

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-196-12-102-109>

Биологическая роль казоморфинов (часть 1)

Хавкин А. И.^{1,4}, Васиа М. Н.², Новикова В. П.³

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация, 125412, Москва, ул. Талдомская, 2

² Больница "Doctors on duty clinic Labadi", GA000, Аккра, Гана, а/я OS 3410 ОСУ

³ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2, литера Ж, Российская Федерация

⁴ Белгородский государственный исследовательский университет Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Россия, 308015, Белгородская область, Белгород, ул. Победы, д. 85

Для цитирования: Хавкин А. И., Васиа М. Н., Новикова В. П. Биологическая роль казоморфинов (часть 1). Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;196(12): 102–109. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-196-12-102-109

✉ Для переписки:

Хавкин Анатолий Ильич
gastropedclin@gmail.com

Хавкин Анатолий Ильич, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела гастроэнтерологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева

Васиа Мари Нечеса, главный врач больницы

Новикова Валерия Павловна, д.м.н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми, зав. лабораторией «Медико-социальных проблем в педиатрии»; ORCID: 0000-0002-0992-1709

Резюме

Обзор литературы посвящён биологически активным метаболитам казеина — результатам его гидролиза, олигопептидам — казоморфинам. Данные пептиды с длиной цепи от 4 до 11 аминокислот происходят из β -казеина молока и высвобождаются во время пищеварения, как *in vivo*, так и *in vitro*. Казеоморфины демонстрируют опиоидную и фармакологическую активность вследствие связывания с μ -рецепторами, расположенными в центральной нервной системе, желудочно-кишечном тракте и некоторых иммунных клетках. Понимание биологической роли казеоморфинов молока млекопитающих, в том числе и человека, их влияние на органы и системы, приблизит специалистов к расшифровке этиологии целой группы заболеваний.

Ключевые слова: казеин, казоморфин, β -казеин, молоко A1 и A2.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-196-12-102-109>



The biological role of casomorphins

A. I. Khavkin^{1,4}, M. N. Vasia², V. P. Novikova³

¹ Russian National Research Medical University named after N. I. Pirogov, 2, st. Taldomskaya, 125412, Moscow, Russia

² Doctors on duty clinic Labadi, GA000, Accra, Ghana, PO BOX OS 3410, OSU

³ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, 2, letter Zh, st. Litovskaya, 194100, St. Petersburg, Russia

⁴ Belgorod State Research University Russian Federation, 85 Pobedy Street, Belgorod, the Belgorod region, 308015, Russia

For citation: Khavkin A. I., Vasia M. N., Novikova V. P. The biological role of casomorphins. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;196(12): 102–109. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-196-12-102-109

Anatoly I. Khavkin, MD, PhD, DSc, Professor, Chief Researcher of the Department of Gastroenterology of the Scientific Research Clinical Institute of Pediatrics named after Academician Yu. E. Veltischev; ORCID: 0000-0001-7308-7280

Marie Nechesa Vasia, MD, Chief Physician at Doctors on Duty Clinic Labadi; ORCID: 0000-0002-1927-6811

Valeriya P. Novikova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Propedeutics of Childhood Diseases with a course of general child care, head. laboratory "Medical and social problems in pediatrics"; ORCID: 0000-0002-0992-1709

✉ Corresponding author:

Anatoly I. Khavkin
gastropedclin@gmail.com

Summary

The literature review is devoted to biologically active metabolites of casein — the results of its hydrolysis — oligopeptides casomorphins. These peptides with a chain length of 4 to 11 amino acids are derived from milk β -casein and are released during digestion, both in vivo and in vitro. Caseomorphins exhibit opioid and pharmacological activity due to binding to μ -receptors located in the central nervous system, gastrointestinal tract and some immune cells. Understanding the biological role of caseomorphins in the milk of mammals, including humans, and their effect on organs and systems, will bring specialists closer to deciphering the etiology of a whole group of diseases.

Keywords: casein, casomorphin, β -casein, A1 and A2 milk.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Белок – особый компонент питания ребёнка. В первую очередь он является источником азота и аминокислот, которые необходимы для синтеза собственных белков и построения тканей живого организма. Содержание белка в женском грудном молоке в первые дни лактации высокое, в дальнейшем этот показатель постепенно снижается. В последние годы в большинстве развитых стран по рекомендации ВОЗ принята норма потребности белка для детей грудного и раннего возраста, которая составляет 1,99 г/кг/сут в первый месяц и 0,78 г/кг/сут к концу первого года жизни. Рекомендованная в России потребность в белке для детей грудного возраста в первом полугодии жизни составляет от 2,2 до 2,6 г/кг/сут. В большинстве «стартовых» смесей содержание белка в 100 мл составляет 1,2–1,6 г, тогда как в 100 мл женского молока содержится 1,1 г белка. Снижение уровня белка в смесях позволяет уменьшить в 2 раза избыток поступления азота в организм ребенка и соответственно предотвращает метаболический стресс как дополнительную нагрузку на незрелые почки и печень, снижает риск развития ожирения и сахарного диабета у детей, оптимально приближает белок в смесях по количеству и качеству к белку грудного молока (11 г/л).

