rLAS® v.7, n.1 Especial (2025)
EIXO I: Uma Só Saúde (*One Health*), Saúde Coletiva e Segurança Alimentar
ISSN: 2526-219X

Resposta imune IgG a proteínas do leite com genótipos A1A1 e A2A2

IgG immune response to cow milk with A1A1 and A2A2 genotypes

Maude Narciso Franklin[1]*, Gustavo Felippe da Silva[1], Leandra Oliveira Xavier Albiero[1], Leonardo Antônio Fernandes[1], Maria de Lourdes Borba Magalhães[1]

[1]Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina, Brasil.

*Autora para correspondência: maudef@icloud.com

RESUMO

O leite de vaca é amplamente consumido em todo o mundo e representa uma importante fonte de nutrientes. Contudo, sua composição proteica pode desencadear reações adversas em determinados indivíduos, principalmente relacionadas à beta-caseína. Essa proteína apresenta duas variantes genéticas principais: A1 e A2, diferenciando-se por uma única substituição de aminoácido na posição 67, o que afeta sua digestibilidade. A variante A1, predominante em rebanhos europeus e americanos, libera o peptídeo beta-casomorfina-7 (BCM-7), associado a potenciais efeitos inflamatórios. Já a variante A2, mais comum em raças asiáticas e africanas, não libera BCM-7 na mesma proporção, sendo mais semelhante à beta-caseína do leite humano. Este estudo tem como objetivo avaliar a resposta imunológica mediada por imunoglobulina G (IgG) em soros humanos expostos a proteínas do leite com genótipos A1A1 e A2A2. A quantificação da IgG específica será realizada por meio de um ensaio imunoenzimático (ELISA), utilizando antígenos purificados das variantes A1 e A2 da beta-caseína. Os dados serão analisados estatisticamente para identificar diferenças na resposta imune entre as variantes. Espera-se que os resultados contribuam para uma melhor compreensão sobre a sensibilidade imunológica ao leite de vaca, oferecendo subsídios para decisões alimentares e práticas de manejo genético em rebanhos leiteiros.

Palavras-chave: beta-caseína; imunoglobulina G; leite de vaca.

ABSTRACT

Cow's milk is widely consumed around the world and represents an important source of nutrients. However, its protein composition can trigger adverse reactions in certain individuals, especially those related to beta-casein. This protein has two main genetic variants: A1 and A2, which differ by a single amino acid at position 67, affecting its digestibility. The A1 variant, predominant in European and American herds, releases the beta-casomorphin-7 (BCM-7) peptide, associated with potential inflammatory effects. In contrast, the A2 variant, more common in Asian and African breeds, does not release BCM-7 to the same extent and is more similar to human milk beta-casein. This study aims to evaluate the immune response mediated by immunoglobulin G (IgG) in human sera exposed to A1A1 and A2A2 milk proteins. Specific IgG quantification will be performed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), with purified antigens from A1 and A2 beta-casein variants. The data will be statistically analyzed to identify differences in immune response between the variants. The results are expected to contribute to a better understanding of immune sensitivity to cow's milk, supporting dietary decisions and genetic management in dairy herds.

Keywords: beta-casein; immunoglobulin G; cow's milk.

1 INTRODUÇÃO

O leite de vaca é um alimento natural, fácil de digerir e absorver. Suas proteínas contêm todos os aminoácidos essenciais necessários para o corpo humano e possuem alta digestibilidade, tornando-o uma fonte significativa de proteína de qualidade. As proteínas do leite bovino são compostas por caseína e proteínas do soro. A concentração de proteína no leite varia de aproximadamente 2,9% a 5,0%, sendo que a caseína é o principal componente, representando cerca de 80% do total, enquanto as proteínas do soro de leite correspondem a cerca de 20% (Canani *et al*., 2014; Guzmán *et al*., 2019; Sorensen *et al*., 2022).

A beta-caseína é uma das principais proteínas do leite de mamíferos e compõe cerca de 30% da caseína no leite bovino. As variantes mais comuns de beta-caseína nos bovinos são A1 e A2. O genótipo dessas variantes determina que cada animal produz apenas proteína A1

(homozigoto A1A1), uma combinação de proteínas A1 e A2 (heterozigoto A1A2), ou somente proteína A2 (homozigoto A2A2) (Mclachlan, 2001; Rangel *et al*., 2017).

A beta-caseína A2 é considerada a variante ancestral do gene da beta-caseína. A mutação que ocorreu nesse gene levou à troca do aminoácido prolina por histidina na posição 67. Essa alteração em um único aminoácido altera o códon de três aminoácidos, transformando CCT em CAT. Esse fato influencia diversos aspectos, como sítios de enzimas e as proporções de lactose e ácidos graxos entre as variantes. A mutação que gerou a variante A1 é relevante, pois causa a formação de beta-casomorfina-7 (BCM-7) a partir de sua proteólise parcial, um peptídeo bioativo (Malarmathi *et al*., 2014; Noni, 2008).

A BCM-7 atua ligando-se ao receptor opioide no intestino e é produzida através da hidrólise enzimática por enzimas gastrointestinais, como pepsina e tripsina. Dessa forma, ela consegue atravessar a parede intestinal e entrar na corrente sanguínea (Korhonen; Pihlanto, 2006; Chia *et al*., 2017). Estudos mostram que a ingestão de leite da variante A1 (genótipo A1A1 ou A1A2) está associada a desconfortos digestivos, lentificação do trânsito intestinal e aumento de marcadores inflamatórios. Em contrapartida, o consumo de leite tipo A2 não está relacionado a distúrbios clínicos (Barnett *et al.*, 2014).

