



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Medicina Veterinária
Câmpus de Araçatuba

Flávio Sader Corbucci

Beta-caseína A2 como um diferencial na qualidade do leite

**Araçatuba – São Paulo
2017**

Flávio Sader Corbucci

Beta-caseína A2 como um diferencial na qualidade do leite

Trabalho Científico, como parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Araçatuba, para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientadora: Profa. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO

**Araçatuba – São Paulo
2017**

ENCAMINHAMENTO

Encaminhamos o presente Trabalho Científico para que a Comissão de Estágios Curriculares tome as providências cabíveis.

Flávio Sader Corbucci

Profa. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO
Orientadora

Araçatuba – São Paulo
Junho / 2017

BETA-CASEÍNA A2 COMO UM DIFERENCIAL NA QUALIDADE DO LEITE

Flávio Sader Corbucci

RESUMO

O leite contendo a variante A1 da beta-caseína é considerado fator predisponente a doenças humanas, principalmente em indivíduos geneticamente susceptíveis. A presente revisão sistemática visou relacionar as vantagens do consumo de leite contendo a variante A2 da beta-caseína e sua aplicabilidade para a indústria e para o produtor. Utilizando cinco bases de dados, foi realizado um levantamento bibliográfico com os descritores: (bovine) AND (milk protein) AND (polymorfism OR illness) AND (beta-casein OR beta-casomorphin-7). A variante A1, dentre as 13 variantes da beta-caseína conhecidas, é responsável pela produção de beta-casomorfina-7, por meio da hidrólise enzimática, e está relacionada ao desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 1 em crianças, doenças cardiovasculares, alergias e autismo. Em contrapartida, a variante A2 não apresenta produção significativa desse peptídeo e é correlacionada a aumentos na produção de leite e do teor de sólidos totais. Devido ao fato de a frequência gênica do alelo A2 ser superior em raças zebuínas, o Brasil pode ser considerado privilegiado, pois possui o rebanho em sua maioria de animais *Bos indicus*, que pode ser utilizado como recurso genético apropriado para produção de leite apenas com a proteína beta caseína A2. A seleção contra variantes alélicas A1 pode ser sugerida, sendo que o alelo A2 resultará em efeitos positivos para o rebanho e em um produto com valor agregado, representando um diferencial ao leite comum para a preservação da saúde do consumidor.

Palavras-chave: beta-caseína A1; seleção genética; beta casomorfina-7; saúde.

A2 BETA-CASEIN AS A DIFFERENTIAL IN THE QUALITY OF COW MILK

Flávio Sader Corbucci

SUMMARY

Milk containing the A1 variant of beta-casein is considered a predisposing factor to human diseases mainly in genetically susceptible individuals. The present systematic review aimed to relate the advantages of milk consumption with the A2 variant of beta-casein and its applicability to industry and farmers. Using five databases, a bibliographic survey was performed with the descriptors: (bovine) AND (milk protein) AND (polymorphism OR illness) AND (beta-casein OR beta-casomorphin-7). The A1 variant of the 13 known beta-casein variants is responsible for the production of beta-casomorphin-7, mainly by enzymatic hydrolysis, which is related to the development of type 1 diabetes mellitus in children, cardiovascular diseases, allergies and autism. In contrast, the A2 variant shows no significant production of this peptide and is correlated with increases in solids and milk production. As the gene frequency of the A2 allele is higher in zebu breeds, this makes Brazil privileged because it has the herd mostly of *Bos indicus* animals that can be used as a genetic resource suitable for the production of milk only with the beta casein A2 protein. The selection against allelic variants A1 may be suggested, since the A2 allele may result in positive effects for the herd and in a value-added product that may represent a differential from common milk and benefits for consumer health.

Palavras-chave: beta-casein A1; genetic selection; beta-casomorphin-7; health.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
	3.1. Variantes da beta-caseína.....	9
	3.2. Doenças relacionadas	11
	3.2.1. Diabetes mellitus tipo 1	11
	3.2.2. Doenças cardiovasculares	12
	3.2.3. Autismo	14
	3.3. Relevância na produção de sólidos.....	15
	3.4. Seleção do alelo A2.....	16
4	CONCLUSÃO	17
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

1 INTRODUÇÃO

A produção de leite no Brasil tem potencial de desenvolvimento no agronegócio, sendo ferramenta importante na geração de emprego, renda e, principalmente, fonte de alimento para a população brasileira (VILELA, 2002). O cenário brasileiro sobre o mercado do leite denota tendências favoráveis para a cadeia, com expectativa de aumento da produção para o ano de 2017, leve aumento do consumo *per capita* interno, redução da produção de mercados importantes como China e Nova Zelândia e melhora nos preços para exportação. Em 2016, o Brasil foi o quinto maior produtor mundial, sendo que a produção nacional atingiu 34,7 bilhões de litros, caracterizando um consumo *per capita* de, aproximadamente, 175,9 litros/habitante (evolução de 0,8% em relação ao ano anterior), e promoveu magnitude à economia brasileira, uma vez que, as exportações alcançaram 229 milhões de litros (CONAB, 2017).

