

## Ефективність дії гідролізату аs1-казеїну на пов'язані зі стресом симптоми у жінок

JH Kim<sup>1</sup>, D Desor<sup>2</sup>, Y-T Kim<sup>3</sup>, W-J Yoon<sup>3</sup>, K-S Kim<sup>4</sup>, JS Jun<sup>5</sup>, KH Pyun<sup>1</sup> and I Shim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Integrative Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea; <sup>2</sup>Laboratoire de Neurosciences Comportementales, Unite´ de recherche sur l'Animal et les Produits Animaux, Universite´ Henri Poincare´, Institut National Polytechnique de Lorraine/Institut National de la Recherche Agronomique, Faculte´ des Sciences, Vandoeuvre Les Nancy Cedex, France; <sup>3</sup>Department of Pharmaceuticals and Health Foods, Lotte R&D Center, Seoul, Korea; <sup>4</sup>Department of Family Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea and <sup>5</sup>Department of Psychiatry, Inha University Hospital, Incheon, Korea.

**Мета:** вивчити вплив гідролізату аs1-казеїну на жінок із симптомами, пов'язаними зі стресом. **Дизайн:** Подвійне сліпе, рандомізоване, перехресне, плацебо-контрольоване дослідження. **Налаштування:** Гідролізат аs1-казеїну був виготовлений INGREDIA (Arras, France), а плацебо – компанією DIETAROMA (Bourg, France). Дослідження було розроблено та проведено в PROCLAIM (Rennes, France), а також проведено статистичний аналіз виконував D Desor (Nancy, France).

**Суб'єкти:** загалом 63 жінки-волонтери, які страждають принаймні одним розладом, який може бути пов'язаний зі стресом, таким як тривога, проблеми зі сном і загальна втома.

**Втручання:** загалом 63 добровольці взяли участь у подвійному сліпому, рандомізованому, перехресному, плацебо-контрольованому дослідженні. Суб'єкти були випадковим чином розподілені для отримання або таблеток, що містять гідролізат аs1-казеїну, або плацебо в дозі 150 мг/день протягом 30 днів. Після 3-тижневого періоду вимивання їх перевели на новий 30-денний період прийому таблеток. Вимірюваним результатом була анкета, що включала 44 пункти симптомів, які можуть бути пов'язані зі стресом, у яких тяжкість кожної ознаки була оцінюється за 10-градусною шкалою. Ці показники вивчали повторно на 0, 15 і 30 день після початку кожного періоду втручання.

**Результати:** 30-денне лікування гідролізатом аs1-казеїну у жінок із симптомами, пов'язаними зі стресом, зменшило їхні симптоми, зокрема травлення (Рo0,01), серцево-судинні (Рo0,05), інтелектуальні (Рo0,01), емоційні (Рo0,05) та соціальні проблеми (Рo0,05).

**Висновок:** це дослідження показало, що 30-денний прийом гідролізату казеїну аs1 зменшив пов'язані зі стресом симптоми у жінок, що свідчить про те, що цей продукт можна використовувати як ефективний функціональний інгредієнт для полегшення таких симптомів. **Спонсорство:** це дослідження було частково підтримано INGREDIA Франції та Програмою досліджень нейробіології Міністерства науки і технологій Кореї (2004-01757) Корейського європейського журналу клінічного харчування (2006) 0, 000-000. doi:10.1038/sj.ejcn.1602553

**Ключові слова:** казеїн; аs1 - гідролізат казеїну; стрес; занепокоєння; жінки.

### Вступ

Під стресом розуміється реакція на будь-який фізичний або психологічний стимул, який порушує постійний гомеостаз (Pacak і Palkovits, 2001). Реакція на стрес складається з адаптивних фізіологічних процесів, що активуються у тварин і людей у складних ситуаціях (Carlson, 1994). У стресовому стані активна симпатична гілка вегетативної нервової системи, і надниркова залоза виділяє адреналін, норадреналін і стероїдні гормони стресу (Carlson, 1994).

Тривалий стрес може бути шкідливим у різних сферах: сон (Buguet та ін., 1994), пам'ять (de Quervain та ін., 1998) та харчова поведінка (Hotta та ін., 1999). Суб'єкти, у яких протягом тривалого часу спостерігається висока концентрація глюкокортикоїдів у сироватці крові, можуть страждати від смертельних уражень центральної нервової системи (McEwen, 2005).

Симпатична стимуляція стресом активує появу атерогенезу, полегшує агрегацію тромбоцитів, індукує аритмію та може призводити до виникнення ішемії міокарда шляхом підвищення потреби міокарда в кисні та метаболітах та зменшення його внеску (Engler and Engler, 1995). Крім того, у багатьох дослідженнях підкреслюється роль професійного або психосоціального стресу в деяких типах гіпертонії (Vrijkotte та ін., 2000). Зараз накопичуються докази того, що психологічний і соціальний стрес може сприяти очевидному надмірному ризику смертності від коронарної хвороби жінок. Відомо, що у жінок частіше діагностують депресію, і вони частіше виявляють симптоми депресії, ніж чоловіки (Weissman and Klerman, 1992). Стрес також змінює травну секрецію та моторику, призводить до гастродуоденальної виразки (Murison, 2000) і впливає на ендокринну (Sapolsky, 1997) та імунну системи (Cacioppo та ін., 1995).

