

# Влияние молока, содержащего только $\beta$ -казеин A2, в сравнении с молоком, содержащим белки $\beta$ -казеин A1 и A2, на физиологию желудочно-кишечного тракта, симптомы дискомфорта и когнитивное поведение людей с самостоятельно сообщаемой непереносимостью обычного коровьего молока

Сун Джакин (Sun Jianqin)<sup>1</sup>, Ксу Лейминг (Xu Leiming)<sup>2</sup>, Ксиа Лю (Xia Lu)<sup>3\*</sup>, Грегори У. Йеланд (Gregory W. Yelland)<sup>4,5</sup>, Джияй Ни (Jiayi Ni)<sup>6</sup> и Эндрю Дж. Кларк (Andrew J. Clarke)<sup>7</sup>

## Реферат

**Введение:** Коровье молоко обычно содержит два типа  $\beta$ -казеина - A1 и A2. При переваривании типа A1 образуется пептид  $\beta$ -казоморфин-7, который вызывает нежелательные желудочно-кишечные эффекты потребления молока, некоторые из которых напоминают симптомы непереносимости лактозы. Это исследование предназначалось для сравнения влияния молока, содержащего  $\beta$ -казеин A1, и молока, содержащего только  $\beta$ -казеин A2, на воспаление, симптомы дискомфорта в пищеварительном тракте после потребления молочных продуктов (PD3) и когнитивную обработку информации у участников с самостоятельно сообщенной непереносимостью лактозы.

**Методы:** Сорок пять китайских добровольцев участвовали в этом двойном слепом рандомизированном, 2x2 перекрестном исследовании и потребляли молоко, содержащее оба типа  $\beta$ -казеина, или молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин A2. Каждый период приема составлял 14 дней с 14-дневным периодом вымывания в начале исследования и между периодами приема. Результаты включали оценку PD3, функции желудочно-кишечного тракта (измеряемую с помощью «умной» таблетки), показатели теста на легкие когнитивные нарушения (SCIT), биомаркеров в сыворотке/фекалиях и нежелательных явлений.

**Результаты:** По сравнению с молоком, содержащим только  $\beta$ -казеин A2, потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано со значимо более выраженными симптомами PD3; более высокими концентрациями связанных с воспалением биомаркеров и  $\beta$ -казоморфина-7; более длительным временем прохождения по желудочно-кишечному тракту, более низкими уровнями короткоцепочечных жирных кислот; увеличенным временем реакции и частотой ошибок по SCIT. Потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано с ухудшением симптомов PD3 по сравнению с исходным уровнем у пациентов с нормальной переносимостью и непереносимостью лактозы. Потребление молока, содержащего только  $\beta$ -казеин A2, не усугубляло симптомы PD3 по сравнению с исходным уровнем (т. е. после вымывания молочных продуктов) у пациентов с нормальной переносимостью и непереносимостью лактозы.

**Выводы:** Потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин A1, было связано с усиленным желудочно-кишечным воспалением, ухудшением симптомов PD3, увеличением времени прохождения по желудочно-кишечному тракту, снижением скорости и точности когнитивной обработки информации. Так как выведение  $\beta$ -казеина A1 ослабляет эти эффекты, некоторые симптомы непереносимости лактозы могут быть вызваны воспалением, индуцированным  $\beta$ -казеином A1, и их можно избежать, потребляя молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин A2.

(Продолжение на следующей странице)

\* Адрес для корреспонденции: xialu@medmail.com.cn

<sup>3</sup> Эндоскопический центр, Шанхайский международный центр медицины, Шанхай, Китай. Полный список информации об авторе доступен в конце статьи



© 2016 Jianqin et al. Открытый доступ. Эта статья подлежит распространению в соответствии с лицензией 4.0 Creative Commons (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любых носителях при условии надлежащего упоминания авторов и источника оригинальной статьи, ссылки на лицензию Creative Commons и изменений, в случае их внесения в оригинальную статью. Если не оговорено иное, на данные, приведенные в этой статье, распространяются положения лицензии Creative Commons о добровольном полном отказе от авторских прав и передаче в общественное пользование (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>).

(Продолжение предыдущей страницы)

Регистрационные данные исследования: [ClinicalTrials.gov/NCT02406469](https://clinicaltrials.gov/NCT02406469)

Ключевые слова:  $\beta$ -казеин, коровье молоко, непереносимость лактозы, функция желудочно-кишечного тракта, когнитивная обработка информации

## Введение

Молочные продукты, особенно производные коровьего молока, являются важным питательным компонентом, и их потребление продолжает расти во всем мире. Однако увеличение объема потребления молочных продуктов связано с увеличением риска или ухудшением симптомов некоторых расстройств, в том числе дисфункции желудочно-кишечного тракта [1-5] и нарушений, связанных с иммунными/воспалительными заболеваниями [6, 7]. Некоторые из этих видов воздействия молочных продуктов связаны с группой пептидов молока, образующихся в результате протеолиза  $\beta$ -казеина, особенно с  $\beta$ -казоморфином-7 (ВСМ-7).

ВСМ-7 образуется только в результате переваривания  $\beta$ -казеина типа А1, но не  $\beta$ -казеина А2 - двух основных типов  $\beta$ -казеина, присутствующих в молоке. Один или оба типа могут присутствовать в коровьем молоке в зависимости от состава генов отдельных животных. Коровы могут быть гомозиготными по одному типу или гетерозиготными с аллельной кодоминантностью, в результате чего в молоке будут оба типа белка. Эти два типа белка отличаются по структуре из-за замены аминокислоты в положении 67.  $\beta$ -казеин А2 и родственные подварианты, включая А3 и D, содержат остаток пролина на этом участке, тогда как  $\beta$ -казеин А1 и родственные подварианты, включая В и С, содержат остаток гистидина в этом положении, что позволяет в результате отщепления семи аминокислотных остатков образовывать ВСМ-7 [8]. На основании строения  $\beta$ -казеина и возможности образования ВСМ-7 в ходе пищеварения у людей,  $\beta$ -казеины, экспрессируемые у человека, коз, овец и буйволов, классифицируются как «А2-подобные», несмотря на то, что не принадлежат к типу А2. Сообщалось, что казеин и его производные, особенно ВСМ-7, оказывают разнообразное влияние на функцию желудочно-кишечного тракта в животных моделях, включая уменьшение частоты и амплитуды кишечных сокращений [3, 9-12], увеличение секреции слизи [13-15] и подавление пролиферации лимфоцитов [16, 17].

Непереносимость молочных продуктов является часто встречающимся желудочно-кишечным расстройством и обычно связана с непереносимостью лактозы [18]. Однако, исходя из желудочно-кишечных эффектов ВСМ-7 (и, следовательно, молока, содержащего  $\beta$ -казеин А1), возможно, что непереносимость молочных продуктов в некоторых случаях связана с потреблением  $\beta$ -казеина А1, а не с лактозой как таковой. Наша гипотеза заключается в том, что потребление  $\beta$ -казеина А1 приводит к образованию и воздействию ВСМ-7 на ткани, что оказывает ряд провоспалительных эффектов, включая изменение сигнальной активности, нарушение окислительно-восстановительных процессов и эпигенетической регуляции экспрессии генов [19]. Следствием этих изменений является нарушение пищеварительного процесса, которое может проявляться в виде непереносимости лактозы с точки зрения ее внешних проявлений. Соответственно, потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин А2, с исключением  $\beta$ -казеина А1, может облегчить или предотвратить желудочно-кишечные нарушения, связанные с ВСМ-7.

Тем не менее на сегодняшний день желудочно-кишечные эффекты молока, содержащего только  $\beta$ -казеина типа А2, и молока, содержащего  $\beta$ -казеин А1, у людей сравнивали лишь в нескольких исследованиях [20]. Поэтому мы провели рандомизированное контролируемое двойное слепое перекрестное исследование для сравнения влияния молока, содержащего только  $\beta$ -казеина типа А2, с молоком, содержащим  $\beta$ -казеин А1, по показателям функции желудочно-кишечного тракта, включая лабораторные анализы сыворотки крови и фекалий, желудочно-кишечных симптомов пищеварительного дискомфорта при потреблении молочных продуктов, частоты стула, Бристольской шкалы стула, времени прохождения фекальных масс по желудочно-кишечному тракту и воспаления желудочно-кишечного тракта. Мы предположили, что потребление молока, содержащего А1  $\beta$ -казеин, приведет к системному воспалению и желудочно-кишечным расстройствам, сходным с наблюдающимися при непереносимости лактозы в когорте пациентов с предполагаемой или подтвержденной непереносимостью лактозы. Мы также предположили, что исключение  $\beta$ -казеина типа А1 при потреблении участниками исследования молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа А2, позволит избежать или смягчить действие  $\beta$ -казеина А1.

Поскольку молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин типа A1, не является коммерчески доступным для потребления и не является репрезентативным среди потребляемых молочных продуктов, мы использовали обычное молоко, содержащее смесь типов A1 и A2. Было подтверждено, что молоко, содержащее только тип A2  $\beta$ -казеина, получается у коров, гомозиготных по генотипу A2.

Мы сосредоточились на популяции ханьских китайцев в связи с тем, что для этой популяции в некоторых исследованиях была отмечена очень высокая предполагаемая распространенность непереносимости лактозы или, сообщаемая с частотой до 90%, мальабсорбция лактозы [21-23]. Несмотря на это, потребление молока в Китае продолжает увеличиваться, а потребление на душу населения молочных продуктов среди городских жителей утроилось с почти 6 кг в 1992 г. до 18 кг к 2006 г. [24].

## Методы

### Дизайн исследования

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией (пересмотр от 2008 года, Сеул), и было одобрено комитетом по этике Общества питания Шанхая (номер одобрения: SNSIRB#2014[002]). Исследование было зарегистрировано в базе данных Clinicaltrials.gov (идентификатор: NCT02406469). Перед включением в исследование все участники предоставили письменное информированное согласие.

Исследование являлось одноцентровым двойным слепым рандомизированным контролируемым перекрестным  $2 \times 2$  исследованием для оценки влияния молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа A2, в сравнении с молоком, содержащим  $\beta$ -казеин типов A1 и A2, на уровни маркеров иммунного ответа в сыворотке в корреляции с симптомами непереносимости. Дизайн исследования продемонстрирован на рис. 1. После визита скрининга, на котором участники прошли полную клиническую оценку и исследование на качественное определение галактозы в моче, подходящие кандидаты вошли в 2-недельный период вымывания. Затем участники были включены в период вмешательства 1, в котором они в течение 2 недель получали молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин типа A2, или молоко, содержащее оба типа  $\beta$ -казеина, в соответствии со схемой рандомизации. После второго 2-недельного периода вымывания участники вступали в период вмешательства 2, в котором они получали другой молочный продукт. Визиты были запланированы в начале каждого периода вмешательства и в день 7 и 14 каждого интервизионного периода. В течение каждого периода вымывания с участниками проводились телефонные контакты. Исследование проводилось на кафедре гастроэнтерологии больницы Синь Хуа, расположенной в Шанхайском университете Цзяо Тонг, медицинский факультет (Шанхай, Китай).