O leite e seus derivados possuem um papel expressivo no suprimento de alimentos, sendo composto principalmente de proteínas de alto valor biológico, responsáveis pelas atividades funcionais e estruturais dos organismos vivos (SHARMA et al., 2013), principalmente para o crescimento e o desenvolvimento humano (HAUG et al., 2007). É uma mistura complexa de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, lipídios, aminoácidos, imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento, citocinas, nucleotídeos, poliaminas, enzimas e peptídeos bioativos (PB) (HAUG et al., 2007). O consumo de leite e produtos lácteos pode desempenhar um papel importante na prevenção de uma série de doenças (KORHONEN; PIHLANTO, 2006).

As proteínas que compõem o leite são, categoricamente, divididas em proteínas do soro do leite (alfa-lactalbumina e beta-lactoglobulina) (ZOHREH et al., 2015) e proteínas caseínas, como: alfa s1, alfa s2, kappa e beta-caseína (CSN2) (SULIMOVA et al., 2007; JAISWAL et al., 2014). As CSN2 formam o grupo predominante entre as proteínas totais (KAMINSKI et al., 2007), alcançando 30% (HAQ et al., 2013; KEATING et al., 2008;). Existem ainda, as variantes genéticas da CSN2, sendo a A1 e a A2 as mais comumente encontradas e estudadas entre as diferentes raças de gado leiteiro (HAQ et al., 2013).

A variante A1 é associada à produção de PB, como a beta-casomorfina-7 (BCM-7), liberados após hidrólise enzimática pelas enzimas gastrointestinais (KORHONEN; PIHLANTO, 2006), estão relacionados a efeitos adversos à saúde humana (McLACHLAN, 2001). A BCM-7 é descrita como fator oxidante e predisponente para o desenvolvimento de alergia à proteína do leite (KORHONEN; PIHLANTO, 2006), doença cardíaca isquêmica (DCI) humana (LAUGESSEN; ELLIOTT, 2003; McLACHLAN, 2001), diabetes mellitus tipo-1 (DM-1) (ELLIOT et al., 1999; LAUGESSEN; ELLIOTT, 2003;), arteriosclerose (TAILFORD et al., 2003), síndrome da morte súbita infantil (SUN et al., 2003) e autismo (SOKOLOV et al., 2014).

Frente a isso, empresas internacionais já começaram a comercializar em larga escala leite e derivados contendo exclusivamente a variante A2, sendo a variante relacionada com a menor produção do bioativo BCM-7, após digestão enzimática, quando consumido. No Brasil já existem laticínios especializados em leite A2 que trabalham em baixa escala, atendendo a mercados regionais. Porém, recentemente, muitos grupos vêm se mostrando interessados e acreditam no potencial deste novo produto. Hoje já se pode encontrar rebanhos taurinos e zebuínos nacionais, homocigotos para o alelo A2 da CSN2. Tal fato desenvolveu-se graças à seleção genética por meio de marcadores *Single nucleotid polymorfism* (SNIP) realizada por associações, empresas e produtores (CONAB, 2017; MILKPOINT, 2017; OLENSKI et al., 2010).

Acredita-se que o tema escolhido seja de mérito científico, uma vez que há interesse nutricional, econômico, zootécnico e, principalmente, de saúde pública. O objetivo desta revisão sistemática foi abordar os aspectos da variante A2 da CSN2 no leite bovino em comparação à variante A1, em relação à saúde humana e à tecnologia de produção de leite, considerando que o alelo A2 não está envolvido na predisposição a doenças humanas e que, nutricionalmente, há indícios de que ele pode aperfeiçoar as características do leite, por meio de acréscimo de proteína, volume de leite e diminuição do nível de gordura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de uma revisão sistemática, a qual abrange as vantagens da proteína CSN2 A2 em relação à variante A1, ambas relacionadas à produção de PB, como agentes causadores de efeitos colaterais nos seres humanos. A escolha do assunto baseou-se no fato de que o consumo de leite é, predominantemente, proveniente de animais classificados como A1, sendo o leite proveniente desses animais considerado como fator predisponente para a ocorrência de doenças em humanos. Outro ponto abrange o contexto econômico, uma vez que, a variante A2 possui correspondência positiva com as características responsáveis por incorporar valor ao leite e incremento na produção.

O levantamento bibliográfico foi realizado durante o mês de abril a junho de 2017 e revisado durante os meses de maio e junho do mesmo ano. Foram utilizadas *Scielo*, *Google scholar* e *PubMed*, *ResearchGate* e *Web of Science*, como bases de dados, e as palavras chaves como estratégia de busca foram: (bovine) AND (milk protein) AND (polymorfism OR illness) AND (beta-casein OR beta-casomorphin-7). Os trabalhos selecionados foram previamente escolhidos pelos resumos que atendiam às características do tema proposto. Foram utilizados 36 estudos em inglês e 3 em português, publicados entre 1960 e 2017 e outras 4 fontes de bases de dados de endereço eletrônico para acrescentar dados quantitativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Variantes da beta-caseína

Dentre as proteínas constituintes do leite bovino, 80% são representadas pelas caseínas, onde encontramos a CSN2, que corresponde a, aproximadamente, 30% das proteínas do leite (KEATING et al., 2008). A CSN2 é classificada como um agente polimorfo, com variantes distintas, de acordo com a composição genética das diferentes raças de gado (HANUSOVÁ et al., 2010). São descritas 13 variantes: A1, A2, A3, A4, B, C, D, E, F, H1, H2, I, G (KAMINSKI et al., 2007) e, dentre elas, as

variantes A1 e A2 são as formas mais comuns isoladas, B é menos frequente e A3 e C são raras (JAISWAL et al., 2014).