Основными белковыми фракциями молока являются казеины (α -казеины, β -казеины) и протеины сыворотки (α -лактальбумин, β -лактоглобулин, γ -глобулины, лактоферрин и др.). Казеины термостабильны и не меняют своей структуры при створаживании молока. Протеины сыворотки относятся к видоспецифичным белкам, термолабильны. Соотношение сывороточных белков и казеина в материнском молоке составляет в среднем 60:40 и в молочных смесях, производимых в Европе для детей первого полугодия жизни, оно выдерживается, что способствует лучшей усвояемости белка и снижению риска кишечных колик. Во втором полугодии жизни ребенка, когда «созревает» желудочно-кишечный тракт, нередко используются «казеиновые смеси» с соотношением сывороточных белков и казеина 35:65 или 20:80. Сывороточные заменители грудного молока более физиологичны, чем казеиновые, так как образуют более нежный сгусток в желудке, быстро эвакуируются из желудка, легко усваиваются, способствуют формированию нормальной микрофлоры кишечника, содержат незаменимые аминокислоты. Наиболее предпочтительным является обогащение смесей α -лактальбумином – основным

белком сывороточной фракции грудного молока (25–35% от общего белка); α -лактальбумин составляет в организм ребенка триптофан, метионин и цистеин, улучшает связывание и ускоряет всасывание кальция и цинка, способствует образованию пептидов с антибактериальными

и иммунорегулирующими свойствами, стимулирует рост бифидофлоры в кишечнике ребенка. Состояние иммунной системы и биоценоза кишечника у детей, получающих смесь с добавлением α -лактальбумина, соответствует состоянию детей на грудном вскармливании.

Казеин и казоморфины

Казеин (лат. caseus – сыр) – сложный белок [1]. Он образуется из предшественника казеина – казеиногена при створаживании молока, в котором присутствует в виде казеината кальция.

По структуре казеин относится к фосфопротеинам (содержит фосфатную группу), выполняющей запасающую функцию в молоке млекопитающих. Казеин состоит из нескольких фракций: α -, β - и γ - казеин, каждая из фракций имеет несколько разновидностей. Фракции и их разновидности отличаются аминокислотным составом, в частности две из наиболее распространенных разновидностей β -казеина, в коровьем молоке A1 и A2, отличаются одной аминокислотой в позиции 67. Элементарный состав казеина (в %): углерод – 53,1; водород – 7,1; кислород – 22,8; азот – 15,4; сера – 0,8; фосфор – 0,8[5].

Свёртывание казеина в молоке происходит под действием протеолитических ферментов (в т.ч., фермента реннина или химозина) или кислот, вырабатываемых молочнокислыми бактериями. В результате ферментативного створаживания молока казеин сгустками вместе с жиром молока выпадает в осадок. Такой осадок дольше задерживается в желудке, усваивается медленно, расщепляясь пепсином.

Казеин (казеиноген) является одним из основных белков молока наряду с сывороточными белками (альбумины и др.). Содержание в коровьем молоке – 78–87% от всех белков [2] (2,8–3,5% от общей массы [3]). Содержание в зрелом грудном молоке женщины – 40%, в начале лактации – существенно меньше [4] (0,3–0,9% от общей массы [1]). Казеин не содержится в крови и в молочной железе синтезируется из свободных аминокислот крови [5]. Так же, как и любой другой белок, казеин разрушается при термической обработке, но он значительно более термоустойчив. Для его коагуляции необходима выдержка при температуре в 130 градусов Цельсия [5].

При гидролизе казеина образуется пептид казоморфин, обладающий опиоидоподобными эффектами. Слово казоморфин произошло от слова «caso», что означает казеин, а «морфи» -от слова Морфус, греческого бога сна [1]. Данные пептиды происходят из β - казеина молока и демонстрируют опиоидную и фармакологическую активность вследствие связывания с μ -рецепторами, расположенными в центральной нервной системе, желудочно-кишечном тракте и некоторых иммунных клетках [2, 3]. По сути, β -казоморфины (β -КМ) представляют собой пептиды от 4 до 11 аминокислот, зашифрованные в неактивной форме и высвобождаемые во время пищеварения как *in vivo*, так и *in vitro* [4].

β -казеиновые белки составляют около 30% от общего количества белков коровьего молока и могут быть представлены одним из двух главных генетических вариантов: A1 и A2. Разница между A1 и A2 заключается в замене аминокислоты пролина на гистидин в 67-й позиции белковой молекулы благодаря точечной мутации в гене A1 β -казеина [5].