### Вмешательства

Молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин типа A2, и молоко, содержащее  $\beta$ -казеин типов A1 и A2, было предоставлено компанией «A2 Инфанти Нутришн Лимитед» (A2 Infant Nutrition Limited) (Окленд, Новая Зеландия) и передано в исследовательский центр компанией «СПРИМ Чайна» (SPRIM China). Сотрудники «СПРИМ Чайна» (SPRIM China) переупаковывали и маркировали все продукты, для обеспечения ослепления участников и исследователей на предмет того, какой продукт они получали в каждый период вмешательства. В каждый период вмешательства участники потребляли 250 мл молока после двух приемов пищи в день в течение 14 дней. Участники использовали дневник для регистрации потребления молока и соблюдения требований каждого периода вмешательства. Использованные и неиспользованные картонные коробки собирались при каждом визите для оценки соответствия требованиям периода вмешательства и для подтверждения того, что ослепление не было нарушено.

Участники были рандомизированы со стратификацией по полу в последовательность 1 (A1/A2  $\rightarrow$  A2) или последовательность 2 (A2  $\rightarrow$  A1/A2) в соответствии с рандомизационным номером, который хранился в запечатанном конверте. Распределение проводилось в соответствии со сгенерированным компьютером списком, подготовленным «СПРИМ Чайна» (SPRIM China).

Молоко только с  $\beta$ -казеином A2 (на 100 мл) содержало: 271 кДж энергии, 3,1 г белков, 3,6 г жиров, 5,0 г углеводов, 48 мг натрия, 150 мг калия и 117 мг кальция. Соотношение  $\beta$ -казеина A1 и  $\beta$ -казеина A2 составляло примерно 40:60 в молоке, содержащем оба типа  $\beta$ -казеина, что подтверждалось высокоэффективной жидкостной хроматографией и масс-спектрометрией. Оба продукта были идентичны и содержали одинаковое количество белка.

Потребление молочных продуктов, отличных от тех, которые были предоставлены, было запрещено во время исследования, и участникам не разрешалось потреблять любые другие производные коровьего

молока, в течение каждого периода вымывания.

## Пациенты

Критерии включения были следующими: мужчины или женщины; возраст 25-68 лет; нерегулярное потребление молока (согласно данным заполненного опросника частоты потребления различных пищевых продуктов); самостоятельно сообщенная непереносимость коммерчески-доступного молока; самостоятельно сообщенные проявления легкого и умеренного дискомфорта пищеварения после потребления молока; и нормальные электрокардиограммы (ЭКГ) и артериальное давление во время спокойного дыхания.

Перекрестное исследование: Временная шкала и анализ							
<b>Временная шкала</b>	День -13 день 0	День 1	день 14	День 15	день 28	День 29	день 42
<b>Даты</b>	2-недельный период		1 ноября	14 ноября	2-недельный период		29 ноября 12 декабря
<b>Фаза исследования и диета</b>	вымывания		Фаза 1 Группа 1: A1/A2 молоко Группа 2: A2/A2 молоко		вымывания		Фаза 2 Группа 1: A2/A2 молоко Группа 2: A1/A2 молоко
<b>Анализ</b>	Опросник Сыворотка крови (СРБ, Hb, ИЛ-4, IgG, IgG1, IgG2a, IgE, глутатион.) ВАШ SCIT Фекалии (КЦЖК, МПО)		Опросник «Умная» таблетка Сыворотка ВАШ SCIT Фекалии (измеряется в течение 12 часов при прекращении вмешательства)		Опросник Сыворотка ВАШ SCIT Фекалии		Опросник «Умная» таблетка Сыворотка ВАШ SCIT Фекалии (измеряется в течение 12 часов при прекращении вмешательства)
→ Диета с исключением молочных продуктов на всех этапах вымывания и во всех фазах исследования →							
Участники ежедневно регистрируют нежелательные явления, желудочно-кишечные симптомы, потребление молока в рамках исследования, соблюдение режима питания							

Рис. 1 Дизайн исследования. A1 = молоко, содержащее  $\beta$ -казеин A1 и A2; A2 = молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин; A2 vч-СРБ, высокочувствительный С-реактивный белок; Hb, гемоглобин; ИЛ-4, интерлейкин-4; Ig, иммуноглобулин; BCM-7,  $\beta$ -казеин-7; GSH, глутатион; PD3, желудочно-кишечные симптомы пищеварительного дискомфорта после потребления молочных продуктов; SCIT, тест на легкие когнитивные нарушения; КЦЖК, короткоцепочечные жирные кислоты; МПО, миелопероксидаза

Участники включались в исследование, если они: согласились не принимать никаких лекарств, пищевых добавок или других молочных продуктов, включая ацидофильное молоко, во время исследования; были готовы выполнять все требования и процедуры исследования; предоставили подписанное информированное согласие; согласились не участвовать в других интервенционных клинических исследованиях в период настоящего исследования; не соответствовали ни одному из критериев исключения (см. дополнительный файл 1); и полностью осознавали характер, цель, пользу и потенциальные риски и побочные эффекты исследования. В исследование не было включено ни одного пациента с нарушениями, такими как синдром раздраженного кишечника, запор или нелекарственное воспалительное заболевание кишечника.

Участников набирали в исследование через рекламу, размещенную на досках объявлений в общественных больницах.

## Показатели в исследовании

На скрининге участникам проводились комплексные оценки, включая сбор медицинского анамнеза, измерения (рост, масса тела, артериальное давление, ЭКГ), физикальное обследование и количественное определение галактозы в моче. Следующие оценки проводили в начале исследования и в день 14 обоих периодов вмешательства: тест на легкие когнитивные нарушения (SCIT); самостоятельно сообщаемые симптомы пищеварительного дискомфорта после потребления молочных продуктов; и лабораторные исследования (см. дополнительный файл 1). Участники ежедневно заполняли дневники для регистрации потребления молока, соблюдения требований исследования,

желудочно-кишечных симптомов и нежелательных явлений. Кроме того, в день 14 каждого периода вмешательства участникам вводили «умную» таблетку («ОМОН Капсула» (OMOM Capsule), «Чунцин Цзыньшань Сайенс энд Технолоджи [Групп] Ко., Лтд.» (Chongqing Jinshan Science & Technology [Group] Co., Ltd.), Чунцин, Китай).

**Симптомы желудочно-кишечного дискомфорта, вызванного потреблением молочных продуктов**  
Желудочно-кишечные симптомы регистрировались с использованием Бристольской шкалы оценки частоты и консистенции стула, показатели которой регистрировались ежедневно в дневниках. Консистенцию стула оценивали по 7-балльной шкале, согласно которой 1 = отдельные жёсткие куски, с трудом проходящие прямую кишку, а 7 = водянистый кал, без твёрдых кусочков; либо полностью жидкий. На каждом визите исследователь оценивал симптомы желудочно-кишечного дискомфорта, путем опроса, испытывает ли участник что-либо из следующего: вздутие живота, боль в животе, метеоризм, тяжесть в желудке и урчание в животе (урчание в желудке). Каждый признак оценивался по 4-балльной шкале лайкертского типа, следующим образом: никогда (балл = 0), редко (балл = 1), часто (балл = 2) или постоянно (балл = 3).

#### **Измерение времени прохождения по ЖКТ и воспаления при помощи «умной» таблетки**

«Умная» таблетка вводилась в день 14 каждого периода вмешательства для расчета следующих переменных: время прохождения по тонкой кишке (ВПТонК) - время между вхождением капсулы в тонкую кишку и попаданием в слепую кишку; время прохождения по толстой кишке (ВПТолК) - время между вхождением капсулы в слепую кишку и дефекацией; и общего времени прохождения по желудочно-кишечному тракту (ВПЖКТ) - время между проглатыванием капсулы и дефекацией.

Воспаление желудка и тонкой кишки также исследовали при помощи «умной» таблетки и оценивали как «уменьшение», «увеличение» и «отсутствие изменений». Поскольку исследование являлось пилотным, было закуплено ограниченное количество «умных» таблеток. Воспаление диагностировалось и оценивалось гастроэнтерологом по изображениям, полученным с помощью «умной» таблетки. Воспаление оценивали как «увеличение»/«отсутствие уменьшения»/«уменьшение» на основании изображений и видео, полученных после двух вмешательств. Гастроэнтеролог был ослеплен по отношению к вмешательству и знал только идентификационные номера участников.

#### **SCIT**

SCIT - это компьютерный тест, который измеряет скорость и эффективность обработки информации [25]. Участники указывали, какая из двух параллельных вертикальных линий на целевом стимуле короче, нажимая левую или правую кнопку мыши. Визуально маскированный целевой стимул случайным образом демонстрировался на экране в течение 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112 и 128 мс; по 12 раз для каждого стимула, в общей сложности 96 раз. Время реакции участника и частота ошибок регистрировались для каждой продолжительности воздействия стимула. Данные по четырем кратчайшим длительностям воздействия стимула (16-64 мс; называемые «началом» кривой реакции) объединялись для выставления двух репрезентативных оценок теста для предсознательной автоматической обработки информации: времени реакции (SCIT-RTH) и частоты ошибок (SCIT-EH). Данные по четырем большим длительностям (83-133 мс; называемые «концом» кривой реакции) объединялись для выставления двух репрезентативных оценок теста для сознательной автоматической обработки информации: времени реакции (SCIT-RTT) и частоты ошибок (SCIT-ET). SCIT имеет высокую ретестовую надежность и внутреннюю согласованность, а также средне-высокую содержательную валидность [25].

#### **Нежелательные явления**

Нежелательные явления регистрировались в индивидуальных регистрационных картах и классифицировались по степени тяжести, связи с вмешательством и исходу. Тип явления регистрировался с использованием кодов, представленных в дополнительном файле 1.

#### **Статистический анализ**

В связи с тем, что исследование являлось поисковым, расчет размера выборки не проводился. Мы планировали включить около 40 участников после анализа дизайна и результатов предыдущего двойного слепого рандомизированного 8-недельного перекрестного исследования [20].

Для оценки нормальности непрерывных переменных использовался критерий согласия Колмогорова-Смирнова. Ненормально распределенные переменные подвергались квадратичному или

логарифмическому преобразованию для приближения к нормальному распределению. Исходные характеристики представлены описательно в виде средних  $\pm$  стандартное отклонение (CO, SD) или количества участников (в процентах). SCIT, время прохождения по желудочно-кишечному тракту, частота/консистенция стула и лабораторные переменные были проанализированы с использованием дисперсионного анализа со смешанными эффектами, в котором назначенное вмешательство и период вмешательства являлись фиксированными эффектами, а участник являлся случайным эффектом, вложенным в последовательность исследования (т. е. последовательность 1, A1/A2  $\rightarrow$  A2, последовательность 2, A2  $\rightarrow$  A1/A2). Чтобы выявить различия в средних значениях между двумя вмешательствами для каждой конечной точки и определить, менялись ли средние значения в течение периодов исследования, для проверки влияния вмешательств и периодов исследования использовались тесты III типа фиксированных эффектов. Кроме того, были проведены контрастные тесты для сравнения средних значений для каждого продукта. Наличие эффекта переноса оценивали с использованием взаимосвязи вмешательство  $\times$  период. Если эта взаимосвязь не являлась статистически значимой, подвергались оценке данные из обоих периодов. Если взаимосвязь была статистически значимой, использовались только данные периода вмешательства 1. Желудочно-кишечные симптомы и результаты теста на галактозу в моче оценивали с использованием обобщенных оценочных уравнений (GEE), в которых последовательность вмешательств и время измерения являлись фиксированными эффектами, а участники являлись случайными эффектом, вложенным в последовательность исследования. Корректировок для множественных сравнений не проводилось. Нежелательные явления регистрировались в виде количества (процент) участников с каждым типом явления.