As variantes A1 e A2 diferenciam-se molecularmente pelo polimorfismo de um único nucleotídeo de citosina (CCT) por uma de adenina (CAT) no gene da CSN2, o que resulta na troca do aminoácido histidina presente na variante A1 pela prolina na posição 67 da cadeia da variante A2 (JAISWAL et al., 2014; SHARMA et al., 2013). As proteínas do leite são responsáveis pela liberação PB (KORHONEN; PIHLANTO, 2006), dentre eles, os peptídeos opióides denominados de beta-casomorfina (BCM), que são liberados da CSN2 por proteólise, entre os quais, a BCM-7, que é liberada em maior quantidade a partir de variantes da CSN2 contendo histidina na posição 67 (NGUYEN et al., 2015). Porém, pequenas quantidades desta são encontradas no leite de vaca com o genótipo A2A2, provavelmente devido à hidrólise ácida da CSN2 (CIESLINSKA et al., 2012). O valor nutritivo das caseínas do leite bovino é considerado não apenas pelo teor de aminoácidos, mas também pelos PB liberados durante a digestão dessas proteínas (CIESLINSKA et al., 2012)

A concentração de PB pode variar após processamentos como fermentação láctea de iogurtes, maturação de queijos, tratamentos em altas e baixas temperaturas (NGUYEN et al., 2015) e, principalmente, após serem hidrolisados por enzimas gastrointestinais (pepsina, tripsina e elastase) durante a digestão (OLENSKI et al., 2010). Os PB são um grupo de moléculas que, em sua maioria, manifestam atividades antimicrobianas, anti-hipertensivas, antitrombóticas, imunomoduladoras e de ligação mineral (KORHONEN; PIHLANTO, 2006), podendo regular funções específicas no organismo humano (NGUYEN et al., 2015).

Todavia, a permuta do nucleotídeo descrito anteriormente na CSN2 A1 relaciona-se com a alteração da conformação secundária de sua estrutura, afetando as propriedades físicas da micela da caseína e a vulnerabilidade à digestão enzimática (OLENSKI et al., 2010), resultando na produção de BCM-7, bioativo relacionado a efeitos deletérios sobre os principais sistemas do corpo, como cardiovascular, digestivo, imune e nervoso (KORHONEN; PIHLANTO, 2006). As principais doenças humanas suscetíveis à influência da variação da ingestão de CSN2 A1 e, conseqüentemente, de BCM-7, são DCI humana, DM-1 e autismo (ELLIOTT et al., 1999; LAUGESSEN; ELLIOTT 2003; MCLACHLAN, 2001).

Portanto, a variante A1 da caseína do leite vem sendo considerada como fator de risco para a saúde (OLENSKI et al., 2010), com produção de BCM-7, numa proporção de duas a quatro vezes maior do que apresentada pelo alelo A2 (KAMINSKI et al., 2007; TORA ASLEDOTTIR et al., 2017). Em leite cru hidrolisado com mistura de enzimas gastrointestinais, são reportados valores 20 a 30 vezes maiores de A1 do que A2, sendo o genótipo A1A1 da CSN2 a principal fonte de BCM-7 (CIESLINSKA et al., 2012)

3.2. Doenças relacionadas

3.2.1. Diabetes mellitus tipo 1

Dentre os PB, o que mais chama a atenção por causar possíveis danos à saúde humana é a BCM-7, que apresenta atividade semelhante à morfina (MCLACHLAN, 2001; KORHONEN; PIHLANTO, 2006).

Antes de descobrir a BCM-7 e a variante A1 da CSN2, os pesquisadores consideravam o consumo de leite de vaca como sendo um fator desencadeante para o desenvolvimento de DM-1. Dahl-Jorgensen et al., (1991), utilizando um modelo de regressão linear, verificaram que 94% da variação geográfica na incidência da doença em crianças foi explicada por diferenças no consumo de leite. Já Elliott et al.(1999) não encontraram correlação entre o consumo total de proteína e a incidência de DM-1 ($r = + 0,402$), mas encontraram um aumento significativo de correlação entre o consumo de CSN2 (A1 + B) e DM-1 ($r = + 0,982$). Ao avaliar a correlação entre o consumo de leite, iogurte e creme, com a ocorrência de DM-1, Laugesen e Elliott (2003) encontraram correlações elevadas em todas as faixas etárias estudadas (0-14 anos). Os autores também constataram que as correlações entre DM-1 e as combinações das variantes A1 + B e A1 + B + C foram mais brandas do que entre DM-1 e A1 sozinha. Para cada aumento de 1% na entrada de CSN2 A1 *per capita* foi associado um aumento de 1,3% na incidência de DM-1.