β -казеин A1 является основным вариантом β -казеина в молоке обычных молочных коров северо-европейского происхождения: фризских, эйрширских, британских шортхорнов и голштинских коров.

β -казеин A2 преимущественно содержится в молоке коров с Нормандских островов Гернси и Джерси, у южно-французских пород шароле и лимузен [6], а также коровах зебу африканского происхождения.

Данные ограниченного количества клинических исследований на людях предполагают, что β -казеин A2 лучше переносится и усваивается по сравнению с β -казеином A1. В 8-недельном перекрестном исследовании с участием 41 человека, потребление 750 мл молока, содержащего β -казеин A1 способствовало развитию непереносимости (изменений в консистенции и частоте стула) по сравнению с теми, кто потреблял такое же количество молока, содержащего казеин A2 [7, 8].

В последующем исследовании 600 взрослых субъектов, которые сообщили о непереносимости лактозы и дискомфорте при пищеварении после потребления молока, были назначены потреблять 300 мл обычного молока A1 / A2 или молока A2 в течение 7-дневного периода. Результаты рандомизированного двойного слепого перекрестного исследования свидетельствуют о том, что симптомы нарушения пищеварения заметно уменьшились после употребления молока, содержащего β -казеин A2 по сравнению с обычным молоком [9].

Наличие пролина или гистидина в 67 позиции β -казеина связано с основными эффектами высвобождения биоактивного пептида различными желудочно-кишечными ферментами [10, 11]. Существует гипотеза, что β -казеин A1 (но не A2) может повышать риск развития диабета I типа у генетически предрасположенных детей [12], и являться фактором риска развития ишемической болезни сердца (ИБС) [13, 14, 15]. Например, опубликованное еще в 1999 г. ретроспективное исследование (данные с 1960 по 1991 г.) среди детей (<14 лет) из 10 стран показало сильную корреляцию ($r > 0,9$; ранговая корреляция Спирмена) между потреблением казеина A1 и заболеваемостью инсулинозависимым сахарным диабетом [16].

Предполагают, что инсулинозависимый сахарный диабет тесно связан с аутоиммунным феноменом, который снижает количество островковых клеток

поджелудочной железы. Это разрушение может усугубляться выработкой антител против бета-казеина. Данные от почти 1300 образцов сыворотки показали, что у всех исследуемых были верифицированы антитела против казеина, с самыми высокими показателями титров антиказеина А1 среди лиц, страдающих инсулинозависимым сахарным диабетом [17].

Тестирование на препаратах подвздошной кишки морской свинки различных фракций β-КМ показало наличие среди них соединения с высокой опиоидной активностью. Было установлено, что это соединение является гептапептидом (Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Phe) и соответствует 60–66 фрагменту β-казеина коровьего молока. Данный пептид был назван β-казоморфин-7 (β-КМ-7) [18, 19]

Lotfi, B. и соавт. произвели выделение β-КМ из бычьего β-казеина путем проведения слабого кис-

лотного гидролиза (рН 2,5; 37 °С) пепсином (1: 100) и трипсином [20].

De Noni и соавт. исследовали высвобождение β-КМ-5 и β-КМ-7 во время расщепления β-казеина крупного рогатого скота (А1, А2 и В) из необработанного молока, используя пепсин при рН 2,0, 3,0 и 4,0 с последующим гидролизом с помощью смеси ферментов поджелудочной железы. Было обнаружено, что вариант В высвобождает наибольшее количество β-КМ-7 (5–176 ммоль / моль казеина), за ним следует вариант А1 [21].

Другие исследователи количественно определили уровни β-КМ-7 после расщепления пепсином в ферментированном молоке (1,23 ± 0,04 мг / кг), сухих производных молока (17,68 ± 0,12 мг / кг), сырах (15,22 ± 0,13). мг / кг) и детских смесях (90,21 ± 0,03 мг / кг) [22].

Опиоидные свойства β-казеинов

Опиоидные пептиды выполняют самые разнообразные, жизненно важные функции в живом организме. Они участвуют в процессах авторегуляции боли, изменения уровня кровяного давления, регуляции функции эндокринной системы, моторики и кислотопродуцирующей функции желудка, психического состояния, эмоционального поведения и т.д.

По характеру действия на организм эндогенные опиоидные пептиды очень сходны с наркотическими алкалоидами, но не обладают нежелательными побочными действиями подавления дыхательного центра и эффектом привыкания.

В результате анализа зависимости опиоидной активности от длины фрагментов пептида оказалось, что β-КМ-5 наиболее активен, далее в порядке убывания следуют β-КМ-4, β-КМ-6, β-КМ-7. При этом, ди- и трипептид и практически не активны.

Однако реальное физиологическое значение имеют более крупные фрагменты β-казеина, например, β-КМ-7, β-КМ-8, способные относительно длительное время противостоять ферментативной деградации. Сравнительная характеристика опиоидных пептидов представлена в *Таблице 1*.