## Результаты

### Пациенты

Это исследование проводилось в период с октября 2014 г. по декабрь 2014 г. Всего 104 добровольца согласились принять участие в исследовании и прошли тест на галактозу в моче. Все пациенты были китайцами. Из них 45 участников (21 мужчина, 24 женщины, средний  $\pm$  SD возраст  $46,6 \pm 14,0$  лет) с самостоятельно сообщенной непереносимостью коровьего молока удовлетворяли критериям приемлемости и были рандомизированы в последовательности 1 или 2. Двадцать три участника (8 в последовательности 1 и 15 в последовательности 2) имели подтвержденную непереносимость лактозы по результатам теста на галактозу в моче. Участники, распределенные в обе последовательности, были хорошо подобраны с точки зрения исходных характеристик (таблица 1). Все участники сообщили, что они нерегулярно потребляли коровье молоко и имели самостоятельно сообщенную непереносимость коровьего молока.

### Сывороточные и фекальные биомаркеры

Результаты лабораторных исследований сыворотки крови и фекалий представлены в таблице 2. Влияние периода вмешательства или последовательности отсутствовало для всех лабораторных переменных (данные не показаны). Однако исходное значение являлось статистически значимой ковариатой для всех лабораторных переменных. Как показано в таблице 2, между двумя молочными продуктами были обнаружены статистически значимые различия в отношении концентрации IL-4 в сыворотке ( $P < 0,0001$ ), IgG ( $P = 0,0007$ ), IgE ( $P = 0,0253$ ) и IgG1 ( $P = 0,0037$ ) и концентрации уксусной кислоты ( $P = 0,0052$ ), бутановой кислоты ( $P = 0,0001$ ) и общих жирных кислот с короткой цепью (КЦЖК) ( $P = 0,0009$ ) в фекалиях.

### Симптомы желудочно-кишечного дискомфорта, вызванного потреблением молочных продуктов

Самостоятельно сообщенные желудочно-кишечные симптомы приведены в таблицах 3 и 4, а показатели Бристольской шкалы стула представлены в таблице 5. Анализ GEE не выявил статистически значимого влияния последовательности на любой из симптомов. Отмечались статистически значимые различия в распределении баллов по симптомам вздутия, метеоризма и урчания в обеих последовательностях, когда участники потребляли молоко, содержащее оба типа  $\beta$ -казеина в Н1 и Н2 последовательности 1 или в Н5 и Н6 последовательности 2, по сравнению с исходной. Результаты показывают, что в эти временные точки симптомы были более выражены, чем в начале исследования. Напротив, очевидное ухудшение симптомов, когда участники потребляли молоко, содержащее только тип А2, отсутствовало, указывая на то, что этот тип не влиял на желудочно-кишечные симптомы. Для частоты стула, время ( $P < 0,0001$ ) и последовательность  $\times$  время ( $P < 0,0001$ ) являлись статистически значимыми факторами в ANOVA со смешанными эффектами, а последовательность ( $P = 0,2801$ ) не являлась. При оценке

консистенции стула по Бристольской шкале, статистически значимым фактором была только взаимосвязь последовательность x время ( $P = 0,0022$ ). Потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, также было связано с увеличением как частоты стула, так и балла по Бристольской шкале, по сравнению с исходным уровнем (таблицы 2 и 4). Напротив, потребление молока, содержащего только тип A2  $\beta$ -казеина, не было связано с изменениями в любой переменной во времени.

### Время прохождения по желудочно-кишечному тракту

Поскольку для этого исследования было закуплено только 80 «умных» таблеток, «умная» таблетка не вводилась пяти участникам в последовательности 2 (A2  $\rightarrow$  A1/A2). На рисунке 2 сравнивается региональное время прохождения по желудочно-кишечному тракту, измеренное при помощи «умной» таблетки. Тесты типа III фиксированных эффектов подтвердили, что вмешательство являлось статистически значимым фактором с точки зрения ВПТолК ( $P < 0,0001$ ) и ВПЖКТ ( $P < 0,0001$ ), но не ВПТонК ( $P = 0,5930$ ). Длительность вмешательства и последовательность не являлись статистически значимыми факторами, что означало, что они не влияли на время прохождения по желудочно-кишечному тракту. Потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано со значительно более длительным ВПТолК (на 6,6 часа,  $P < 0,0001$ ) и ВПЖКТ (на 6,3 часа,  $P < 0,0001$ ), но не на ВПТонК (-0,20 ч,  $P = 0,5903$ ) по сравнению с молоком, содержащим только  $\beta$ -казеин типа A2.

**Таблица 1** Характеристики пациентов

Группа исследования	Последовательность 1 (n = 22) <sup>a</sup>		Последовательность 2 (n = 23) <sup>b</sup>		Все участники		Значение p <sup>c</sup>
	Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины	
Пол	10	(45,5%)	11	(47,8%)	21	(46,7%)	—
	12	(54,5%)	12	(52,2%)	24	(53,3%)	
Возраст (лет)	45,7	(12,3)	47,5	15,6	46,6	(14,0)	0,664
Масса тела (кг)	72,4	(19,9)	66,7	(14,3)	69,5	(17,3)	0,272
Рост (см)	167,5	(9,4)	166,4	(8,0)	166,9	(8,6)	0,695
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )	25,4	(4,6)	24,0	3,7	24,6	4,2	0,226
Температура тела (°C)	36,9	(0,1)	36,8	(0,2)	36,8	(0,2)	0,207
АДд (мм рт. ст.)	76,1	(5,2)	75,5	6,5	75,8	(5,8)	0,748
АДс (мм рт. ст.)	124,6	(6,7)	121,2	(8,8)	122,9	(7,9)	0,145
Непереносимость лактозы	8	(36,4%)	15	(65,2%)	23	(51,1%)	

<sup>a</sup> Последовательность 1: A1/A2  $\rightarrow$  A2

<sup>b</sup> Последовательность 2: A2  $\rightarrow$  A1/A2

<sup>c</sup> Анализ изменчивости (ANOVA)

ИМТ, индекс массы тела; АДд, диастолическое артериальное давление ; АДс, систолическое артериальное давление

### Воспаление желудочно-кишечного тракта

Данные по желудочно-кишечному воспалению, полученные «умной» таблеткой, были доступны для 22 участников в последовательности 1 (A1/A2  $\rightarrow$  A2) и 18 участников в последовательности 2 (A2  $\rightarrow$  A1/A2). Между фазами 1 и 2 воспаление тонкой кишки было расценено как «уменьшение», «отсутствие изменений» и «увеличение» у 8 (36,4%), 14 (63,6%) и 0 (0%) участников, соответственно, в последовательности 1 (A1/A2  $\rightarrow$  A2) по сравнению с 2 (11,1%), 15 (83,3%) и 1 (5,6%) участниками, соответственно, в последовательности 2 (A2  $\rightarrow$  A1/A2) ( $P = 0,042$ ). Между фазами 1 и 2 воспаление желудка было расценено как «уменьшение», «отсутствие изменений» и «увеличение» у 5 (22,7%), 17 (77,3%) и 0 (0%) участников, соответственно, в последовательности 1 по сравнению с 2 (11,1%), 16 (83,3%) и 0 (0%) соответственно, в последовательности 2 ( $P = 0,427$ ). Эти результаты указывают на то, что воспаление тонкой кишки уменьшилось у 36,4% участников, а воспаление желудка - 22,7% участников после перехода с молока, содержащего  $\beta$ -казеин A1/A2, на молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин A2. В отличие от этого, воспаление тонкой кишки и воспаление желудка уменьшилось у 11,1% пациентов после перехода с молока, содержащего  $\beta$ -казеин A1/A2, на молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин A2.

### SCIT

Результаты SCIT представлены на рис.3а для фазы 1 и рис. 3б для фазы 2 для каждой последовательности. Результаты ANOVA со смешанными эффектами подтвердили, что вмешательство являлось статистически значимым фактором с точки зрения времени реакции ( $P = 0,0013$ ) и частоты ошибок ( $P = 0,0004$ ) для каждой продолжительности воздействия. Статистически значимые эффекты вмешательства были также обнаружены в отношении конечного среднего времени реакции ( $P = 0,027$ ) и

в начальной средней частоте ошибок ( $P = 0,020$ ) (таблица 6). Исходные значения для всех переменных SCIT являлись статистически значимыми ковариатами, но между периодами вмешательства или последовательностью статистически значимых различий не наблюдалось.

#### **Анализ по подгруппам у пациентов с подтвержденной непереносимостью лактозы**

Двадцать три участника имели подтвержденную непереносимость лактозы по результатам теста на галактозу в моче. Исходные характеристики этих участников были аналогичны исходным характеристикам участников с нормальной переносимостью лактозы. На рис. 4 представлены еженедельные общие оценки симптомов желудочно-кишечного дискомфорта после потребления молочных продуктов у пациентов с непереносимостью лактозы или без нее. Потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано со значительным ухудшением желудочно-кишечных симптомов у участников с непереносимостью лактозы и с нормальной переносимостью при любой последовательности. Напротив, потребление молока, содержащего только A2  $\beta$ -казеин, не было связано с ухудшением желудочно-кишечных симптомов, поскольку они были сопоставимы с симптомами, наблюдавшимися после исходного вымывания молочных продуктов. Когда мы объединили данные из обеих последовательностей, величина усиления выраженности симптомов желудочно-кишечного тракта после потребления молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, как правило, была больше у пациентов с непереносимостью лактозы, чем у пациентов с нормальной переносимостью лактозы, и это имело пограничную статистическую значимость (различие средних, полученных с использованием метода наименьших квадратов: 1,087, 95% ДИ -0,0652, 2,2392,  $P = 0,0638$ ). Напротив, показатель симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта не различался статистически достоверно между участниками с непереносимостью лактозы и без после потребления молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа A2 (различие средних, полученных с использованием метода наименьших квадратов: 0,494, 95% ДИ -0,3247, 1,3128,  $P = 0,2303$ ). Потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано со статистически значимым увеличением ВПТолК и ВПЖКТ, но не с ВПТонК, по сравнению с молоком, содержащим только тип A2  $\beta$ -казеина (таблица 7).

Когда данные для каждой последовательности были объединены в соответствии с типом потребляемого молока, потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано со статистически значимым увеличением времени прохождения по желудочно-кишечному тракту (см. дополнительный файл 2), а также со статистически значимым повышением уровней ИЛ-4, IgE и log IgG1 в сыворотке и снижением содержания КЦЖК в кале (см. дополнительный файл 3).