A DM-1 é um problema crescente em todo o mundo e mais preocupante entre as crianças. Resultados de estudos sugerem que exista uma ligação causal entre a introdução precoce de leite de vaca, particularmente contendo CSN2 A1, como principal gatilho dietético para o desenvolvimento de DM-1 em crianças (CHIA et al.,

2017; WADSWORTH, 1997). Por isso os autores ressaltam a importância do papel protetor da amamentação exclusiva, uma vez que as caseínas humanas não produzem a BCM-7 após a digestão *in vitro* com enzimas intestinais (ELLIOT et al., 1999). O mesmo ocorre com a variante A2 e as caseínas do leite de cabra.

A introdução de leite e fórmulas infantis na alimentação de crianças antes do 4º mês de vida levou ao aumento significativo de DM-1 quando comparado a crianças que se alimentavam exclusivamente com leite materno até os primeiros 4 a 7 meses de vida, mesmo quando a mãe esteve exposta ao leite de vaca durante o período de amamentação (MONETINI et al., 2001; VIRTANEN, 1990). Borch-Johnsen et al. (1984), após avaliar populações escandinavas geneticamente muito similares, concluíram que, quando a frequência de amamentação é alta, a incidência de DM-1 é baixa.

As crianças com DM-1 e alimentadas com mamadeira apresentaram níveis significativamente maiores de anticorpos contra CSN2 e outras proteínas do leite e soro, em comparação com grupos controles. Acredita-se que as BCMs sejam absorvidas através do trato gastrointestinal de recém-nascidos e bebês jovens em maior quantidade, por possuírem maior permeabilidade gastrointestinal e sistema nervoso imaturo, tornando-os mais suscetíveis do que os adultos, ao experimentar os efeitos opióides de BCM-7 (BELL, et al., 2006; MONETINI et al., 2001).

Em estudo com camundongos não obesos geneticamente predispostos à diabetes, os animais tratados com leite de vacas *Bos taurus* europeias (variante A1 em maior proporção) (KAMINSKI et al., 2007) desenvolveram DM-1, enquanto que os animais dos outros tratamentos com leite de vacas *Bos indicus* indianas (variante A2 predominante) (GANGULY et al. 2013), soro de leite (alfa-lactoalbumina e beta-lactoglobulina) ou proteína de soja, leite hidrolisado e naloxona (opióide antagonista) não desenvolveram DM-1 (ELLIOT et al., 1997). Isso é explicado pelo fato de CSN2 A1 possuir o aminoácido histidina no resíduo 67 da cadeia de aminoácidos da proteína, e assim, ter a capacidade de, preferencialmente, produzir BCM-7 pela ação de enzimas gástricas e intestinais durante a digestão (BELL et al., 2006).

3.2.2. Doenças Cardiovasculares

Nas décadas de 1950 e 1960, o leite foi utilizado como componente alimentar importante em tratamentos médicos para úlceras no estômago, adotando-se a dieta Sippy (baseada na ingestão de 100 ml de leite e nata das 7 às 19 h) ou similares. Porém, foi encontrada uma incidência muito maior de infartos de miocárdio entre indivíduos autopsiados com úlceras pépticas tratados com dietas Sippy ou similares, do que entre pacientes com úlcera e não tratados dessa forma. A incidência de infartos do miocárdio entre os pacientes com úlcera e dieta Sippy na Inglaterra foi essencialmente a mesma que a incidência nos controles sem úlcera nos EUA. Essa incidência comparativamente elevada de infartos do miocárdio nos grupos controle nos EUA pode ser devido ao alto consumo de produtos lácteos (BRIGGS et al., 1960).

Essa descoberta pode ser questionada ao se comparar duas tribos Africanas, os Masai e os Samburu, que habitam a região do Lago Victoria (Kenia, Uganda, Tanzania). Essas tribos consomem dietas à base de carne e leite, com pouca ingestão de vegetais, além de 2 a 7 litros de leite diariamente, dependendo da estação das chuvas. Nenhuma evidência clínica de doença cardiovascular foi observada em qualquer dos idosos examinados nas tribos e suas pressões sanguíneas medidas indicaram que a hipertensão foi incomum. Neles, a pressão arterial sistólica é significativamente inferior à dos americanos ou europeus em todas as idades e as pressões diastólicas caem após os 50 anos. Estudos eletrocardiográficos iniciais sugerem baixa incidência de doença cardíaca coronária e os níveis de lipídios no sangue são comparáveis aos encontrados em grupos que vivem em dietas com baixo teor de gordura (MANN, et al., 1964; SHAPER, 1962).

Porém, ao avaliar o trabalho de Hanotte et al. (2000) observou-se que na população de bovinos da região do Lago Victoria (Kenia, Uganda, Tanzania), que a predominância de animais de origem indiana (*Bos indicus*) é de 83% contra 17% de animais de origem europeia (*Bos taurus*). Sabe-se que animais *Bos indicus* apresentam maior frequência do alelo A2 da CSN2 (GANGULY et al., 2013; LIMA; LARA, 2015; VERCESI FILHO et al., 2012), explica-se a diferença de resultados entre pacientes com úlceras no estômago tratados com dietas lácteas e as tribos africanas, além de ser evidente o benefício do consumo dessa variante. Mesmo que o aumento da ingestão de leite seja responsável pela alta incidência de infarto do

miocárdio em pacientes com úlcera, a identidade do componente específico do leite é decisiva para a doença (BRIGGS et al., 1960).

