebalde ardatzean, iparralde-hegoalde ardatzean baino errazagoa izan zen, latitude berean eman zelako (Diamond 2002).

Neolitoa garatu zenean, populazioak lurra landatzen hasi ziren eta geroago, artzaintza aritu ziren. Animalien zaintzaren helburuak janariaren produkzioa edota esnearen produkzioa izan daitezke (Payne 1973). Esneak eskaintzen dituen onurak denbora luzez aprobetxatzeko asmoz, giza kultura ezberdinetan zenbait metodo garatu dira esnearen kontserbaziorako (*moldatura kulturala*): gazta eta jogurta dira esnea zuzenean kontsumitu gabe esneak dituen onurak eskuratzeko estrategiak. Azaldu

den moduan, produktu hauek laktosa maila gutxiago dutenez, esnearen propietate onuragarriak heldutasunean aprobetxatzeko aukera ere eskaintzen dute (Evershed et al. 2008).

Animaliak hil gabe, hauen produktuak erabiltzea puntu garrantzitsu bat izan zen artzaintzan (Sherratt 1983). Hala ere, praktika horiek non eta noiz burutu ziren azaltzea zaila da. Nekazari-abeltzainen aztarnak aurkitu diren hainbat aztarnategietan, *Lineadbandkeramik* (LBK) kulturari dagozkien zulodun zeramika zatiak aurkitu dira. Zeramikako zati hauetan agerturiko lipidoen analisisen garapenak esnea noiz erabiltzen hasi zen zehazten laguntzen du. Anatoliako ipar mendebaldeko aztarnategi ezberdinetan aurkituriko ontzietan ikerketa hauek aplikatu dira eta esnearen produkzioa modu eraginkorrean duela 6-7 mila urte burutzen zela behatu da (Evershed et al. 2008). Zeramika zatietan aurkituriko gantzen azterketaz baliatuz ere, Hungariako Panoniako ordokian esnearen produkzioa orain dela 7 mila urte (Craig et al. 2005) eta, gutxi gorabehera, ehun urte geroago, Britainia Handian (Copley et al. 2003) hasi zela ikusi da. Afrikari dagokionez, badakigu Neolitoa beranduago garatu zela. Afrikan aurkituriko zeramikako zatietan egindako gantzen beste analisi batzuek, Saharako populazioek esnea duela 5 mila urte erabiltzen hasi zirela adierazi dute (Dunne et al. 2012).

Teknologiaren garapenari esker, arrasto biologikoetatik DNA (aDNA, antzinako DNA) erauztea eta analizatzea posiblea da. Hasiera batean, bakarrik ondo kontserbaturiko aztarnetatik DNA laginak analizatzea posiblea zen. Ondoren, PCRaren garapenari esker, batez ere, DNA mitokondrial (mtDNA) aztertzeo aukera sortu zen. Gaur egun, PCRa erabiltzen jarraitzen den arren, sekuentziazio masiboari esker lagin batean dagoen informazio genetiko guztia (mtDNA eta DNA nuklearra) sekuentziazioa posiblea da, nahiz eta laginean intereseko DNArekin batera esaterako, patogeno baten genoma egon (Gilbert 2006). Teknika hauek erabilita, Neandertalen eta Denisobatarren genoma mitokondrial eta nuklearra aztertu dira, zeinei esker bi espezie horien eta *Homo sapiens*-aren arteko hibridazioa gertatu zela behatu den (Green et al. 2010; Reich et al. 2010).

Beraz, antzinako aztarna batzuetatik aDNA erauztea eta analizatzea posiblea denez, populazio horien eboluzioa ikertzeko aukera dago. Hain zuzen ere, datu arkeologikoetan oinarrituta, aitzineko nekazari-abeltzainen aktibitatea azter daiteke, eta ^{14}C froga eginez, aktibitate hori noiz burutu zen datatu daiteke (Jobling et al. 2011).

Zenbait ikerketatan antzinako populazioen laktasarekiko iraunkortasunaren egoera aztertu da, Europako Neolito garaiko gune ezberdinetan aurkituriko aztarnen aDNA ikertuz (Burger et al. 2007; Malmström et al. 2010; Plantinga et al. 2012). Erdialdeko Europan egindako aDNA azterketek, Neolito hasierako populazio nekazariak, oraindik esnearen erabilerara moldatu gabe zeudela azaldu dute. Izan ere, aDNA laginetan ez da -13910 T aleloa ikusi (Burger et al. 2007). Honen alde, Iberiar Penintsulan egindako ikerketa batean ere, antzinako populazioetan -13910 T aleloa gaur egungo populazioetan baino maiztasun baxuagoan agertzen zela behatu da (Plantinga et al. 2012). Dirudienez,