**Таблица 2** Результаты лабораторных исследований сыворотки крови и кала

Переменная	Последовательность 1 <sup>a</sup>				Последовательность 2 <sup>b</sup>				ANOVA с фиксированными эффектами		
	Период 1		Период 2		Период 1		Период 2		Оценка <sup>c</sup>	CO (SD)	Значение p <sup>d</sup>
	Исх	ПВ	Исх	ПВ	Исх	ПВ	Исх	ПВ			
<b>Сыворотка</b>											
вчСРБ (мг/л)	1,00 ± 0,70	1,17 ± 0,64	0,97 ± 0,58	1,10 ± 0,58	1,03 ± 1,03	1,02 ± 1,11	1,01 ± 0,98	1,18 ± 1,04	0,0722 <sup>e</sup>	0,03746	0,0608
Нб (г/л)	141,7 ± 17,5	145,1 ± 17,0	136,7 ± 23,2	143,9 ± 16,4	142,8 ± 20,1	145,5 ± 17,7	137,5 ± 25,2	142,0 ± 18,1	-0,8654	1,6781	0,6088
ИЛ-4 (нг/л)	11,8 ± 4,2	14,1 ± 5,2	11,1 ± 3,4	11,0 ± 3,2	11,9 ± 4,3	12,0 ± 3,7	11,8 ± 3,4	14,1 ± 4,6	2,5258	0,5338	<0,0001
IgG (г/л)	10,3 ± 2,1	11,6 ± 2,3	10,2 ± 1,7	10,6 ± 1,4	10,6 ± 2,1	11,1 ± 1,9	10,8 ± 1,8	12,2 ± 1,7	0,1426 <sup>e</sup>	0,03915	0,0007
IgE (МЕ/мл)	61,3 ± 29,0	69,8 ± 38,0	63,3 ± 30,1	66,2 ± 28,9	58,6 ± 31,2	60,7 ± 33,3	56,7 ± 31,3	64,4 ± 34,2	5,9688	2,5741	0,0253
IgG1 (мг/мл)	29,4 ± 31,3	37,4 ± 39,1	31,0 ± 33,1	30,3 ± 32,9	33,0 ± 28,3	28,5 ± 28,5	32,9 ± 27,2	37,4 ± 31,4	0,2424 <sup>f</sup>	0,07873	0,0037
<b>Фекалии</b>											
Уксусная кислота (%)	0,42 ± 0,15	0,42 ± 0,15	0,40 ± 0,14	0,46 ± 0,11	0,39 ± 0,19	0,46 ± 0,19	0,39 ± 0,17	0,36 ± 0,11	-0,0667	0,0226	0,0052
Пропановая кислота (%)	0,18 ± 0,07	0,18 ± 0,07	0,17 ± 0,07	0,17 ± 0,07	0,17 ± 0,09	0,19 ± 0,13	0,18 ± 0,09	0,17 ± 0,07	-0,006 <sup>e</sup>	0,0187	0,7504
Бутановая кислота (%)	0,17 ± 0,07	0,16 ± 0,07	0,16 ± 0,07	0,20 ± 0,08	0,17 ± 0,09	0,23 ± 0,09	0,17 ± 0,08	0,16 ± 0,05	-0,0515	0,0122	0,0001
Всего КЦЖК (%)	0,76 ± 0,24	0,76 ± 0,24	0,72 ± 0,24	0,83 ± 0,19	0,73 ± 0,33	0,88 ± 0,33	0,74 ± 0,28	0,69 ± 0,18	-0,1289	0,03609	0,0009

<sup>a</sup> Последовательность 1: A1/A2 → A2

<sup>b</sup> Последовательность 2: A2 → A1/A2

<sup>c</sup> A1/A2 - A2

<sup>d</sup> Значения, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы со значением P < 0,05

<sup>e</sup> Поскольку переменная была распределена неравномерно, ANOVA со смешанными эффектами выполнялся с использованием значений с преобразованием по квадратному корню

<sup>f</sup> Поскольку переменная была распределена неравномерно, ANOVA со смешанными эффектами выполнялся с использованием значений с преобразованием в логарифмические значения ANOVA, дисперсионный анализ; Исх, исходный уровень; ПВ после вмешательства (т. е. через 2 недели после каждого вмешательства); SD, стандартное отклонение; вч-СРБ, высокочувствительный С-реактивный белок; Нб, гемоглобин; ВСМ-7, β-казморфин-7; ИЛ-4 интерлейкин-4; Ig, иммуноглобулин; КЦЖК, короткоцепочечные жирные кислоты

**Таблица 3** Желудочно-кишечные симптомы, еженедельная частота стула и показатели Бристольской шкалы стула

Уровень последовательности <sup>a,b</sup>	Исходный уровень	Фаза 1			Период вымывания		Фаза 2	
		Неделя 0	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3	Неделя 4	Неделя 5	Неделя 6
<b>Вздутие</b>								
Последовательность 1	0	19 (86,4)	12 (54,6)	12 (54,6)	19 (86,4)	20 (90,9)	19 (86,4)	21 (95,5)
	1	2 (9,1)	6 (27,3)	7 (31,8)	3 (13,6)	2 (9,1)	3 (13,6)	1 (4,6)
	2	1 (4,6)	3 (13,6)	3 (13,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	3	0 (0,0)	1 (4,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Последовательность 2	0	20 (87,0)	19 (82,6)	19 (82,6)	20 (87,0)	20 (87,0)	12 (52,2)	12 (52,2)
	1	2 (8,7)	3 (13,0)	4 (17,4)	3 (13,0)	3 (13,0)	6 (26,1)	9 (39,1)
	2	1 (4,4)	1 (4,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (17,4)	1 (4,4)
	3	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,4)	1 (4,4)
<b>Боль в животе</b>								
Последовательность 1	0	19 (86,4)	17 (77,3)	15 (68,2)	18 (81,8)	20 (90,9)	19 (86,4)	20 (90,9)
	1	3 (13,6)	5 (22,7)	7 (31,8)	4 (18,2)	2 (9,1)	3 (13,6)	2 (9,1)
Последовательность 2	0	21 (91,3)	22 (95,7)	21 (91,3)	21 (91,3)	21 (91,3)	17 (73,9)	18 (78,3)
	1	2 (8,7)	1 (4,4)	2 (8,7)	2 (8,7)	2 (8,7)	5 (21,7)	4 (17,4)
	2	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,4)	1 (4,4)
<b>Метеоризм</b>								
Последовательность 1	0	19 (86,4)	15 (68,2)	15 (68,2)	20 (90,9)	21 (95,5)	21 (95,5)	21 (95,5)
	1	3 (13,6)	4 (18,2)	2 (9,1)	1 (4,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
	2	0 (0,0)	3 (13,6)	5 (22,7)	1 (4,6)	1 (4,6)	1 (4,6)	1 (4,6)
Последовательность 2	0	20 (87,0)	20 (87,0)	20 (87,0)	21 (91,3)	20 (87,0)	3 (13,0)	16 (69,6)
	1	2 (8,7)	2 (8,7)	3 (13,0)	2 (8,7)	3 (13,0)	8 (34,8)	3 (13,0)
	2	1 (4,4)	1 (4,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (8,7)	4 (17,4)
<b>Тяжесть в желудке</b>								
Последовательность 1	0	1 (4,6)	1 (4,6)	2 (9,1)	2 (9,1)	2 (9,1)	6 (27,3)	6 (27,3)
	1	13 (59,1)	15 (68,2)	12 (54,6)	12 (54,6)	13 (59,1)	5 (22,7)	5 (22,7)
	2	8 (36,4)	6 (27,3)	8 (36,4)	8 (36,4)	7 (31,8)	11 (50,0)	11 (50,0)
Последовательность 2	0	2 (8,7)	1 (4,4)	3 (13,0)	2 (8,7)	2 (8,7)	3 (13,0)	3 (13,0)
	1	13 (56,5)	15 (65,2)	13 (56,5)	14 (60,9)	14 (60,9)	13 (56,5)	12 (52,2)
	2	8 (34,8)	6 (26,1)	6 (26,1)	7 (30,4)	7 (30,4)	7 (30,4)	8 (34,8)
	3	0 (0,0)	1 (4,4)	1 (4,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>Урчание в животе</b>								
Последовательность 1	0	15 (68,2)	8 (36,4)	10 (45,5)	15 (68,2)	14 (63,6)	15 (68,2)	13 (59,1)
	1	6 (27,3)	10 (45,5)	5 (22,7)	6 (27,3)	7 (31,8)	7 (31,8)	9 (40,96)
	2	1 (4,6)	4 (18,2)	6 (27,3)	1 (4,6)	1 (4,6)	0 (0,0)	0 (0,0)
	3	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Последовательность 2	0	16 (69,6)	15 (65,2)	16 (69,6)	14 (60,9)	16 (69,6)	6 (26,1)	8 (34,8)
	1	6 (26,1)	8 (34,8)	7 (30,4)	9 (39,1)	7 (30,4)	11 (47,8)	9 (39,1)
	2	1 (4,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (26,1)	6 (26,1)
<b>Еженедельная частота стула</b>								
Последовательность 1 (среднее ± CO)		7,86 ± 1,98	10,95 ± 3,54	11,05 ± 4,21	9,41 ± 2,46	7,95 ± 2,30	8,32 ± 1,70	7,91 ± 1,15
Последовательность 2 (среднее ± CO)		7,57 ± 1,95	7,91 ± 1,28	7,87 ± 1,91	7,61 ± 1,73	7,83 ± 1,59	10,22 ± 4,16	10,43 ± 3,46
<b>Балл по Бристольской шкале консистенции стула</b>								
Последовательность 1 (среднее ± CO)		4,05 ± 0,65	4,54 ± 0,77	4,42 ± 0,74	4,28 ± 0,45	4,08 ± 0,46	4,07 ± 0,35	4,05 ± 0,25
Последовательность 2 (среднее ± CO)		4,09 ± 0,67	4,12 ± 0,33	4,08 ± 0,61	4,12 ± 0,54	4,07 ± 0,51	4,49 ± 0,70	4,35 ± 1,11

Значения представлены как n (%) участников

<sup>a</sup> Последовательность 1: A1/A2 → A2

<sup>b</sup> Последовательность 2: A2 → A1/A2

**Таблица 4** Влияние последовательности, времени и вмешательства на желудочно-кишечные СИМПТОМЫ

Исход	Влияние <sup>a,b</sup>	Оценка (логарифм отношения шансов) <sup>c</sup>	Ст.Ош.	95 % доверительный интервал		Значение p <sup>d</sup>		
				Нижний предел	Верхний предел			
Вздутие	Последовательность 1 по сравн. с 2	0,0522	0,8788	-1,6701	1,7745	0,9526		
	Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	1,7527	0,6363	0,5055	2,9999	0,0059	
		H2 по сравн. с исх	1,6511	0,6742	0,3297	2,9724	0,0143	
		H3 по сравн. с исх	-0,051	0,5686	-1,1655	1,0635	0,9285	
		H4 по сравн. с исх	-0,496	0,8014	-2,0667	1,0748	0,536	
		H5 по сравн. с исх	-0,051	0,7783	-1,5765	1,4745	0,9477	
		H6 по сравн. с исх	-1,2279	1,2429	-3,6639	1,2082	0,3232	
	Последовательность 2	H1 по сравн. с исх	0,3289	0,5601	-0,7689	1,4267	0,5571	
		H2 по сравн. с исх	0,2792	0,5768	-0,8513	1,4097	0,6283	
		H3 по сравн. с исх	-0,0479	0,5305	-1,0876	0,9918	0,928	
		H4 по сравн. с исх	-0,0479	0,5305	-1,0876	0,9918	0,928	
		H5 по сравн. с исх	1,9572	0,6713	0,6415	3,2729	0,0036	
		H6 по сравн. с исх	1,7308	0,6743	0,4092	3,0525	0,0103	
	Боль в животе	Последовательность 1 по сравн. с 2	0,5028	0,9654	-1,3893	2,3949	0,6025	
		Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	0,6221	0,6176	-0,5884	1,8325	0,3138
			H2 по сравн. с исх	1,0837	0,5145	0,0754	2,092	0,0352
			H3 по сравн. с исх	0,3417	0,5903	-0,8152	1,4987	0,5626
			H4 по сравн. с исх	-0,4568	0,4501	-1,339	0,4255	0,3103
H5 по сравн. с исх			0	0,5458	-1,0698	1,0698	1	
H6 по сравн. с исх			-0,4568	0,4501	-1,339	0,4255	0,3103	
Последовательность 2		H1 по сравн. с исх	-0,735	1,3002	-3,2834	1,8134	0,5719	
		H2 по сравн. с исх	0	1,0937	-2,1436	2,1436	1	
		H3 по сравн. с исх	0	1,0937	-2,1436	2,1436	1	
		H4 по сравн. с исх	0	1,0937	-2,1436	2,1436	1	
		H5 по сравн. с исх	1,3386	0,9439	-0,5114	3,1886	0,1562	
		H6 по сравн. с исх	1,1058	0,8062	-0,4742	2,6859	0,1702	
Метеоризм		Последовательность 1 по сравн. с 2	0	0,8711	-1,7074	1,7074	1	
		Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	1,0987	0,471	0,1756	2,0218	0,0197
			H2 по сравн. с исх	1,2275	0,461	0,324	2,131	0,0078
			H3 по сравн. с исх	-0,3793	0,8025	-1,9521	1,1936	0,6365
			H4 по сравн. с исх	-1,0965	1,2459	-3,5384	1,3454	0,3788
	H5 по сравн. с исх		-1,0965	1,2459	-3,5384	1,3454	0,3788	