O consumo de CSN2 A1 ou possivelmente de um fragmento do alelo, pode contribuir significativamente para a etiologia das doenças cardiovasculares, sendo talvez um fator de risco específico para morte por DCI (aumento de r^2 de 0,26 para 0,71, $P < 0,01$) como apresenta McLachlan (2001), deixando os fatores de risco comumente citados como gordura animal e carne vermelha sem grande relevância. Dados de 20 países Europeus coletados por Laugesen e Elliott (2003) mostraram relação significativamente positiva entre a ingestão de CSN2 A1 *per capita* por meio de leite e creme e a DCI.

Em um estudo realizado com coelhos, os animais do grupo alimentado com mais CSN2 A2 do que CSN2 A1 apresentaram menos sinais de danos cardiovasculares. Além disso, os animais alimentados com CSN2 A2 não apresentaram danos às artérias, mesmo após a ingestão de colesterol. Os coelhos alimentados com CSN2 A1 apresentaram uma proporção significativamente maior da área superficial da aorta coberta por estrias gordurosas e apresentaram maior espessura nas lesões do que os alimentados com CSN2-A2 ($P \leq 0,005$) (TAILFORD et al., 2003),

3.2.3. Autismo

O chamado espectro de autismo inclui transtorno autístico/autismo infantil (Síndrome de Kanner), síndrome de Asperger (autismo altamente funcional), autismo atípico e desordem desintegrativa da infância. A distinção entre Síndrome de Kanner e síndrome de Asperger não é universalmente aceita, havendo grandes similaridades nos quesitos de diagnóstico. A diferença está apenas em que na síndrome de Asperger a memória é privilegiada e os aspectos cognitivos e da linguagem não apresentam atraso (GILLBERG, 2004).

Os produtos lácteos, juntamente com o glúten, liberam peptídeos opióides exógenos (KORHONEN; PIHLANTO, 2006), que parecem ser responsáveis pelo agravamento neurológico em condições como autismo e esquizofrenia (BELL et al., 2006; REICHEL et al., 1981). Através da detecção de casomorfina utilizando o método de ELISA de alta sensibilidade, verificou-se que a concentração de BCM-7

bovino na urina foi significativamente maior nos pacientes com síndrome de Asperger do que em crianças saudáveis e, em pacientes com síndrome de Kanner, os níveis foram significativamente maiores que naqueles com síndrome de Asperger. Supõe-se que o aumento das concentrações de BCM-7 circulante ocorre por baixa atividade de enzimas digestivas e/ ou atividade reduzida de peptidase no sangue (KOST et al., 2009; SOKOLOV et al., 2014). Embora a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) não tenha apoiado a hipótese sobre a relação causa-efeito entre uma ingestão oral de b-casomorfina-7 e a etiologia das doenças humanas, os altos teores desse peptídeo no leite enzimaticamente hidrolisado continuam intrigantes (CIESLINSKA et al., 2012).

3.3. Relevância na produção de leite e sólidos

Como mencionado anteriormente, o valor nutritivo do leite decorre diretamente da alta concentração de caseínas bovinas presentes (SHARMA et al., 2013); porém, este alto valor não é apenas determinado pelo seu teor de aminoácidos, mas também pelos PB liberados durante sua digestão no trato gastrointestinal (CIESLINSKA et al., 2012).

Independente do caráter predisponente da CSN2 A1 e seus respectivos PB para a manifestação de doenças humanas (OLENSKI et al., 2010), alguns estudos vêm associando o polimorfismo do alelo da CSN2 com características de produção, especialmente o rendimento de leite e proteína, trazendo ainda mais vantagens e despertando interesse ao setor lácteo para a expansão de produtos específicos para a variante (IKONEN et al., 1999; OLENSKI et al., 2010). Pesquisadores relatam que a CSN2-A2 reduz o colesterol no soro, diminui a concentração de lipídios de baixa densidade, que desempenham um papel importante na prevenção de uma ampla gama de doenças vasculares humanas (KAMINSKI et al., 2007) e o alelo A2 tem efeito positivo sobre a quantidade produzida de proteína e leite e negativo sobre a produção de gordura (OLENSKI et al., 2010). Contrapondo-se, Ikonen et al. (1999) relatam que o genótipo A1A1 é responsável pelo maior acréscimo de porcentagem de gordura, deixando a produção de leite e proteína sob responsabilidade de animais A2A2.