Neolitoa Europara ailegatu zenean, laktasarekiko iraunkorrak ziren indibiduo kopurua baxua zen. Beraz, mutazioa populazioan bazegoen, eta esnearen erabilerak eskaintzen zituen onurak direla eta, hautespen naturalak laktasarekiko iraunkortasunaren aleloaren alde egin zuen (ikus [Hautespen naturalaren detekzioa atala](#)). Antzineko populazioen eta gaur egungoen arteko desberdintasunak azaltzeko ere, gaur egungo Europako zenbait populazioen aitzindariak nekazari-abeltzainen populazioetatik ordeztuak izan zirela proposatu da (Malmström et al. 2010).

ONDORIOAK

Laburbilduz, ugaztun jaioberri guztiak laktosa kantitate handiak digeritzeko gai dira, betiere, *LCT* genearen bi kopia akasduak ez edukitezotan. Gizakian gaitasun hori edoskitzaroa ondoren mantentzeko baldin eta *LCT* genearen erregulazioa jarraitzen bada. Cis erregulazioaz *MCM6* genean agertzen diren SNP batzuk (aldakorrak eskualde batetik bestera) arduratzen dira: SNP hauen aleloen arabera, transkripzio faktoreen loturaren estutasuna ezberdina izango da, *LCT*-ren adierazpena heldutasunean mantenduz edo ez. Honen arabera, populazio helduan indibiduo tolerantak eta ez tolerantak daude. Esnea heldutasunean digeritzeko gaitasuna Neolitoaren sorrerarekin erlazioa daukala ikusi dugu (gene-kultura koeboluzioa). Ingurune egoera ezberdinetan, populazioak laktosarekiko tolerantak izatea abantailatsua izan denez, ezaugarri honek hautespen positiboaren indarraren eragina jaso duela ondoriozta daiteke.

Lan honetan giza eboluzioan gertaturiko moldapen biologiko bat ikuspuntu ezberdinetatik aztertu da. Giza moldapen biologikoak aztertzeak ezagumendu zientifikoa handitzeaz gain, giza espeziea, ingurumenari aurre eginez, bizirauteko eta aurrera egiteko gai izan zela erakusten du. Gainera, kasu honetan, Afrikara bidaltzen diren elikagaien artean esnea zergatik ez den bidaltzen ulertzen laguntzen du.

Etorkizunari begira, Thomas, Burger eta Collins-ek 2009an eraturiko *LeCHE proiektua* (Lactase persistence in the early Cultural History of Europe) aipatzea interesgarria izan daiteke. Proiektu honen helburua Europako populazioen esnearen erabileraren jatorria eta funtzioa azaltzea da. Gainera, esnearen erabilera populazio europarretan nola hedatu zen azaltzea ere lortu nahi dute (Curry 2013).

BIBLIOGRAFIA

- Akey J, Zhang G, Zhang K et al. (2002). Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. *Genome Res.* 12:1805-1814.
- Anderson B, Vullo C (1994). Did malaria select for primary adult lactase deficiency? *Gut.* 35:1487-1489.
- Behar DM, Thomas MG, Skorecki K et al. (2003). Multiple origins of Ashkenazi Levites: Y chromosome evidence for both Near Eastern and European ancestries. *Am J Hum Genet.* 73:768-779.
- Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N et al. (2004). Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. *Am J Hum Genet.* 74:1111-1120.
- Bloom G, Sherman PW (2005). Dairying barriers affect the distribution of lactose malabsorption. *Evol Human Behav.* 26:301-312.
- Breasted JH (1916). *Ancient times, a history of the early world: an introduction to the study of ancient history and the career of early man.* (arg. Ginn and Co). Chicago.
- Büning C, Ockenga J, Krüger S et al. (2003). The C/C (-13910) and G/G (-22018) genotypes for adult-type hypolactasia are not associated with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroentero.* 38:538-42.
- Burger J, Kirchner M, Bramanti B et al. (2007). Absence of the lactase-persistence-associated allele in early Neolithic Europeans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104: 3736-3741.
- Chamberlin W, Graham DY, Hulten K et al. (2001). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* as one cause of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 15:337-346.
- Coelho M, Luiselli D Bertorelle G et al. (2005). Microsatellite variation and evolution of human lactase persistence. *Hum Genet.* 117: 329-339.
- Cook GC, Al-Torki MT (1975). High intestinal lactase concentrations in adult Arabs in Saudi Arabia. *Br Med J.* 3:135-136.
- Copley MS, Berstan R, Dudd SN et al. (2003). Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 100:1524-1529.
- Craig OE, Chapman J, Heron C et al. (2005). Did the first farmers of central and eastern Europe produce dairy foods? *Antiquity.* 79:882-894.
- Curry A (2013). The milk revolution. *Nature.* 500:20-22.