		H6 по сравн. с исх	-1,0965	1,2459	-3,5384	1,3454	0,3788
	Последовательность 2	H1 по сравн. с исх	0	0,5227	-1,0244	1,0244	1
		H2 по сравн. с исх	-0,0494	0,5296	-1,0874	0,9885	0,9256
		H3 по сравн. с исх	-0,4911	0,4293	-1,3325	0,3502	0,2526
		H4 по сравн. с исх	-0,0494	0,5296	-1,0874	0,9885	0,9256
		H5 по сравн. с исх	1,5444	0,5457	0,4748	2,6141	0,0047
		H6 по сравн. с исх	1,1939	0,541	0,1336	2,2542	0,0273
Тяжесть в желудке	Последовательность 1 по сравн. с 2		0,1422	0,5364	-0,9091	1,1935	0,791
	Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	-0,2612	0,2897	-0,829	0,3067	0,3673
		H2 по сравн. с исх	-0,0935	0,3705	-0,8197	0,6326	0,8007
		H3 по сравн. с исх	-0,0935	0,308	-0,6972	0,5102	0,7614

**Таблица 4** Влияние последовательности, времени и вмешательства на желудочно-кишечные симптомы (продолжение)

		H4 по сравн. с исх	-0,2295	0,3383	-0,8925	0,4334	0,4974
		H5 по сравн. с исх	-0,0587	0,3931	-0,8292	0,7117	0,8812
		H6 по сравн. с исх	-0,0587	0,3928	-0,8286	0,7111	0,8811
	Последовательность 2	H1 по сравн. с исх	0,0167	0,3576	-0,6841	0,7176	0,9627
		H2 по сравн. с исх	-0,215	0,3906	-0,9806	0,5507	0,5821
		H3 по сравн. с исх	-0,1475	0,3687	-0,8702	0,5752	0,6891
		H4 по сравн. с исх	-0,1475	0,3717	-0,8761	0,5811	0,6915
		H5 по сравн. с исх	-0,2664	0,5159	-1,2776	0,7448	0,6056
		H6 по сравн. с исх	-0,1131	0,5352	-1,1621	0,9358	0,8326
Урчание в животе	Последовательность 1 по сравн. с 2		0,0635	0,6389	-1,1887	1,3157	0,9208
	Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	1,337	0,4883	0,3799	2,2941	0,0062
		H2 по сравн. с исх	1,4152	0,5307	0,3751	2,4553	0,0077
		H3 по сравн. с исх	0	0,4311	-0,845	0,845	1
		H4 по сравн. с исх	0,1847	0,456	-0,7092	1,0785	0,6856
		H5 по сравн. с исх	-0,0619	0,4887	-1,0198	0,896	0,8993
		H6 по сравн. с исх	0,2874	0,5223	-0,7362	1,311	0,5821
	Последовательность 2	H1 по сравн. с исх	0,1243	0,3335	-0,5293	0,7779	0,7094
		H2 по сравн. с исх	-0,0606	0,2848	-0,6189	0,4977	0,8315
		H3 по сравн. с исх	0,2951	0,2606	-0,2157	0,8058	0,2575
		H4 по сравн. с исх	-0,0606	0,399	-0,8426	0,7214	0,8793
		H5 по сравн. с исх	2,064	0,4595	1,1634	2,9647	<0,0001
		H6 по сравн. с исх	1,7846	0,4922	0,8199	2,7494	0,0003

<sup>a</sup> Последовательность 1: A1/A2 → A2

<sup>b</sup> Последовательность 2: A2 → A1/A2

<sup>c</sup> Исходные показатели - указанный визит

<sup>d</sup> Значения, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы со значением P < 0,05

Ст. Ош.: стандартная ошибка, Исх.: исходные показатели, Н: неделя

### Нежелательные явления

Тринадцать эпизодов диареи были зарегистрированы у 10 (22,2%) из 45 пациентов. Было рассмотрено восемь явлений, относящихся к пяти участникам, и связанных с потреблением молока, содержащего оба типа β-казеина, три случая, относящихся к трем участникам считались связанными с молоком, содержащим тип A2 β-казеина, и два события у двух участников считались не связанными с вмешательствами. Другие нежелательные явления включали кашель и простуду у трех и двух участников, соответственно, но они не считались связанными с вмешательствами.

### Обсуждение

Для данного исследования мы предположили, что потребление молока, содержащего β-казеин A1, приведет к усилению системного воспаления (характеризуемого сывороточными биомаркерами воспаления) и будет связано с желудочно-кишечными расстройствами, сходными с наблюдающимися при непереносимости лактозы в когорте пациентов с предполагаемой или подтвержденной непереносимостью лактозы. Мы также предположили, что выведение β-казеина типа A1 при

потреблении участниками исследования молока, содержащего только  $\beta$ -казеина типа A2, позволит избежать этих эффектов  $\beta$ -казеина A1. В соответствии с нашей гипотезой это перекрестное исследование показало, что потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин A1, было связано с более выраженными желудочно-кишечными симптомами, более высокими концентрациями связанных с воспалением биомаркеров и более низким общим содержанием короткоцепочечных жирных кислот, более длительным временем прохождения пищи и более длительными реакциями и увеличением частоты ошибок на SCIT по сравнению с молоком, содержащим только  $\beta$ -казеин типа A2. По составу эти два продукта были почти идентичны, за исключением содержания  $\beta$ -казеина, т.е. в одном продукте содержался только  $\beta$ -казеин типа A2, тогда как в молоке, содержащем оба типа, соотношение типов A-1 и A2 составляло 40:60 (приблизительно 400 и 600 мг на 100 мл молока).

**Таблица 5** Анализ ANOVA с фиксированными эффектами для частоты стула и балла по Бристольской шкале стула

Исход	Последовательность <sup>a,b</sup>	Контраст	Оценка <sup>c</sup>	Значение p <sup>d</sup>	Значение p <sup>e</sup>
Частота стула	Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	3,09 ± 3,05	<0,0001	
		H2 по сравн. с исх	3,18 ± 3,79	<0,0001	
		H3 по сравн. с исх	1,55 ± 2,32	0,0127	
		H4 по сравн. с исх	0,09 ± 2,11	0,8828	
		H5 по сравн. с исх	0,45 ± 1,97	0,4613	
		H6 по сравн. с исх	0,05 ± 1,96	0,9412	
	Последовательность 2	H1 по сравн. с исх	0,35 ± 1,53	0,5642	<0,001
		H2 по сравн. с исх	0,30 ± 2,06	0,6139	0,003
		H3 по сравн. с исх	0,04 ± 2,10	0,9425	0,028
		H4 по сравн. с исх	0,26 ± 1,54	0,6654	0,759
		H5 по сравн. с исх	2,65 ± 3,83	<0,0001	0,021
		H6 по сравн. с исх	2,87 ± 3,21	<0,0001	0,001
Балл по Бристольской шкале консистенции стула	Последовательность 1	H1 по сравн. с исх	0,49 ± 0,86	0,0031	
		H2 по сравн. с исх	0,37 ± 0,91	0,0261	
		H3 по сравн. с исх	0,23 ± 0,65	0,1588	
		H4 по сравн. с исх	0,03 ± 0,80	0,8445	
		H5 по сравн. с исх	0,03 ± 0,62	0,8753	
		H6 по сравн. с исх	0,01 ± 0,61	0,9687	
	Последовательность 2	H1 по сравн. с исх	0,04 ± 0,57	0,818	0,041
		H2 по сравн. с исх	-L по сравн. с ± 0,67	0,9694	0,120
		H3 по сравн. с исх	0,04 ± 0,72	0,818	0,344
		H4 по сравн. с исх	-L по сравн. с ± 0,73	0,9084	0,826
		H5 по сравн. с исх	0,40 ± 0,85	0,0132	0,097
		H6 по сравн. с исх	0,26 ± 1,14	0,108	0,358

<sup>a</sup> Последовательность 1: A1/A2 → A2

<sup>b</sup> Последовательность 2: A2 → A1/A2

<sup>c</sup> Указанный визит - исходный (среднее ± стандартное отклонение)

<sup>d</sup> По сравнению с исходным показателем; значения, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы при P < 0,05

<sup>e</sup> По сравнению с последовательностью 1; значения, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы при P < 0,05  
СО, стандартное отклонение; Н, неделя; Исх, исходный показатель

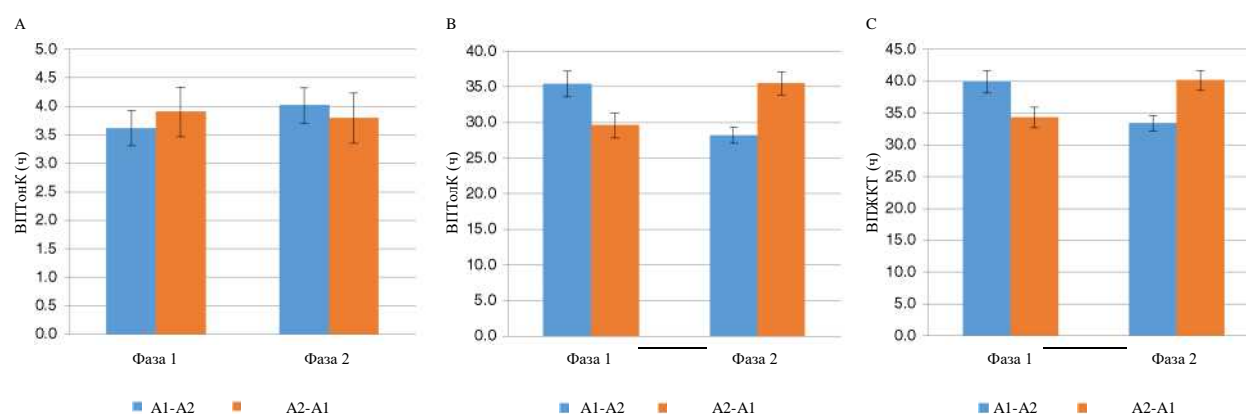


Рис. 2 Региональное время пребывания в желудочно-кишечном тракте, измеренное с использованием «умной» таблетки. Приведены средние ± стандартные отклонения. A1 = молоко, содержащее β-казеин A1 и A2; A2 = молоко, содержащее только β-казеин A2; ВПТолК = время прохождения по толстой кишке; ВПТонК = время прохождения по тонкой кишке; ВПЖКТ = время прохождения по желудочно-кишечному тракту