Os leites provenientes de vacas que produzem exclusivamente beta-caseína A2 não geram o peptídeo bioativo BCM-7 em seu processo digestivo, evitando os efeitos adversos à saúde associados ao seu consumo (He *et al*., 2017).

O objetivo é investigar a resposta imunológica mediada por imunoglobulina G (IgG) em soros humanos expostos a proteínas do leite de vaca com genótipos A1A1 e A2A2.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliar a resposta imunológica mediada por IgG, foram coletadas amostras de soro humano de dois indivíduos voluntários. Para o ensaio, utilizamos a técnica de ELISA indireto. Leites com genótipos A1A1 e A2A2 foram previamente genotipados por PCR, submetidos à desnaturação térmica e imobilizados diretamente em placas de poliestireno de 96 poços. Após o bloqueio com solução de BSA a 1%, os soros foram adicionados nas placas, diluídos em PBS-Tween, e incubados a 37°C por 1 hora. Após lavagens, foi adicionada IgG anti-humana conjugada à peroxidase (HRP), seguida da adição do substrato cromogênico TMB. A reação

foi interrompida com H_2SO_4 1M e a absorbância foi lida a 450 nm. Cada condição foi testada em triplicata.

3 RESULTADOS

Os níveis de IgG reativa ao leite A1A1 e ao leite A2A2 foram quantificados por absorbância. Um dos pacientes apresentou níveis similares de IgG para ambas as variantes de leite, enquanto o outro paciente apresentou uma maior reatividade (maior absorbância) ao leite A1A1 em comparação ao leite A2A2. Esse resultado sugere uma maior sensibilização imunológica ao leite contendo beta-caseína A1 nesse indivíduo.

4 DISCUSSÃO

A observação de níveis elevados de IgG contra a proteína A1 em um dos pacientes é consistente com a hipótese de que a beta-caseína A1 pode desencadear uma resposta imunológica mais intensa em indivíduos sensíveis. Esse achado é biologicamente plausível, considerando que a beta-caseína A2 é estruturalmente mais próxima da beta-caseína presente no leite humano, o que pode explicar uma menor imunogenicidade. O fato de um paciente ter apresentado resposta semelhante às duas variantes reforça a ideia de que a resposta é individual e pode depender de múltiplos fatores, incluindo histórico alimentar, microbiota intestinal e predisposição genética.

5 CONCLUSÃO

Os resultados preliminares indicam que a exposição a proteínas do leite com diferentes genótipos de beta-caseína pode induzir níveis variáveis de IgG em indivíduos distintos. A maior reatividade ao leite A1A1 em um dos casos reforça a relevância de considerar o perfil proteico do leite em situações de hipersensibilidade alimentar. Estudos com maior número de participantes serão necessários para confirmar esses achados e sua aplicabilidade clínica.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; PILLAI, S.; LICHTMAN, A.H. **Imunologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. 565 p.

ABBAS, A.; LICHTMAN, A.; POBER, J. **Cellular and molecular immunology**. 4. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2000.

AHMAD, Z. A. *et al*. scFv antibody: principles and clinical application. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2012, p. 1–15, 2012. doi:10.1155/2012/980250.

BOUTROU, C. *et al*. Sequential release of milk protein-derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 97, n. 6, p. 1314-1323, 2013.

CANANI, R. *et al*. The importance of immunonutrition in children. **Italian Journal of Pediatrics**, v. 40, n. 1, p. 1, 2014.

KAMINSKI, S.; CIESLINSKA, A.; KOSTYRA, E. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. **Journal of Applied Genetics**, v. 48, n. 3, p. 189-198, 2007. https://doi.org/10.1007/bf03195213.

KAY, S.I.S. *et al*. Beneficial effects of milk having A2 β-casein protein: myth or reality? **Journal of Nutrition**, v. 151, p. 1061–1072, 2021.

KONTERMANN, R. E.; MÜLLER, R. Intracellular and cell surface displayed single chain diabodies. **Journal of Immunological Methods**, v. 226, n. 1-2, p. 179–188, 1999. doi:10.1016/s0022-1759(99)00062-9.

LI, X. *et al*. Os efeitos imunomoduladores da A2 β-caseína em camundongos imunossuprimidos pela regulação das respostas imunológicas e da microbiota intestinal. **Nutrients**, v. 16, p. 519, 2024.

PAL, S.; KUKULJAN, S.; HO, S. Intolerância ao leite, beta-caseína e lactose. Nutrients, v. 7, p. 7285–7297, 2015.

RANGEL, A. H. N. *et al*. Polymorphism in the beta casein gene and analysis of milk characteristics in Gir and Guzerá dairy cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017. doi:10.4238/gmr16029592.

SATOFUKA, H. *et al*. Efficient human-like antibody repertoire and hybridoma production in trans-chromosomic mice carrying megabase-sized human immunoglobulin loci. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, 2022.

SCHROEDER, H. W., JR.; CAVACINI, L. Structure and function of immunoglobulins. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, p. S41–S52, 2010.

SORENSEN, M. K. *et al*. On-site measurement of fat and protein contents in milk using mobile NMR technology. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 583, 2022.

TRUSWELL, A. The A2 milk case: a critical review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, p. 623–631, 2005. https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602104.

WOODFORD, K. B. Casomorphins and gliadorphins have diverse systemic effects spanning gut, brain and internal organs. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, p. 7911, 2021. doi:10.3390/ijerph18157911.