Diamond J (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*. 418:700-707.

Dunne J, Evershed RP, Salque M et al. (2012). First dairying in green Saharan Africa in the fifth millennium BC. *Nature*. 486:390-394.

Economou M, Pappas G (2007). New global map of Crohn's disease: genetic, environmental and socioeconomic correlations. *InflammBowel Dis*. 14:709-720.

Ehrenpreis ED (2007). Lactose Intolerance: definition, symptoms and treatment. International Foundation for Functional Gastrointestinal Disorders, 122. (<http://www.iffgd.org>).

Enattah NS, Sahi T, Savilahti E et al. (2002). Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet*. 30:233-237.

Enattah NS, Jensen TG, Nielsen M et al. (2008). Independent introduction of two lactase-persistence alleles into human populations reflects different history of adaptation to milk culture. *Am J Hum Genet*. 82:57-72.

Evershed RP, Payne S, Sherratt AG et al. (2008). Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*. 455:528-531.

Fantom (2014). A promoter-level mammalian expression atlas. *Nature*. 507:462-471.

Fay JC, Wu CI (2000). Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics*. 155:1405-1413.

Flatz G, Rotthauwe HW (1973). Lactose nutrition and natural selection. *Lancet*. 2:76-77.

Fu YX (1995). Statistical properties of segregating sites. *Theor Popul Biol*. 48:172-197.

Gerbault P, Liebert A, Itan Y et al. (2011). Evolution of lactase persistence: an example of human niche construction. *Phil Trans R Soc B*. 366: 863-877.

Gilbert MT (2006). Ancient DNA research goes nuclear. *EMBO*. 7:136-139.

Green RE, Krause J, Briggs AW et al. (2010). A draft sequence of the neandertal genome. *Science*. 328: 710-722.

Harvey CB, Fox MF, Jeggo PA et al. (1993). Regional localization of the lactase-phlorizin hydrolase gene, *LCT*, to chromosome 2q21. *Ann Hum Genet*. 57:179-85.

Hollox EJ, Swallow DM (2002). Lactase deficiency-biological and medical aspects of the adult human lactase polymorphism. In: *The Genetic Basis of Common Diseases*. (arg. King RA, Rotter JI eta Motulsky AG). Oxford.

Imtiaz F, Savilahti E, Sarnesto A et al. (2007). The T/G -13915 variant upstream of the lactase gene (*LCT*) is the founder allele of lactase persistence in an urban Saudi population. *J Med Genet.* 44:89.

Ingram CJ, Elamin MF, Mulcare CA et al. (2007). A novel polymorphism associated with lactose tolerance in Africa: multiple causes for lactase persistence? *Hum Genet.* 120:779-788.

Ingram CJ, Raga TO, Tarekegn A et al. (2009). Multiple rare variants as a cause of a common phenotype: several different lactase persistence associated alleles in a single ethnic group. *J Mol Evol.* 69:579-588.

Ingram CJ, Mulcare CA, Itan Y et al. (2009). Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum Genet.* 124:579-591.

Järvelä I, Enattah NS, Kokkonen J et al. (1998). Assignment of the locus for congenital lactase deficiency to 2q21, in the vicinity of but separate from the lactase-phlorizin hydrolase gene. *Am J Hum Genet.* 63:1078-85.

Jobling MA, Hurles ME, Tyler-Smith C (2011). *Human evolutionary genetics: origins, peoples and disease.* Garland Science, New York.

Jones BL, Swallow DM (2011). The impact of cis-acting polymorphisms on the human phenotype. *HUGO J.* 5:13-23.

Juste RA (2010). Crohn's disease and ruminant farming. Got lactase? *Med Hypotheses.* 75:7-13.

Kuchay R, Anwar M, Thapa BR et al. (2013). Correlation of G/A -22018 single-nucleotide polymorphism with lactase activity and its usefulness in improving the diagnosis of adult-type hypolactasia among North Indian children. *Genes Nutr.* 8:145-151.

Latchman DS (2005). *Gene Regulation.* (arg. Owen E, Dixon C eta Henderson K). London.

Lewinsky RH, Jensen TG, Moller J et al. (2005). T -13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum Mol Genet.* 14:3945-3953.

Lisker R, Gonzalez B, Daltabuit M (1975). Recessive inheritance of the adult type of intestinal lactase deficiency. *Am J Hum Genet.* 27:662-664.