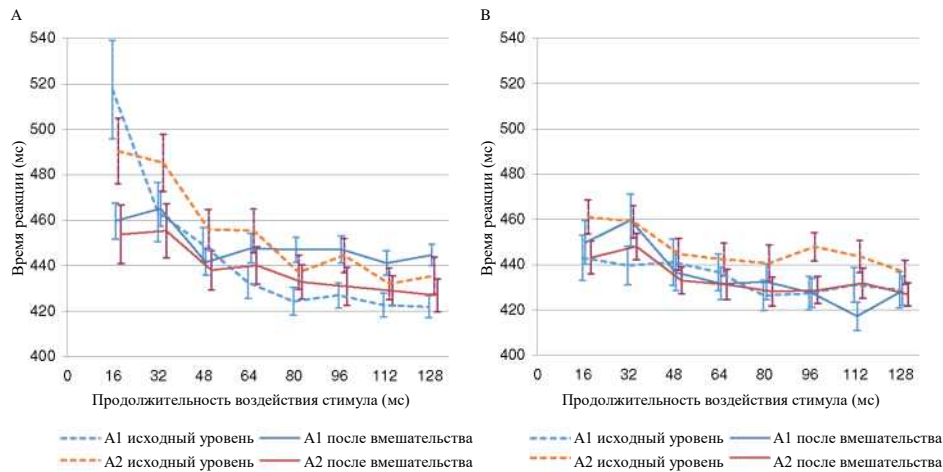


Рис. 3 Время реакции в SCIT в соответствии с вмешательством, полученное в фазе 1 (а); фазе 2 (б). A1 = молоко, содержащее  $\beta$ -казеин A1 и A2; A2 = молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин A2

Наблюдение, что молоко, содержащее оба типа  $\beta$ -казеина, увеличивает уровень IL-4 в сыворотке и другие воспалительные маркеры, согласуется с данными, полученными Ul Haq et al. [5]. Они сообщили, что A1-подобные типы  $\beta$ -казеина (A1/A1 и A1/A2) индуцировали воспалительные реакции в желудочно-кишечном тракте мышей путем активации сигнального пути Th2, что иллюстрировалось повышением уровней миелопероксидазы, моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, антител (IgE, IgG, IgG1 и IgG2a) и экспрессии Toll-подобных рецепторов 1 и 2 и усиленной лейкоцитарной инфильтрацией кишечника [5]. Авторы также сообщали, что эти эффекты были вызваны VSM-7 и VSM-5 [26]. Этот цитокиновый/иммунный ответ, описанный Ul Haq et al. и наблюдаемый в настоящем исследовании, также согласуется с реакциями типа непереносимости, связанными с астмой и экземой [27].

Потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, также было связано со значительно более низкими концентрациями КЦЖК, чем потребление молока, содержащего только тип A2  $\beta$ -казеина. Эти результаты свидетельствуют о том, что потребление  $\beta$ -казеина A1 приводит к снижению уровней КЦЖК. КЦЖК представляют собой продукты ферментации кишечной биоты [28], которые обладают противовоспалительными эффектами [29, 30] и усиливают функцию клеток толстой кишки [31]. Соответственно, ожидается, что потребление  $\beta$ -казеина A2 при исключении  $\beta$ -казеина A1 будет способствовать продукции КЦЖК микробами и, следовательно, позволит избежать ухудшения здоровья колоний, обусловленного сниженным образованием КЦЖК.

**Таблица 6** Результаты оценки переменных SCIT методом ANOVA с фиксированными эффектами

Переменная	Оценка <sup>a</sup>	CO (SD)	Значение p <sup>b</sup>
Время реакции	8,5798	2,6605	0,0013
Начальное среднее время реакции	10,8330	9,0995	0,2405
Конечное среднее время реакции	14,7353	6,4309	0,0270
Частота ошибок	1,759%	0,496%	0,0004
Начальная средняя частота ошибок	2,758%	1,140%	0,0200
Конечная средняя частота ошибок	0,402%	0,529%	0,4514

<sup>a</sup>Различие средних, полученных с использованием метода наименьших квадратов (A1/A2 - A2)

<sup>b</sup>Значения, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы при P < 0,05

CO, стандартное отклонение

Желудочно-кишечные симптомы, связанные с потреблением молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа A2, и молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа A1 (750 мл/сут), также оценивали в 8-недельном перекрестном исследовании, проведенном Но et al. [20]. В этом исследовании потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин типа A1, было связано со значительно более высоким баллом по Бристольской шкале стула, по сравнению с потреблением молока, содержащего  $\beta$ -казеин типа A2. Более того, балл по боли в животе статистически значимо коррелировал с консистенцией стула, когда пациенты потребляли



молоко, содержащее  $\beta$ -казеин типа A1 ( $r = 0,520$ ,  $P = 0,001$ ), но не молоко, содержащее  $\beta$ -казеин типа A2 ( $r = -0,13$ ,  $P = 0,43$ ). Аналогичным образом, мы наблюдали более высокий балл по симптомам со стороны желудочно-кишечного тракта вместе с более длительным временем прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту, более мягким стулом и диареей, когда участники потребляли молоко, содержащее оба типа  $\beta$ -казеина, по сравнению с молоком, содержащим только  $\beta$ -казеина типа A2. Результаты обоих исследований свидетельствуют о том, что потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин типа A1, может отрицательно влиять на функцию желудочно-кишечного тракта и что исключение данного типа может облегчить эти симптомы.

Настоящее исследование также показало, что потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано с более длительным временем прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту, особенно ВПТолК и ВПЖКТ, чем потребление молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа A2. Эти результаты согласуются с данными, приведенными Barnett et al. в модели грызунов [4]. Они использовали диоксид титана в качестве маркера для времени прохождения по желудочно-кишечному тракту. В отличие от этого, в настоящем исследовании использовалась «умная» таблетка и это позволило нам получить более точные оценки общего времени прохождения по желудочно-кишечному тракту, а также времени прохождения через определенные участки кишечника [32].

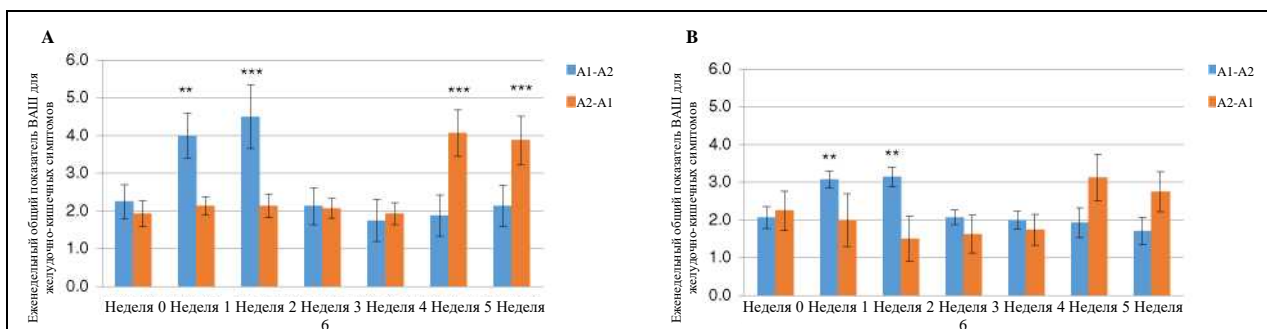


Рисунок 4 Ежедневные общие баллы по симптомам со стороны желудочно-кишечного тракта (всего) у участников с (а) или без (б) непереносимости лактозы. A1 = молоко, содержащее  $\beta$ -казеин A1 и A2; A2 = молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин A2. \*\*  $P < 0,01$  по сравнению с исходным; \*\*\*  $P < 0,001$  по сравнению с исходным

Настоящее исследование показало, что потребление молока, содержащего только тип A2  $\beta$ -казеина, не было связано с ухудшением любой из оцениваемых переменных, а результаты, полученные после 2 недель потребления, были сопоставимы с результатами на исходном уровне (т. е., после 2-недельного вымывания молочных продуктов). Другими словами, тип  $\beta$ -казеин типа A1, но не типа A2, отрицательно влиял на функцию желудочно-кишечного тракта.

При использовании «умной» таблетки, мы также наблюдали усиление воспаления в тонкой кишке, когда участники потребляли молоко, содержащее оба типа  $\beta$ -казеина, по сравнению с потреблением молока, содержащего только  $\beta$ -казеин типа A2. Эти результаты согласуются с изменениями биомаркеров, связанных с воспалением. Однако изменения не были очевидными у всех участников, и значение  $P$  имело пограничную статистическую значимость ( $P = 0,042$ ). Возможно, период вмешательства был слишком коротким, чтобы вызвать воспаление у многих пациентов. Поэтому эти данные требуют дальнейшего изучения на более обширной когорте или с более длительным временем вмешательства.

Наконец, используя SCIT, мы обнаружили, что потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано с небольшим, но в высокой степени статистически значимым увеличением времени реакции и количества ошибок. Увеличение времени реакции в основном обнаруживалось при более длительных стимулах (конец), в то время как увеличение частоты ошибок было в основном ограничено более короткой продолжительностью стимула (начало). Это говорит о том, что потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, связано с уменьшением эффективности предсознательной автоматической обработки информации, но контролируемые процессы с более длительной продолжительностью стимула помогают уменьшить нарушения эффективности обработки информации за счет скорости ее обработки. Такое незначительное нарушение когнитивной функции может оказать значительное влияние в ситуациях, когда требуется быстрое обнаружение стимулов и/или принятие быстрых решений. Этот вывод показывает, что потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин типа A1, влияет не только на желудочно-кишечную систему; отмечается также влияние на функцию нервной

системы. Эти данные аналогичны когнитивным нарушениям, наблюдаемым у пациентов с недиагностированной целиакией [33], и объяснение может быть связано с повышением сывороточных маркеров, связанных с воспалением, по причине потребления молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, по сравнению с молоком, содержащим только тип A2  $\beta$ -казеина. Повышенные уровни циркулирующих воспалительных маркеров были связаны со статистически значимыми нарушениями памяти, внимания, способности к целенаправленной деятельности и скорости обработки информации даже после контроля возраста и других факторов, связанных со здоровьем [34-37].