O uso do composto beta-kappa-caseína para estimar os efeitos dos genótipos de caseína e para considerar seu uso na seleção é bem fundamentado (IKONEN et al., 1999). Portanto, acredita-se que genotipar e selecionar touros preferencialmente para a variante A2 da CSN2 pode aumentar o rendimento na produção para proteína, leite (OLENSKI et al., 2010; IKONEN et al., 1999) e, em alguns casos, gordura (BECH; KRISTIANSEN, 1990), e diminuir a prevalência da variante A1, reduzindo seus efeitos negativos (GANGULY et al., 2013) sem diminuir o nível dos índices de desempenho leiteiro (OLENSKI et al., 2010).

Para Cieslinska et al. (2012) as propriedades do leite A2 deveriam ser mais difundidas já que se trata de um novo fator nutricional de qualidade do leite com base no conteúdo de b-casomorfina-7 liberado *in vivo* e, assim ganhar espaço no mercado nacional da indústria de laticínios.

3.4. Seleção do alelo A2

No Brasil existe um grande potencial para o desenvolvimento de rebanhos homocigotos e produção de leite A2. O rebanho de animais destinados à produção de leite em 2015 era de 53,5 milhões de animais (25,5% do rebanho nacional), sendo que 21,7 milhões foi à quantidade de vacas ordenhadas (BEEFPOINT, 2016; CONAB, 2017) e, no ano de 2014, 87% do sêmen produzido e comercializado no Brasil para a produção de leite foi oriundo de animais mestiços (Girolando) e *Bos indicus* (Gir Leiteiro, Guzerá e Sindi) (ASBIA, 2014). Resultados nacionais de rebanhos zebuínos leiteiro encontraram frequências gênicas do alelo A2 variando de 89-100% (VERCESI FILHO et al., 2012; LIMA; LARA, 2015) contra rebanhos taurinos com 43-50% na raça holandesa (LIMA; LARA, 2015; HANUSOVA et al., 2010), 65% na raça Holandês Frisian (OLENSKI et al., 2010) e 63% na raça Caracu (LIMA; LARA, 2015).

Ao que vários autores afirmam eliminação ou seleção contra a variante alélica A1 podem ser sugeridas, sendo que a preferência do alelo A2 terá um efeito positivo sobre a quantidade produzida de proteína e leite (característica de produção rentável). O polimorfismo de CSN2 é altamente útil na seleção assistida por marcadores e pode ser adicionalmente usado como marcador de leite "promotor de saúde". Com base nos resultados atuais, estratégias de melhoramento podem ser

adotadas para desenvolver um rebanho/ raça com genótipo A2A2 e seu leite pode ser comercializado a um preço superior (OLENSKI et al., 2010; GANGULY et al., 2013; IKONEN et al., 1999; BECH; KRISTIANSEN, 1990).

4 CONCLUSÃO

A correlação entre o consumo de CSN2 A1 e o aumento na incidência de DM-1, DCI, arteriosclerose e autismo apoia a ideia dessa proteína ser fator de risco para indivíduos susceptíveis a essas doenças, o que não ocorre com a variante A2. Sendo assim, os produtos lácteos desenvolvidos a partir de vacas de genótipo A2A2 podem ser mais benéficos para essas pessoas do que dietas totais sem caseína, sugerindo a possibilidade de fornecer um novo fator nutricional para a qualidade do leite.

Genotipar reprodutores e preferir o alelo A2 podem levar a dois benefícios para o produtor: aumentar a produção para o rendimento em proteína e leite e a frequência decrescente da variante A1 da proteína.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASBIA (Associação Brasileira de Inseminação Artificial). **Index ASBIA Mercado 2014**. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>>. Acesso em: 28 jun. 2017.

BECH, A. M.; KRISTIANSEN, K.R. Milk protein polymorphism in Danish dairy cattle and the influence of genetic variants on milk yield. **J. Dairy Res.**, v. 57, p. 53–62, 1990.

BEEFPOINT. **Perfil da pecuária no Brasil** – relatório anual 2016. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-do-boi/perfil-da-pecuaria-no-brasil-relatorio-anual-2016/>>. Acesso em: 28 jun. 2017.

BELL, S.; GROCHOSKI, G.; CLARKE, A. Health implications of milk containing beta-casein with the A2 genetic variant. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.46, p.93–100, 2006.

BORCH-JOHNSEN, K.; JONER, G.; MANDROUP-POULSEN, T.; CHRISTY, M.; ZACHAU-CHRISTIANSEN, B.; KASTRUP, K.; NERUP, J. Relationship between breast-feeding and incidence rates of IDDM. **Lancet.**, v.2, p.1084, 1984.

BRIGGS, R. D.; RUBENBERG, A. B.; O'NEAL, R. M.; THOMAS, W. A.; HARTROFT, W. S. Myocardial infarction in patients treated with Sippy and other high-milk diets. An autopsy study of fifteen hospitals in the USA and Great Britain. **Circulation**, v.21, p.538-542, 1960.

CONAB-COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Conjuntura mensal Especial. **Leite e derivados**. Abril, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_15_14_13_38_leite_abril_2017.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2017.

CHIA, J. S. J.; McRAE, J. L.; KUKULJAN, S.; WOODFORD, K.; ELLIOT, R. B.; SWINBURN, B.; DWYER, K. M. A1 beta-casein milk protein and other environmental pre-disposing factors for type 1 diabetes. **Nutr. Diabetes**, v.7, p.e274, 2017.