Дальнейшее изучение структуры β-КМ показало, что они имеют следующие свойства, характерные для опиоидных пептидов:

1. наличие N-концевого тирозина;
2. присутствие гидрофобного «хвоста» из 4–10 аминокислот;
3. устойчивость к действию протеолитических ферментов.

Последний критерий очень важен, так как его выполнение определяет способность опиоидного пептида относительно долго существовать

Опиоидный пептид	Источник	Аминокислотная последовательность	Опиоидный рецептор	Опиоидный эффект
β-казоморфин-4	В-казеин / молоко	YPFP	μ	Опиоидный агонист
β-казоморфин-5	В-казеин / молоко	YPFPG	μ	Опиоидный агонист
β-казоморфин-6	В-казеин / молоко	YPFPGP	μ	Опиоидный агонист
β-казоморфин-7	В-казеин / молоко	YPFPGI	μ	Опиоидный агонист

Таблица 1
Сравнительная характеристика опиоидных пептидов

Table 1
Comparative characteristics of opioid peptides

в организме и достигать клеток-мишеней, удаленных от места его образования.

β-КМ являются агонистами μ-рецепторов, которые способны проявлять разностороннюю функциональную значимость, как представлено в *Таблице 2* [22, 23, 24, 25].

В экспериментальных работах исследовали эффекты бычьего β-КМ на болевую чувствительность и поведение детенышей крыс. Было показано, что длительное введение небольшой доз β-КМ-7 новорожденным крыскам способствует снижению уровня тревожности и повышает их исследовательскую активность.

В результате исследования были обнаружены отсроченные нейротропные эффекты «опиоидных фрагментов» β-казеина молока и, в частности, снижение поведенческого проявления тревоги, длительно сохранявшееся после прекращения введения β-КМ-7.

Наиболее вероятные механизмы данного влияния, по-видимому, связаны с нейротрофическими эффектами. При этом возможно либо прямое влияние β-КМ-7 на формирование различных нейромедиаторных систем, либо его опосредованное действие через нейротрофические факторы.

Таблица 2

Сравнительная характеристика благоприятных эффектов β -КМ-5 и β -КМ-7

Table 2

Comparative characteristics of the beneficial effects of β -КМ-5 and β -КМ-7

Пептиды	Благоприятные эффекты
β -КМ-7	Защитный эффект выражен за счет снижения окислительного стресса и сигнального пути NF- κ B-iNOS-NO в поджелудочной железе крыс с диабетом
β -КМ-7	Защитно-профилактический эффект от диабета и окислительного стресса, улучшает гликометаболизм.
β -КМ-7	Активация <i>ex vivo</i> (синтез ДНК) пролиферативных процессов в миокарде, эктодермальном и энтодермальном эпителии новорожденных крыс
β -КМ-7	Способствует моторике желудка за счет экспрессии гастрита
β -КМ-7	Развитие пищеварительного тракта
β -КМ-7	Увеличение экспрессии мРНК гормонов роста и рецепторов гормона роста
β -КМ-7,4,3,6	Регулирование отхождения кишечной слизи, защита от вредных агентов
β -КМ-7	Ослабленные проявления защитной мотивации Ускорение усвоения привычки добывать пищу в Т-образном лабиринте
β -КМ-7	Обезболивающая роль
β -КМ-7	Влияние на постпрандиальный метаболизм
β -КМ-7	Повышение уровня пролактина в сыворотке
β -КМ-5	Улучшает нарушение обучения и памяти у мышей
β -КМ-5	Вызывает амнезию при высокой дозе и улучшает при низкой дозе
β -КМ-5	Кардиозащитная функция
β -КМ-4,5,7	Уменьшение вокализации бедствия, вызванной разделением (DV)

Амидирование (замена С-концевой ОН-группы на аминокислотную) и введение в состав пептидных молекул d-аминокислот приводят к резкому усилению опиоидных свойств β -казоморфинов. Среди амидированных аналогов наибольшую активность проявил «морфицептин». По сравнению с β -КМ-4 и β -КМ-5 вызываемые морфицептином эффекты оказались в 10–20 раз выраженнее [26, 27, 28].

Основная часть работ с d-замещенными β -КМ выполнена на крысах. Пептиды вводили внутривентрикулярно и в дальнейшем оценивали уровень болевой чувствительности в тестах отдергивания

хвоста, сдавливания лапы и др. Было показано [29, 30], что при введении крысам β -КМ-5 значимое анальгетическое действие вызывает 100–200 моль вещества, а эффект оставался постоянным в течение 50–90 мин. Замена 1-аминокислот на δ -стереоизомеры резко повышает ноцицептивную активность: для dPhe³- β -КМ-5 – в 60 раз, для dPro²- β -КМ-5 – в 160 раз, для dPro⁴- β -КМ-5 – в 250 раз. Последнее соединение также получило собственное название – «депролорфин». Замена Phe³ на β -гомофенилаланин приводит к увеличению опиоидной активности β -КМ-5 в 2 раза, а β -КМ-7 – в 5 раз [27, 31, 32].