**Таблица 7** Время прохождения по желудочно-кишечному тракту у участников с или без непереносимости лактозы

	Переменная	Последовательность 1 (n = 22) <sup>a</sup>		Последовательность 2 (n = 18) <sup>b</sup>		Оценка <sup>c</sup>	CO (SD)	Значение p <sup>d</sup>
		Фаза 1	Фаза 2	Фаза 1	Фаза 2			
Всего (n = 40)	ВПТонК (ч)	3,62 ± 1,46	4,02 ± 1,45	3,90 ± 1,85	3,79 ± 1,89	-0,1997	0,3704	0,593
	ВПТолК (ч)	35,41 ± 8,68	28,23 ± 5,50	29,62 ± 7,41	35,51 ± 6,92	6,6173	1,2916	<0,0001
	ВПЖКТ (ч)	39,95 ± 8,45	33,41 ± 5,68	34,36 ± 6,90	40,14 ± 6,81	6,2673	1,3568	<0,0001
Непереносимость лактозы (n = 19)	ВПТонК (ч)	3,28 ± 1,31	4,05 ± 1,67	3,81 ± 1,16	4,33 ± 1,79	-0,1262	0,495	0,8018
	ВПТолК (ч)	31,01 ± 5,92	27,10 ± 3,74	29,06 ± 6,17	32,64 ± 5,85	3,7462	1,3089	0,0108
	ВПЖКТ (ч)	35,40 ± 5,61	32,72 ± 3,16	33,84 ± 6,04	37,85 ± 6,03	3,3441	1,3849	0,0273
Нормальная переносимость лактозы (n = 21)	ВПТонК (ч)	3,81 ± 1,55	4,00 ± 1,37	4,07 ± 2,82	3,27 ± 1,93	-0,4985	0,5583	0,3831
	ВПТолК (ч)	37,92 ± 9,17	28,87 ± 6,33	30,66 ± 9,95	40,60 ± 6,23	9,494	2,1656	0,0003
	ВПЖКТ (ч)	42,55 ± 8,85	33,80 ± 6,80	35,48 ± 8,89	44,57 ± 6,36	8,9262	2,2947	0,0010

<sup>a</sup> Последовательность 1: A1/A2 → A2

<sup>b</sup> Последовательность 2: A2 → A1/A2

<sup>c</sup> Различия средних, полученных с использованием метода наименьших квадратов (A1/A2 - A2)

<sup>d</sup> Значения, выделенные жирным шрифтом, статистически значимы со значением P < 0,05

SD, стандартное отклонение; ВПТонК, время прохождения по тонкой кишке; ВПТолК, время прохождения по толстой кишке; ВПЖКТ, общее время прохождения по желудочно-кишечному тракту

Многие симптомы, связанные с потреблением  $\beta$ -казеина типа A1, также связаны с непереносимостью лактозы [38]. Примечательно, что непереносимость лактозы или мальабсорбция лактозы сопутствует воспалению кишечника. Поэтому вполне возможно, что некоторые люди с предполагаемой непереносимостью лактозы могут фактически испытывать нежелательные реакции при потреблении  $\beta$ -казеина типа A1 и пептидов, образованных в результате его протеолиза [39, 40].

В настоящем исследовании участникам проводили анализ на галактозу в моче, и около половины из них имели положительный результат на непереносимость лактозы. Поэтому мы сравнили влияние обоих молочных продуктов на тяжесть желудочно-кишечных симптомов и время прохождения по желудочно-кишечному тракту между участниками с непереносимостью лактозы и без. Весьма любопытен тот факт, что потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано со значительным увеличением как тяжести симптомов, так и времени прохождения по желудочно-кишечному тракту в обеих группах пациентов по сравнению с исходными значениями. Примечательно, что наблюдаемые изменения были численно больше у пациентов с непереносимостью лактозы, чем у пациентов без нее. Напротив, потребление молока, содержащего только тип A2  $\beta$ -казеина, не усиливало желудочно-кишечные симптомы по сравнению с исходными значениями, полученными после 2-недельного периода вымывания. Между тем, увеличение времени прохождения по желудочно-кишечному тракту, связанное с потреблением молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было немного меньше у пациентов с непереносимостью лактозы, чем у пациентов с нормальной переносимостью лактозы. Однако потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин типа A2, не было связано с выраженными различиями во времени прохождения по желудочно-кишечному тракту между участниками с непереносимостью лактозы и с нормальной переносимостью лактозы. Эти данные свидетельствуют о том, что некоторые нежелательные желудочно-кишечные эффекты молочных продуктов могут быть связаны с потреблением молочных продуктов, содержащих  $\beta$ -казеин A1 [39, 40]. Это связано с тем, что потребление молока, содержащего A2  $\beta$ -казеин, не ухудшало эти симптомы у пациентов с непереносимостью лактозы по сравнению с исходными значениями после вымывания или по сравнению с симптомами у пациентов с нормальной переносимостью лактозы. Оба молочных продукта содержали равное количество лактозы (4,8%), что свидетельствует в пользу концепции, согласно которой различия в результатах были обусловлены наличием или отсутствием  $\beta$ -казеина A1.

В нескольких исследованиях выявлена связь между  $\beta$ -казеином/ A1/BCM-7 и неврологическими

нарушениями, такими как аутизм [41-44] и шизофрения [45-49]. Сообщалось также, что повышенная иммунореактивность к ВСМ-7 связана с задержкой психомоторного развития у младенцев [50]. Из приведенных данных следует, что  $\beta$ -казеин А1 и его пептидные производные также влияют на обработку информации в головном мозге. Было также продемонстрировано, что опиоидные пептиды, производные продуктов питания, оказывают прямое воздействие на нервные клетки, включая экспрессию генов, участвуют в окислительно-восстановительных процессах и метилировании, а также влияют на эпигенетическую регуляцию [19]. Было высказано предположение, что пептиды, полученные из молока, могут вызывать воспаление и системное окисление, в том числе в центральной нервной системе [19], и эти эффекты могут влиять на развитие или обработку информации. Для подтверждения этих эффектов и выяснения лежащего в их основе механизма необходимы дальнейшие исследования.

Следует упомянуть о некоторых ограничениях. Во-первых, «умная» таблетка не использовалась исходно, поэтому невозможно определить, влияет ли молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин типа А2, на время прохождения по желудочно-кишечному тракту, а не только вымывание молочных продуктов. Во-вторых, продолжительность каждого периода вмешательства (2 недели) возможно, слишком короткая, чтобы вызвать изменения некоторых биомаркеров или местное воспаление. Поэтому могут потребоваться более длительные вмешательства для обеспечения более надежных оценок влияния молока, содержащего как оба типа  $\beta$ -казеина, так и положительных эффектов молока, содержащего тип А2  $\beta$ -казеина, на функцию желудочно-кишечного тракта. В-третьих, мы использовали молоко, содержащее как тип А1, так и А2  $\beta$ -казеина (40:60), потому что молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин типа А1, было недоступно. Однако, поскольку  $\beta$ -казеин типа А2 считается «инертным» в отношении агонистического действия на опиатные рецепторы [4], присутствие  $\beta$ -казеина А2 вряд ли будет искажать эффекты или сможет облегчить потенциально вредные эффекты А1  $\beta$ -казеина. Наконец, это исследование было сосредоточено исключительно на желудочно-кишечных симптомах, поэтому любые дополнительные эффекты исследуемых продуктов не могли быть изучены.

## Выводы

В заключение, это исследование показало, что потребление молока, содержащего  $\beta$ -казеин А1 в дополнение к  $\beta$ -казеину А2, ухудшает желудочно-кишечные симптомы, увеличивает время прохождения по желудочно-кишечному тракту, повышает маркеры воспаления в сыворотке, снижает общее содержание КЦЖК в фекалиях, замедляет скорость когнитивной обработки и снижает точность обработки информации, по сравнению с исходными значениями. Потребление молока, содержащего только  $\beta$ -казеин А2, не оказывало отрицательного влияния на эти переменные, что указывает на то, что изменения, наблюдаемые при потреблении молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, были связаны с наличием  $\beta$ -казеина А1. Кроме того, потребление молока, содержащего оба типа  $\beta$ -казеина, было связано с более выраженным ухудшением желудочно-кишечных симптомов и временем прохождения по желудочно-кишечному тракту у участников с непереносимостью лактозы, чем у лиц с нормальной переносимостью лактозы, тогда как молоко, содержащее только  $\beta$ -казеин А2, не усугубляло эти симптомы у пациентов с непереносимостью лактозы. Эти результаты свидетельствуют о том, что обострение желудочно-кишечных симптомов, связанных с потреблением молока участниками с непереносимостью лактозы, может быть связано с  $\beta$ -казеином А1, а не с лактозой как таковой.

## Дополнительные файлы

**Дополнительный файл 1:** Критерии исключения, лабораторные исследования, коды нежелательных явлений. (PDF-файл размером 1,39 мб)

**Дополнительный файл 2:** Регионарное время прохождения по желудочно-кишечному тракту в зависимости от типа продукта при непереносимости лактозы и нормальной переносимости лактозы. (PDF-файл размером 469 кб)

**Дополнительный файл 3:** Лабораторные исследования крови и фекалий в соответствии с типом продукта при непереносимости лактозы и нормальной переносимости лактозы. (PDF-файл размером 507 кб)

## Сокращения

ВСМ: ( $\beta$ -казоморфин; ВПТолК: время прохождения по толстой кишке, ЭКГ: электрокардиограмма, РДЗ: симптомы дискомфорта в желудочно-кишечном тракте после потребления молочных продуктов, КЦЖК: короткоцепочечная жирная кислота, SCIT: тест на легкие когнитивные нарушения; ВПТонК: время прохождения по тонкой кишке; ВПЖКТ: время прохождения по всему желудочно-кишечному

тракту.

### Конфликт интересов

АЖС является сотрудником компании «А2 Милк Компани Лимитед» (The a2 Milk Company Limited). Другие авторы заявили об отсутствии конфликтов интересов.

### Вклад авторов публикации

SJ был ведущим исследователем и помогал в разработке дизайна исследования; XL проанализировал желудочно-кишечные ВАШ и сывороточные переменные; XL оценил данные, полученные с помощью «умных» таблеток; GY контролировал сбор когнитивных данных и помогал в интерпретации данных, написании рукописи и одобрил финальную версию рукописи; JN проводил статистический анализ; АЖС предложил и разработал исследование, выбранные переменные, представляющие интерес, и внес свой вклад в рукопись, но не участвовал в проведении исследования или анализе данных. Все авторы прочитали и одобрили готовую рукопись.

### Благодарности

Это исследование было профинансировано «А2 Милк Компани Лимитед» (The a2 Milk Company Limited). Авторы благодарят Малава Триведи (Malav Trivedi, PhD) («Нова Юго-восточный университет» (Nova Southeastern University)) за предоставление технической поддержки по методологиям, а Николас Д. Смит (Nicholas D. Smith, PhD) («Эданц Групп Лимитед» (Edanz Group Limited)), за помощь в составлении медицинских текстов, при финансировании «А2 Милк Компани Лимитед» (The a2 Milk Company Limited). Авторы также хотели бы поблагодарить за помощь клиническую исследовательскую организацию «С.П.Р.И.М. Чайна (Шанхай) Консалтинг Ко., Лтд.» (S.P.R.I.M. China (Shanghai) Consulting Co., Ltd.) за проведение клинического исследования.

### Информация об авторах

<sup>1</sup> Клинический центр питания, больница Хуадун, при Университете Фудань, Шанхай, Китай.

<sup>2</sup> Отделение гастроэнтерологии, больница Синь Хуа, при Шанхайский университет Цзяо Тонг, медицинский факультет, Шанхай, Китай.

<sup>3</sup> Эндоскопический центр, Шанхайский международный центр медицины, Шанхай, Китай.

<sup>4</sup> Отделение гастроэнтерологии, Центральное клиническое учебное заведение, Центр Альфреда, Университет Монаш, Мельбурн, штат Виктория, Австралия.