Maiuri L, Rossi M, Raia V et al. (1994). Mosaic regulation of lactase in human adult-type hypolactasia. *Gastroenterology.* 107:54-60.

Malmström H, Linderholm A, Liden K et al. (2010). High frequency of lactose intolerance in a prehistoric hunter-gatherer population in northern Europe. *BMC Evol Biol.* 10:89-96.

McCracken RD (1971). Lactase deficiency: an example of dietary evolution. *Curr Anthropol.* 12:497-517.

Mulcare CA, Weale ME, Jones AL et al. (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. *Am J Hum Genet.* 74:1102-1110.

Nolan DJ, Han DY, Lam WJ et al. (2010). Genetic adult lactase persistence is associated with risk of Crohn's Disease in a New Zealand population. *BMC Res Not.* 3:339.

Olds LC, Sibley E (2003). Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Hum Mol Genet.* 12:2333-2340.

Payne S (1973). Kill-off patterns in sheep and goats: The mandibles from Asvan Kale. *J Anatol Stud.* 23:281-303.

Peña JA, Alfonso-Sánchez MA, García-Obregón S et al. (2002). Persistencia de actividad lactasa en población residente en el País Vasco. *Antropo* (www.didac.ehu.es/antropo).

Plantinga TS, Alonso S, Izagirre N et al. (2012). Low prevalence of lactase persistence in Neolithic South-West Europe. *Eur J Hum Genet.* 1-5.

Raz M, Sharon Y, Yerushalmi B et al. (2013). Frequency of *LCT*-13910C/T and *LCT*-22018G/A single nucleotide polymorphisms associated with adult-type hypolactasia/lactase persistence among Israelis of different ethnic groups. *Gene.* 519:67-70.

Reich D, Green RE Kircher M et al. (2010). Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia. *Nature.* 468:1053-1060.

Richards M, Rengo C, Cruciani F et al. (2003). Extensive female-mediated gene flow from Sub-Saharan Africa into near eastern Arab populations. *Am J Hum Genet.* 72:1058-1064.

Sabeti PC, Reich DE, Higgins JM et al. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature.* 419:832-837.

Savaiano DA, Levitt MD (1987). Milk intolerance and microbecontaining dairy foods. *J Dairy Sci.* 70:397-406.

Seixas S, Garcia O, Trovoada MJ et al. (2001). Patterns of haplotype diversity within the serpin gene cluster at 14q32.1: insights into the natural history of the alpha1-antitrypsin polymorphism. *Hum Genet.* 108:20-30.

- Sherratt A (1983). The secondary exploitation of animals in the Old World. *World Archaeol.* 15:90-104.
- Simoons FJ (1969). Primary lactose intolerance and the milking habit: a problem in biological and cultural interrelations, II. A culture historical hypothesis. *Am J Dig Dis.* 15:695-710.
- Spencer CC, Coop G (2004). SelSim: a program to simulate population genetic data with natural selection and recombination. *Bioinformatics.* 20:3673-3675.
- Suárez F, Savaiano DA, Levitt MD (1995). Review article: the treatment of lactose intolerance. *Aliment Pharm Ther.* 9:589-597.
- Sverrisdóttir OO, Timpson A, Toombs J et al. (2014). Direct estimates of natural selection in Iberia indicate calcium absorption was not the only driver of lactase persistence in Europe. *Mol Biol Evol.* 31:975-983.
- Swagerty DL, Walling AD, Klein RM (2002). Lactose intolerance. *Am Fam Physician.* 65:1845-1850.
- Swallow DM (2003). Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Ann Rev Genet.* 37:197-219.
- Tajima F (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics.* 123:585-595.
- Tishkoff SA, Reed FA, Ranciaro A et al. (2007). Convergent adaptation of human lactase persistence in Africa and Europe. *Nat Genet.* 39:31-40.
- Valeria A (2006). Patrón genético de la hipolactasia de tipo adulto en los niños y adolescentes de Galicia. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- Wang Y, Harvey CB, Pratt WS et al. (1995). The lactase persistence/non-persistence polymorphism is controlled by a cis-acting element. *Hum Mol Genet.* 4:657-662.
- Wilt TJ, Shaikat A, Shamliyan T et al. (2007). Lactose intolerance and health. *Evid Rep Technol Assess.* 192: 1-410.
- Xu L, Sun H, Zhang X et al. (2010) The -22018A allele matches the lactase persistence phenotype in northern Chinese populations. *Scand J Gastroenterol.* 45:168-174.
- Zeng K, Fu YX, Shi S et al. (2006). Statistical tests for detecting positive selection by utilizing high-frequency variants. *Genetics.* 174:1431-1439.