Всасывание белков и образование казоморфинов

Более 100 лет считалось, что белок пищи должен быть полностью гидролизован ферментами желудка, поджелудочной железы и тонкой кишки, прежде чем составляющие его аминокислоты могут быть усвоены. через специфические транспортные системы ЖКТ. В настоящее время известно, что частично гидролизованный белок в виде ди- и трипептидов поглощается энтероцитами в значительном количестве, поскольку переносится через эндотелий кишечника котранспортером PepT1 H2/пептидом. Получены доказательства того, что некоторые ди- и трипептиды способны избегать цитозольный гидролиз и транспортироваться через базолатеральную мембрану в неизменном виде. Однако, вопрос транспорта более крупных интактных макромолекул через эндотелий кишечника здорового человека остается спорным, поскольку имеется мало однозначных доказательств *in vivo*, подтверждающих это предположение. Таким образом, олиго- и полипептиды абсорбируются кишечным эпителием и проходят в портальную систему печени без изменений. Вопрос абсорбции олигопептидов имеет первостепенное значение для развивающейся науки о биоактивных пептидах пищевого происхождения, их способе действия и физиологические эффекты. В целом, существует

ещё мало однозначных доказательств того, что пищевые биологически активные пептиды, кроме ди- и трипептидов могут проникать через стенку кишечника в неповрежденном виде и попадать в кровотоки в физиологически значимых концентрациях [33].

Возвращаясь к вопросу усвоения казеина, необходимо отметить, что большое количество пролиновых остатков обеспечивает высокую устойчивость β -КМ к действию пептидаз. При переваривании казеина происходит «вырезание» фрагментов различной длины, содержащих β -КМ.

Впервые информация о том, что инкубация *in vitro* β -казеина с комплексом протеолитических ферментов способствует образованию пептидов-предшественников β -КМ-7, была отмечена в работе, опубликованной Petrilli P и соавт в 1984 году. [34]. Впоследствии появилась целая серия работ, которые подтверждали данный факт [35, 36, 37].

Chang S. E. и соавт. было продемонстрировано, что после энзиматической деградации казеинов были идентифицированы не только β -КМ-7 и его предшественники, но и морфицептин. Другие зарубежные исследователи отметили наличие β -КМ-7 в кишечнике взрослых людей после употребления молока [28]. В дальнейшем в кишечнике свиньи при

Последовательность	Фрагмент белка	Деятельность
LNVPGEIVE	β -казеин (6–14)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
NVPGEIVE	β -казеин (7–14)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
DKIHFF	β -казеин (47–52)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
SLVYFPFGPI	β -казеин (57–66)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
LVYFPFGPIPNLSLPQ	β -казеин (58–72)	Ингибитор протеазы / пептидазы, антигипертензивное средство (ингибитор АПФ)
VYFPFGPI	β -казеин (59–66)	Опиоидный агонист, антигипертензивный (ингибитор АПФ)
VYFPFGPIP	β -казеин (59–67)	Ингибитор протеазы / пептидазы
VYFPFGPIP	β -казеин (59–68)	Опиоидный агонист, антигипертензивный (ингибитор АПФ)
YFPF	β -казеин (60–63)	Опиоидный агонист
YFPFGP	β -казеин (60–65)	Опиоидный агонист
YFPFGPI	β -казеин (60–66)	Опиоидный агонист
YFPFGPIP	β -казеин (60–67)	Опиоидный агонист
YFPFGPIP	β -казеин (60–68)	Опиоидный агонист, антигипертензивный (ингибитор АПФ)
YFPFGPIPNSL	β -казеин (60–70)	Опиоидный агонист
YFPFGPIPNSLPQNIPLTQT	β -казеин (60–80)	Опиоидный агонист
PGPIP	β -казеин (63–68)	Иммуномодулятор
NIPPLTQTPV	β -казеин (73–82)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
PRLTQTPV	β -казеин (75–82)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
TPVVVPFLQP	β -казеин (80–90)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
ВКЕАМАПК	β -казеин (98–105)	Антиоксидант
EMFPFK	β -казеин (108–113)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
YPVEFF	β -казеин (114–119)	Опиоидный агонист
VENLHLPPLL	β -казеин (130–140)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
NLHLPPLL	β -казеин (132–140)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
LHLP	β -казеин (133–138)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
HLPLL	β -казеин (134–140)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
SQSKVLPVPQ	β -казеин (166–175)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
SKVLPVPQK	β -казеин (168–175)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
KVLPVPQK	β -казеин (169–176)	Антиоксидант
VLPVPQK	β -казеин (170–176)	Антиоксидант
AVPYPQR	β -казеин (177–183)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
LLYQQPVLGVPVRGPFPIIV	β -казеин (191–209)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)
LYQEPVLQVVRGPFPIIV	β -казеин (192–209)	Иммуномодулятор
YQEPVLQVVR	β -казеин (193–202)	Иммуномодулятор
YQEPVLGVPVRGPFPI	β -казеин (193–207)	Противомикробный
YQEPVLQVVRGPFPIIV	β -казеин (193–209)	Иммуномодулятор
QEPVLQVVRGPFPIIV	β -казеин (194–209)	Антигипертензивное средство (ингибитор АПФ), ингибитор протеазы / пептидазы
EPVLQVVRGPFPI	β -казеин (195–206)	Антигипертензивный (ингибитор АПФ)