<sup>5</sup> Образовательно учреждение медицинских наук, Мельбурнский королевский технологический университет (RMIT), Бандура, штат Виктория, Австралия.

<sup>6</sup> «С.П.Р.И.М. Чайна (Шанхай) Консалтинг Ко., Лтд.» (S.P.R.I.M. China (Shanghai) Consulting Co., Ltd.), Шанхай, Китай.

<sup>7</sup> «А2 Милк Компани Лимитед» (The a2 Milk Company Limited), Окленд, Новая Зеландия.

Получена: 17 ноября 2015 г. Принята в печать: 14 марта 2016 г.

Опубликована онлайн: 02 апреля 2016 г.

### Список литературы

1. Andiran F, Dayi S, Mete E. Cows milk consumption in constipation and anal fissure in infants and young children. *J Paediatr Child Health*. 2003;39:329-31.
2. Daher S, Tahan S, Sole D, Naspitz CK, Da Silva Patricio FR, Neto UF, et al. Cow's milk protein intolerance and chronic constipation in children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2001;12:339-42.
3. Defilippi C, Gomez E, Charlin V, Silva C. Inhibition of small intestinal motility by casein: a role of beta casomorphins? *Nutrition*. 1995;11:751-4.
4. Barnett MP, McNabb WC, Roy NC, Woodford KB, Clarke AJ. Dietary A1 beta-casein affects gastrointestinal transit time, dipeptidyl peptidase-4 activity, and inflammatory status relative to A2 beta-casein in Wistar rats. *Int J Food Sci Nutr*. 2014; doi:10.3109/09637486.2014.898260.
5. Ul Haq MR, Kapila R, Sharma R, Saliganti V, Kapila S. Comparative evaluation of cow beta-casein variants (A1/A2) consumption on Th2-mediated inflammatory response in mouse gut. *Eur J Nutr*. 2014;53:1039-49.
6. Haq MR, Kapila R, Sharma R, Saliganti V, Kapila S. Comparative evaluation of cow beta-casein variants (A1/A2) consumption on Th-mediated inflammatory response in mouse gut. *Eur J Nutr*. 2013; doi:10.1007/s00394-013-0606-7.
7. Holmer-Jensen J, Karhu T, Mortensen LS, Pedersen SB, Herzig KH, Hermansen K. Differential effects of dietary protein sources on postprandial low-grade inflammation after a single high fat meal in obese

- non-diabetic subjects. *Nutr J.* 2011;10:115.
8. Jinsmaa Y, Yoshikawa M. Enzymatic release of neocasomorphin and beta-casomorphin from bovine beta-casein. *Peptides.* 1999;20:957-62.
  9. Becker A, Hempel G, Grecksch G, Matthies H. Effects of beta-casomorphin derivatives on gastrointestinal transit in mice. *Biomed Biochim Acta.* 1990;49:1203-7.
  10. Mihatsch WA, Franz AR, Kuhnt B, Hogel J, Pohlandt F. Hydrolysis of casein accelerates gastrointestinal transit via reduction of opioid receptor agonists released from casein in rats. *Biol Neonate.* 2005;87:160-3.
  11. Schulte-Frohlinde E, Schmid R, Brantl V, Schusdziarra V. Effect of bovine  $\beta$ -casomorphin-4-amide on gastrointestinal transit and pancreatic endocrine function in man. In: Brantl V, Teschemacher H, editors. *b-casomorphins and related peptides: recent developments.* New York: VCH Weinheim; 1994. p. 155-60.
  12. Daniel H, Vohwinkel M, Rehner G. Effect of casein and beta-casomorphins on gastrointestinal motility in rats. *J Nutr.* 1990;120:252-7.
  13. Claustre J, Toumi F, Trompette A, Jourdan G, Guignard H, Chayvialle JA, et al. Effects of peptides derived from dietary proteins on mucus secretion in rat jejunum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;283:G521-8.
  14. Trompette A, Claustre J, Caillon F, Jourdan G, Chayvialle JA, Plaisancie P. Milk bioactive peptides and beta-casomorphins induce mucus release in rat jejunum. *J Nutr.* 2003;133:3499-503.
  15. Zoghbi S, Trompette A, Claustre J, El Homsy M, Garzon J, Jourdan G, et al. beta-Casomorphin-7 regulates the secretion and expression of gastrointestinal mucins through a mu-opioid pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006; 290:G1105-13.
  16. Elitsur Y, Luk GD. Beta-casomorphin (BCM) and human colonic lamina propria lymphocyte proliferation. *Clin Exp Immunol.* 1991;85:493-7.
  17. Kayser H, Meisel H. Stimulation of human peripheral blood lymphocytes by bioactive peptides derived from bovine milk proteins. *FEBS Lett.* 1996;383:18-20.
  18. Brussow H. Nutrition, population growth and disease: a short history of lactose. *Environ Microbiol.* 2013;15:2154-61.
  19. Trivedi MS, Shah JS, Al-Mughairy S, Hodgson NW, Simms B, Trooskens GA, et al. Food-derived opioid peptides inhibit cysteine uptake with redox and epigenetic consequences. *J Nutr Biochem.* 2014;25:1011-8.
  20. 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; doi: 10.1038/ejcn.2014.127.
  21. Wang YG, Yan YS, Xu JJ, Du RF, Flatz SD, Kuhnau W, et al. Prevalence of primary adult lactose malabsorption in three populations of northern China. *Human Genetics.* 1984;67:103-6.
  22. Yang J, Deng Y, Chu H, Cong Y, Zhao J, Pohl D, et al. Prevalence and presentation of lactose intolerance and effects on dairy product intake in healthy subjects and patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013; 11:262-8.e1.
  23. Zheng X, Chu H, Cong Y, Deng Y, Long Y, Zhu Y, et al. Self-reported lactose intolerance in clinic patients with functional gastrointestinal symptoms: prevalence, risk factors, and impact on food choices. *Neurogastroenterol Motil.* 2015;27:1138-46.
  24. Hu D. China: dairy product quality as the new industry driver. *Animal Production and Health Commission for Asia and The Pacific, FAO Regional Office for Asia and The Pacific, Bangkok.* 2009. p. 22-43.
  25. Bruce KM, Robinson SR, Smith JA, Yelland GW. Validity of a screening tool for detecting subtle cognitive impairment in the middle-aged and elderly. *Clin Interv Aging.* 2014;9:2165-76.
  26. Ul Haq MR, Kapila R, Saliganti V. Consumption of  $\beta$ -casomorphins-7/5 induce inflammatory immune response in mice gut through Th2 pathway. *J Funct Food.* 2014;8:150-60.
  27. Pavord ID. Asthma phenotypes. *Semin Respir Crit Care Med.* 2012;33:645-52.
  28. Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol.* 2006; 40:235-43.
  29. Greer JB, O'Keefe SJ. Microbial induction of immunity, inflammation, and cancer. *Front Physiol.* 2011; 1:168.
  30. Scheppach W. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut.* 1994; 35:S35-8.
  31. Andoh A, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Role of dietary fiber and short-chain fatty acids in the colon. *Curr Pharm Des.* 2003; 9:347-58.
  32. Timm D, Willis H, Thomas W, Sanders L, Boileau T, Slavin J. The use of a wireless motility device (SmartPill(R)) for the measurement of gastrointestinal transit time after a dietary fibre intervention. *Br J Nutr.* 2011;105:1337-42.

33. Lichtwark IT, Newnham ED, Robinson SR, Shepherd SJ, Hosking P, Gibson PR, et al. Cognitive impairment in coeliac disease improves on a gluten-free diet and correlates with histological and serological indices of disease severity. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40:160-70.
34. Heringa SM, van den Berg E, Reijmer YD, Nijpels G, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, et al. Markers of low-grade inflammation and endothelial dysfunction are related to reduced information processing speed and executive functioning in an older population - the Hoorn Study. *Psychoneuroendocrinology.* 2014;40:108-18.
35. Monson NL, Ireland SJ, Ligocki AJ, Chen D, Rounds WH, Li M, et al. Elevated CNS inflammation in patients with preclinical Alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34:30-3.
36. Myers JS, Pierce J, Pazdernik T. Neurotoxicology of chemotherapy in relation to cytokine release, the blood-brain barrier, and cognitive impairment. *Oncol Nurs Forum.* 2008; 35:916-20.
37. Trollor JN, Smith E, Agars E, Kuan SA, Baune BT, Campbell L, et al. The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. *Age (Dordr).* 2012;34:1295-308.
38. Lomer MC. Review article: the aetiology, diagnosis, mechanisms and clinical evidence for food intolerance. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41:262-75.
39. Simsek I. Irritable bowel syndrome and other functional gastrointestinal disorders. *J Clin Gastroenterol.* 2011; 45 Suppl: 86-8.
40. Vernia P, Di Camillo M, Marinaro V. Lactose malabsorption, irritable bowel syndrome and self-reported milk intolerance. *Dig Liver Dis.* 2001;33:234-9.
41. Cade R, Privette M, Fregly M, Rowland N, Sun Z, Zele V, et al. Autism and schizophrenia: intestinal disorders. *Nutr Neurosci.* 2000; 3:57-72.
42. Reichelt KL, Ekrem J, Scott H. Gluten, milk proteins and autism: dietary intervention effects on behavior and peptide secretion. *J Appl Nutr.* 1990;42:1-11.
43. Reichelt KL, Knivsberg AM. Can the pathophysiology of autism be explained by the nature of the discovered urine peptides? *Nutr Neurosci.* 2003;6:19-28.
44. Kawashti MI, Amin OR, Rowehy NG. Possible immunological disorders in autism: concomitant autoimmunity and immune tolerance. *Egypt J Immunol.* 2006;13:99-104.
45. Dohan FC. Genetic hypothesis of idiopathic schizophrenia: its exorphin connection. *Schizophr Bull.* 1988;14:489-94.
46. Niebuhr DW, Li Y, Cowan DN, Weber NS, Fisher JA, Ford GM, et al. Association between bovine casein antibody and new onset schizophrenia among US military personnel. *Schizophr Res.* 2011;128:51-5.
47. Reichelt KL, Landmark J. Specific IgA antibody increases in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 1995;37:410-3.
48. Severance EG, Dickerson FB, Halling M, Krivogorsky B, Haile L, Yang S, et al. Subunit and whole molecule specificity of the anti-bovine casein immune response in recent onset psychosis and schizophrenia. *Schizophr Res.* 2010;118:240-7.
49. Severance EG, Lin J, Sampson HA, Gimenez G, Dickerson FB, Halling M, et al. Dietary antigens, epitope recognition, and immune complex formation in recent onset psychosis and long-term schizophrenia. *Schizophr Res.* 2011;126:43-50.
50. Kost NV, Sokolov OY, Kurasova OB, Dmitriev AD, Tarakanova JN, Gabaeva MV, et al. Beta-casomorphins-7 in infants on different type of feeding and different levels of psychomotor development. *Peptides.* 2009;30:1854-60.

Отправьте свою следующую рукопись в BioMed Central и воспользуйтесь нашей поддержкой на всех этапах:

- Мы принимаем запросы до подачи
- Наш поисковик поможет вам найти наиболее релевантный журнал
- Мы предоставляем круглосуточную поддержку клиентов
- Удобство подачи в режиме он-лайн
- Качественное внешнее рецензирование
- Включение в PubMed и все крупные службы индексирования
- Максимальная видимость для ваших исследований

Отправьте Вашу рукопись через сайт [www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)

/Логотип Biomed Central/