CIESLINSKA, A.; KOSTYRA, E.; KOSTYRA, H.; OLINSKI, K.; FIEDOROWICZ, E.; KAMINSKI, S. Milk from cows of different beta-casein genotypes as a source of betacasomorphin- 7. **Int. J. Food Sci. Nutr. Diet.**, v.63, p.426-430, 2012.

DAHL-JORGENSEN, K.; JONER, G.; HANSEN, K. F. Relationship between cows' milk consumption and incidence of IDDM in childhood. **Diabetes Care**, v.14, p.1081–3, 1991.

ELLIOT, R. B.; WASMUTH, H. E.; BIBBY, N. J.; HILL, J. P. The role of b-casein variants in the induction of insulin-dependent diabetes in the non-obese diabetic mouse and humans. In: SEMINAR ON MILK PROTEIN POLYMORPHISM, 2., 1997.

Proceedings...Palmerston North, New Zealand: International Dairy Federation, Brussels, n. 9702, p.445-453, 1997.

ELLIOTT, R. B.; HARRIS, D. P.; HILL, J. P.; BIBB, N. J.; WWASMUTH, H. E. Type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. **Diabetologia**, v.42, p.292-296, 1999.

GANGULY, I; GAUR, G. K; SINGH, U; KUMAR, S; KUMAR, S; MANN, S. Beta-Casein (CSN2) polymorphism in Ongole (Indian zebu) and Frieswal (HF x Sahiwal crossbred) cattle. **Indian J. of Biotech.**, v.12, p.195-198, 2013.

GILLBERG, C. Autism spectrum disorders. In: WORLD CONGRESS OF IACAPAP. 16., 2004. Berlim. **Proceedings**... Berlim, Germany: International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, 2004. p.4. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=F_j0CAAQBAJ&pg=PA89&lpg=PA89&dq=Gillberg+C.+Autism+spectrum+disorders.+In:+16th+World+Congress+of+International+Association+for+child+and+adolescent+psychiatry+and+allied+professions.+2004.&source=bl&ots=JmZL6qyx22&sig=G-1NvhvbTFiKUQtsV0x18nwf0zM&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwiGxqv0i-bUAhXCiJAKHV2RCYUQ6AEIKDAA#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 30 jun. 2017.

HANOTTE, O.; TAWAH, C. L.; BRADLEY, D. G.; OKOMO, M.; VERJEE, Y.; OCHIENG, J.; REGE, J. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-Saharan African cattle breeds. **Mol. Ecol.**, v.9, p.387–396, 2000.

HANUSOVÁ, E.; HUBA, J.; ORAVCOVÁ, M.; POLÁK, P.; VRTKOVÁ, I. Genetic variants of beta casein in Holstein dairy cattle in Slovakia. **J. Animal Sci.**, v.43, p.63-66, 2010.

HAQ, M. R. U.; KAPILA, R.; SHARMA, R.; SALIGANTI, V.; KAPILA, S. Comparative evaluation of cow β -casein variants (A1/A2) consumption on Th2-mediated inflammatory response in mouse gut. **Eur. J. Nutr.**, v.10, p.1-11, 2013.

HAUG, A.; HOSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition – a review. **Lipids Health Dis.**, v. 6, p.25, 2007.

IKONEN, T.; OJALA, M.; RUOTTINEN, O. Associations between casein haplotypes and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshine cows. **J. Dairy Sci.**, v.82, p.1026-1033, 1999.

JAISWAL, K.; DE, S.; SARSAVAN, A. Detection of single nucleotide polymorphism by T-ARMS PCR of cross bred cattle Karan Fries for A1, A2 beta casein types. **Inter. J. Sci. Res. Biol. Sci.**, v.1, p.18-20, 2014.

KAMINSKI, S.; CIESLINSKA, A.; KOSTYRA, E. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. **J. Appl. Genet.**, v.48, p.189–198, 2007.

KEATING, A.; SMITH, T.; ROSS, R.; CAIRNS, M. A note on the evaluation of a beta-casein variant in bovine breeds by allele-specific PCR and relevance to β -casomorphin. **Irish J. Agric. Food Res.**, v.47, p.99-104, 2008.

KORHONEN, H.; PIHLANTO, A. Bioactive peptides: Production and functionality. **Int. Dairy J.**, v.16, p.945–960, 2006.

KOST, N. V.; SOKOLOK, O. Y.; KURASOVA, O. B.; DIMITRIEV, A. D.; TARAKANOVA, J. N.; GABAEVA, M. V.; ZOLOTAREV, Y. A.; DADAYAN, A. K.; GRACHEV, S. A.; KORNEEVA, E. V.; MIKHEEVA, I. G.; ZOZULYA, A. A. Betacasomorphin-7 in infants on different types of feeding and different levels of psychomotor development. **Peptides**, v.30, p.1854–60, 2009.

LAUGESEN, M.; ELLIOT, R. Ischemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk A1 b-casein. **NZ. Med. J.**, v.116, p.1–19, 2003.

LIMA A. C. J.; LARA M. A. C. Polimorfismo do gene b-caseína em bovinos. **AICA.**, v.6, p.280-285, 2015.