Таблица 3

Сравнительная характеристика последовательности биоактивных пептидов, полученных из β -казеина

Table 3

Comparative characterization of the sequence of bioactive peptides derived from β -casein

поедании казеина был обнаружен β -КМ-11, который обладает опиоидной активностью, имеющей сходство с β -КМ-5.

В 1992 году еще более длинный предшественник β -КМ, который соответствует 58–93 фрагменту β -казеина, был выявлен в желудке телят после питания молоком. Посредством применения гидролиза панкреатическими ферментами из него были получены фрагменты, которые являлись устойчивыми к действию кишечных пептидаз. Данный факт явился подтверждением гипотезы авторов о возможном присутствии в ЖКТ активных пептидов даже после действия ферментов поджелудочной железы (Таблица 3) [35, 38, 39, 49, 41].

Степень высвобождения β -КМ в кишечнике определяется генетическими вариациями молекулы β -КМ, в частности присутствия в 67-м положении гистидина.

В последние годы выполнен ряд работ, которые посвящены исследованиям, характеризующим

возникновение β -КМ (в том числе β -КМ-7) вследствие бактериального «переваривания» казеинов [42, 43, 44]. В них отмечается факт самопроизвольного появления в продуктах питания регуляторных пептидов, способных оказывать существенное влияние на организм человека.

β -КМ обладают значительной энзиматической стабильностью, в связи с этим они относительно медленно распадаются во внутренней среде организма. Анализ метаболизма β -КМ свидетельствует о том, что ключевую роль в процессах их деградации играют следующие ферменты: внеклеточная экзопептидаза (DP-IV), пост-пролин-разрезающий фермент (PPCE) и пролин-специфическая эндопептидаза (PCE).

В некоторых работах большое внимание было уделено существующим механизмам распада β -КМ-5 и его производных в гомогенатах мозга, печени, в нативном мозге [43]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что время полураспада

β -КМ-5 в мозге составляет 5 минут, в печени – менее одной минуты. В настоящее время β -КМ и их производные нередко используются как стандартные субстраты при анализе свойств различных пептидаз (прежде всего, пролил-дипептидил пептидаз).

Имеется также несколько работ, которые касаются свойств β -КМ (например, β -КМ-7 женского молока), как ингибиторов эластаз [42, 44, 45]. Учитывая важную роль эластаз в генезе целого

ряда патологий (например, легочной гипертензии), полученные авторами результаты открывают перспективы для нового направления в исследовании функций β -КМ.

Таким образом, пептиды с опиоидными свойствами могут образовываться в ЖКТ в результате переваривания белков-предшественников. Однако для развития физиологических эффектов β -КМ должно произойти их проникновение через кишечный эпителий в кровь.

Литература | References

- Meisel H., Bockelmann W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: Proteolytic activation and thropho-functional properties. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1999;76(1):207–215.
- Teschemacher H. Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Curr Pharm Des*. 2003;9(16):1331–44. doi: 10.2174/1381612033454856.
- Kostyra E., Sienkiewicz Szapka E., Jarmoowska, B., Krawczuk S., Kostyra H. Opioid peptides derived from milk proteins. *Polish Journal of Food and Nutritional Science*. 2004;13(54):25–35.
- Farrell H.M., Jimenez-Flores R., Bleck G. T., et al. Nomenclature of the proteins of cow's milk. *J Dairy Sci*. 2004 Jun;87(6):1641–74. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73319–6.
- Ng-Kwi-Hang K.F., Grosclaude F. *Advanced Dairy Chemistry*, P. F. Fox and P. L. H. McSweeney, Eds., Springer, Berlin, Germany, 1992.
- Ho S., Woodford K., Kukuljan S., Pal S. Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: a blinded randomised cross-over pilot study. *Eur J Clin Nutr*. 2014 Sep;68(9):994–1000. doi: 10.1038/ejcn.2014.127.
- Guantario B., Giribaldi M., Devirgiliis C., et al. A Comprehensive Evaluation of the Impact of Bovine Milk Containing Different Beta-Casein Profiles on Gut Health of Ageing Mice. *Nutrients*. 2020 Jul 19;12(7):2147. doi: 10.3390/nu12072147.
- He M., Sun J., Jiang Z. Q., Yang Y. X. Effects of cow's milk beta-casein variants on symptoms of milk intolerance in Chinese adults: a multicentre, randomised controlled study. *Nutr J*. 2017 Oct 25;16(1):72. doi: 10.1186/s12937-017-0275-0.
- ul Haq M.R., Kapila R., Shandilya U. K., Kapila S. Impact of milk derived β -casomorphins on physiological functions and trends in research: a review. *International Journal of Food Properties*, 2014;17(8):1726–1741.
- Truswell A. S. The A2 milk case: a critical review. *Eur J Clin Nutr*. 2005 May;59(5):623–31. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602104.
- Chia J.S.J., McRae J.L., Kukuljan S., et al. "A1 beta-casein milk protein and other environmental pre-disposing factors for type 1 diabetes. *Nutr Diabetes*. 2017 May 15;7(5): e274. doi: 10.1038/nutd.2017.16.
- McLachlan C. N. S. β -casein A¹, ischaemic heart disease mortality, and other illnesses. *Med Hypotheses*. 2001 Feb;56(2):262–72. doi: 10.1054/mehy.2000.1265.
- Swaisgood H.E. Chemistry of the caseins. In *Advanced Dairy Chemistry*, P. F. Fox, Ed., pp. 63–110, Elsevier Applied, New York, NY, USA, 1992.
- Rasmussen L.K., Hojrup P., Petersen T.E. Localization of two interchain disulfide bridges in dimers of bovine α_{s2} -casein. Parallel and antiparallel alignments of the polypeptide chains. *Eur J Biochem*. 1992 Feb 1;203(3):381–6. doi: 10.1111/j.1432-1033.1992.tb16561.x.
- Elliott R.B., Harris D. P., Hill J. P., Bibby N. J., Wasmuth H.E. Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. *Diabetologia*. 1999 Mar;42(3):292–6. doi: 10.1007/s001250051153.
- Padberg S., Schumm-Draeger P.M., Petzoldt R., Becker F., Federlin K. Wertigkeit von A1- und A2-Antikörpern gegen beta-Kasein beim Typ-1-Diabetes mellitus [The significance of A1 and A2 antibodies against beta-casein in type-1 diabetes mellitus]. *Dtsch Med Wochenschr*. 1999 Dec 17;124(50):1518–21. German. doi: 10.1055/s-2007-1023884.
- Arisoy S, Çoban I, Üstün-Aytekin Ö. (March 25th 2019). Food-Derived Opioids: Production and the Effects of Opioids on Human Health, From Conventional to Innovative Approaches for Pain Treatment, Marco Cascella, IntechOpen, doi: 10.5772/intechopen.84195.
- Formaggioni P., Summer A., Malacarne M., Mariani P. Milk protein polymorphism: Detection and diffusion of the genetic variants in Bos genus. *Ann. Fac. Med. Vet. Univ. Parma*. 1999, 19, 127–165.
- Jinsmaa M., Yoshikawa M. Enzymatic release of neocasomorphin and β -casomorphin from bovine β -casein. *Peptides*. 1999;20(8):957–62. doi: 10.1016/s0196-9781(99)00088-1.
- Lotfi B. Optimization study for the production of an opioid-like preparation from bovine casein by mild acidic hydrolysis. *International Dairy Journal*. 2004; 14: 535–539.
- De Noni I. Release of beta-casomorphins 5 and 7 during simulated gastro-intestinal digestion of bovine beta-casein variants and milk-based infant formulas. *Food Chemistry*. 2008;110(4):897–903. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.077.
- De Noni I., Stefano C. Occurrence of β -casomorphins 5 and 7 in commercial dairy products and in their digests following in vitro simulated gastro-intestinal digestion. *Food Chemistry*. 2010;119(2):560–566.
- Teschemacher H. Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Curr Pharm Des*. 2003;9(16):1331–44. doi: 10.2174/1381612033454856.
- Yin H., Miao J., Ma C., Sun G., Zhang Y. β -Casomorphin-7 cause decreasing in oxidative stress and inhibiting NF- κ B-iNOS-NO signal pathway in pancreas of diabetes rats. *J Food Sci*. 2012 Feb;77(2): C278–82. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02577.x.
- Yin H., Miao J., Zhang Y. Protective effect of casomorphin-7 on type 1 diabetes rats induced with streptozotocin. *Peptides*. 2010 Sep;31(9):1725–9. doi: 10.1016/j.peptides.2010.05.016.