MANN, G. V.; SHAFFER, R. D.; ANDERSON, R. S.; SANDSTEAD, H. H. Cardiovascular disease in the MASAI. **J. Atheroscler. Res.**, v. 4, p.289–312, 1964.

McLACHLAN, C. N. S. Beta casein A1, ischemic heart disease mortality and other illness. **Med. Hypotheses**, v.56, p.262-272, 2001.

MILKPOINT. **Criatórios estão selecionando seus plantéis para a comercialização de animais e leite A2A2** 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/criatorios-estao-selecionando-seus-planteis-para-a-comercializacao-de-animais-e-leite-a2a2-105897n.aspx>>. Acesso em: 28 de jun. 2017.

MONETINI, L.; CAVALLO, M. G.; STEFANINI, L.; FERRAZZOLI, F.; BIZZARRI, C.; MARIETTI, G.; CURRO, V.; CERVONI, M.; POZZILLI, P. Bovine β -casein antibodies in breast- and bottle-fed infants: their relevance in Type 1 diabetes. **Diabetes Metab. Res. Rev.**, v.17, p.51–54, 2001.

NGUYEN, D. D.; JOHNSON, S. K.; Busetti, F.; SOLAH, V. A. Formation and degradation of b-casomorphins in dairy processing. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.55, p.1955-1967, 2015.

OLENSKI, K.; KAMINSKI, S.; SZYDA, J.; CIESLINSKA, A. Polymorphism of the beta-casein gene and its associations with breeding value for production traits of Holstein–Fresian bulls. **Livest. Sci.**, v.131, p.137–140, 2010.

REICHEL, K. L.; HOLE, K.; HAMBERGER, A. Biologically active peptide containing fractions in schizophrenia and childhood autism. **Adv. Biochem. Psychopharmacol.**, v.28, p.627–643, 1981.

SHAPER, A. G. Cardiovascular studies in the Samburu tribe of Northern Kenya. **Am. Heart J.**, v.63, p.437- 442, 1962.

SHARMA, V.; SHARMA, N.; JAWED, B.; NAUTIYAL, S. C. High resolution melt curve analysis for the detection of A1, A2 β -casein variants in Indian cows. **J. Microbiol. Biot. Res.**, v.3, p.144-148, 2013.

SOKOLOV, O.; KOST, N.; ANDREEVA, O.; KORNEEVA, E.; MESHAVKIN, V.; TARAKANOVA, Y; et al. Autistic children display elevated urine levels of bovine casomorphin-7 immunoreactivity. **Peptides**, v.56, p.68–71, 2014.

SULIMOVA, G. E.; AZARI, M. A.; ROSTAMZADEH, J.; ABADI, M. R. M.; LAZEBNY, O. E. κ - casein gene (CSN3) allelic polymorphism in Russian cattle breeds and its information value as a genetic marker. **Russ. J. Genet.**, v.43, n.1, p.73-79, 2007.

SUN, Z.; ZHANG, Z.; WANG, X.; CADE, R.; ELMIR, Z.; et al. Relation of beta-casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. **Peptides**, v.24, p.937-943, 2003.

TAILFORD, K. A.; BERRY, C. L.; THOMAS, A. C.; CAMPBELL, J. H. A casein variant in cow's milk is atherogenic. **Atherosclerosis**, v.170, p.13–19, 2003.

TORA ASLEDOTTIR; THAO, T. LE; BJORN, P. M; TOVE, G. D; LOTTE, B. L; GERD, E. V. Identification of bioactive peptides and quantification of b-casomorphin-7 from bovine b-casein A1, A2 and I after ex vivo gastrointestinal digestion. **Inter. Dairy. J.**, v.7, p.98-106, 2017.

VERCESI FILHO, A.E.; CAMARGO, G. M. F.; CARDOSO, D. F.; ZADRA, L. F.; FERNANDES, A. R.; TONHATI, H. Identificação de alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Gir Leiteiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL. 9., 2012. João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, Paraíba: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2012. Disponível em: <<http://sbmaonline.org.br/anais/ix/trabalhos/pdf/4TAN.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

VILELA, D. A importância econômica, social e nutricional do leite. **Rev. Batavo**, n.111, 2002. Disponível em: <<http://www.nupel.uem.br/importancia.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

VIRTANEN, S. M.; RASANEN, L.; ARO, A.; LINDSTROM, J.; TUOMILEHTO, J.; AKERBLOM, H. K. Infant feeding of Finnish diabetic children diagnosed before the age of 7 years compared to control children. **Diabetologia**, v.33, p.197, 1990.

WADSWORTH, E. J.; SHIELD, J. P.; HUNT, L. P.; BAUM, J. D. A case-control study of environmental factors associated with diabetes in the under 5s. **Diabet. Med.**, v.14, p.390–396, 1997.

ZOHREH, R.; MAJID, G.; ZIBA, R.; KHEIROLLAH, Y. Evaluation of beta-casein locus for detection of A1 and A2 allele frequency using allele specific PCR in native cattle of Kermanshah, Iran. **Biharean Biol.**, v.9, p.85-87, 2015.