26. Chang S.T., Lau O.W., Cho K.Y. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. 1981;(12):58–62. doi: 10.1007/BF00508120.
27. Gomez K.A., Gomez A.A. Statistical procedures for agricultural research. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1984.
28. Chang S.E., Keen J., Lane E.B., Taylor-Papadimitriou J. Establishment and characterization of SV40-transformed human breast epithelial cell lines. *Cancer Res*. 1982 May;42(5):2040–53. PMID: 6279290.
29. De Carvalho L.P., Venault P., Potier M.-C., Dodd R.H., Brown C., Chapouthier G., Rossier J. 3-(methoxycarbonyl)-amino- β -carboline, a selective antagonist of the sedative effects of benzodiazepines. *Eur J Pharmacol*. 1986 Oct 7;129(3):323–32. doi: 10.1016/0014-2999(86)90442-5.
30. Angenstein F., Matthies H., Staack S., Reymann K.G., Staak S. The maintenance of hippocampal long-term potentiation is paralleled by a dopamine-dependent increase in glycoprotein fucosylation. *Neurochem Int*. 1992 Oct;21(3):403–8. doi: 10.1016/0197-0186(92)90191-s.
31. Longobardo M., González T., Navarro-Polanco R., Caballero R., Delpón E., Tamargo J., Snyders D., Tamkun M., Valenzuela C. Effects of a quaternary bupivacaine derivative on delayed rectifier K⁺ currents. *Br J Pharmacol*. 2000 May;130(2):391–401. doi: 10.1038/sj.bjp.0703334.
32. Chen, F. Allosteric Effects of Permeating Cations on Gating Currents during K⁺ Channel Deactivation. *J Gen Physiol*. 1997 Aug;110(2):87–100. doi: 10.1085/jgp.110.2.87.
33. Miner-Williams W.M., Stevens B.R., Moughan P.J. Are intact peptides absorbed from the healthy gut in the adult human? *Nutr Res Rev*. 2014 Dec;27(2):308–29. doi: 10.1017/S0954422414000225.
34. Petrilli P., Picone D., Caporale C., Addeo F., Auricchio S., Marino G. Does casomorphin have a functional role? *FEBS Lett*. 1984 Apr 9;169(1):53–6. doi: 10.1016/0014-5793(84)80288-4.
35. Cieślińska A., Kaminski S., Kostyrya E., Sienkiewicz-Szłapka E. Beta-casomorphin 7 in raw and hydrolyzed milk derived from cows of alternative β -casein genotypes. *Milchwissenschaft*. 2007;(2):125–127.
36. De Noni I., Cattaneo S. Occurrence of beta-casomorphins 5 and 7 in commercial dairy products and in their digests following in vitro simulated gastro-intestinal digestion. *Food Chem*. 2010;(2):560–566.
37. Sienkiewicz-Szłapka E., Jarmołowska B., Krawczuk S., Kostyra E., Kostyra H., Iwan M. Contents of agonistic and antagonistic opioid peptides in different cheese varieties. *Int. Dairy J*. 2009;(4):258–263.
38. Barbé F., Le Feunteun S., Rémond D., Ménard O., Jardin J., Henry G., Laroche B., Dupont D. Tracking the in vivo release of bioactive peptides in the gut during digestion: mass spectrometry peptidomic characterization of effluents collected in the gut of dairy matrices fed mini-pigs. *Food Res Int*. 2014; 63(Part B):147–156.
39. Boutrou R., Gaudichon C., Dupont D., Jardin J., Airinei G., Marsset-Baglieri A., Benamouzig R., Tomé D., Léonil J. Sequential release of milk protein-derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. *Am J Clin Nutr*. 2013;19:1314–1323.
40. Choi J., Sabikhi L., Hassan A., Anand S. Bioactive peptides in dairy products. *Int J Dairy Technol*. 2012;65:1–12.
41. Froetschel M.A. Bioactive peptides in digesta that regulate gastrointestinal function and intake. *J Anim Sci*. 1996 Oct;74(10):2500–8. doi: 10.2527/1996.74102500x.
42. Crocetti L., Quinn M. T., Schepetkin I. A., Giovannoni M. P. A patenting perspective on human neutrophil elastase (HNE) inhibitors, (2014–2018) and their therapeutic applications. *Expert Opin. Ther. Pat*. 2019 Jul;29(7):555–578. doi: 10.1080/13543776.2019.1630379.
43. Stark H., Lossner B. And Matthies H. Metabolism of (3-Casomorphin and its Derivates in Rat Brain and Liver Homogenates. *Biomed. Biochim. Acta*. 1987;46(10):687–94.
44. Thulborn S. J., Mistry V., Brightling C. E., Moffitt K. L., Ribeiro D., Bafadhel M. Neutrophil elastase as a biomarker for bacterial infection in COPD. *Respir. Res*. 2019;20:170. doi: 10.1186/s12931-019-1145-4
45. Khan M. A., Ali Z. S., Swezey N., Grasemann H., Palaniyar N. Progression of Cystic Fibrosis Lung Disease from Childhood to Adulthood: Neutrophils, Neutrophil Extracellular Trap (NET) Formation, and NET Degradation. *Genes (Basel)*. 2019;10: E183. doi: 10.3390/genes10030183.