Як наслідок, стрес може збільшити ризик різних захворювань, загострити багато захворювань і змінити здоровий спосіб життя. Тому ефективно управління стресом має важливе значення для зниження вразливості до хвороб і покращення якості життя.

В даний час білки молока є одними з найбільш широко використовуваних харчових білків людини. Молочний білок складається з розчинного сироваткового білка і нерозчинного колоїдного казеїну. Казеїни становлять 76–86% від загальної кількості молочних білків і можуть бути представлені основними генними продуктами:  $\alpha$ 1-казеїн,  $\alpha$ 2-казеїн,  $\beta$ -казеїн і  $\kappa$ -казеїн (Odagiri, 1985). Багато пептидів, які походять саме з коров'ячого  $\alpha$ 1-казеїну, вже ідентифіковані як такі, що мають біологічну активність (Matsuyama et al., 1987 рік; Леоніл та ін., 2001).

Молочний гідролізат  $\alpha$ 1-казеїну (lactium) і біоактивний декапептид ( $\alpha$ 1-casein-(f91–100),  $\alpha$ -casozepine), фрагмент цього гідролізату, який був просторово змодельований (Lecouvey et al., 1997a, b), вже показали профіль, подібний до анксиолітика, у тесті на умовне оборонне заковування (CDB) і в піднятому плюсовому лабіринті у щурів, дві добре відомі моделі, використані для вивчення анксиолітичних агентів у гризунів (Miclo et al., 2001). Крім того, оцінювали вплив лактіуму (промислового гідролізату  $\alpha$ 1-казеїну, що містить біоактивний  $\alpha$ -казозепін) на гемодинамічні відповіді у здорових людей-добровольців, які стикалися з послідовними психічними та фізичними стресовими ситуаціями (Messaoudi та ін., 2004).

Мета цього дослідження полягала в тому, щоб дослідити, чи пероральний прийом гідролізату  $\alpha$ 1-казеїну ( $\alpha$ 1-CH) у жінок із симптомами, пов'язаними зі стресом, змінить різні симптоми у фізіологічній, психологічній та соціальній сферах відповідно до їхніх відповідей на анкети для самооцінки.

## Методи

Суб'єкти були набрані за допомогою оголошень у громадських місцях (University Henri Poincaré, Vandoeuvre-le`s-Nancy, France). Загалом 63 жінки-волонтери віком від 18 років, що страждають принаймні одним симптомом, який може бути пов'язаний зі стресом: занепокоєння, сон, загальна втома, були набрані після оголошень у громадських місцях, таких як холи громадських установ. Вони брали участь після інформованої згоди шляхом заповнення анкети. На початку дослідження було відібрано 69 суб'єктів, але шестеро з них не завершили дослідження з різних причин, не пов'язаних з лікуванням. Усі дані щодо суб'єктів були надані відповідно до правил Національної комісії з інформації та свободи (CNIL). Суб'єкти були вільні від будь-яких відомих первинних аліментарних алергічних проблем або лікування антидепресантами, анксиолітиками, рослинними заспокійливими або снодійними засобами, що проходили або протягом 15 днів до початку дослідження. У них не було жодної хвороби в анамнезі, надмірного вживання алкоголю чи тютюну чи індексу маси тіла понад 25. Було показано описовий соціально-професійний статус суб'єктів (табл. 1).

**Table 1** Socio-professional characteristics of subjects

<i>Socio-professional status</i>	<i>n</i>	<i>Age (mean ± s.d.)</i>	<i>(min, max)</i>
Active women	22 63%	37 ± 10	(20, 59)
Inactive or jobless women	10 16%	34 ± 8	(26, 50)
Student	23 36%	21 ± 11	(18, 23)
Retired	8 13%	57 ± 4	(50, 61)
Whole sample	63 100%	33 ± 14	(18, 61)

### Перевірений продукт

as1-CH lactium, що складається з триптичного гідролізату білкової фракції, збагаченої казеїном as1, був поставлений INGREDIA (Arras, France), а плацебо, що складається лише з сухого коров'ячого знежиреного молока, було поставлено компанією DIETAROMA (Bourg, France). Обом групам вводили схожі на вигляд білі таблетки, що містили або 75 мг as1-CH, або 75 мг плацебо.

### Експериментальний графік

Дослідження базувалося на рандомізованому подвійному сліпому перехресному графіку. Кожен суб'єкт приймав дві таблетки, що містять as1-CH або плацебо (150 мг/день) щовечора протягом періодів лікування. Одна група отримувала продукт as1-CH протягом 30 днів, а потім мала 3-тижневий період виведення, після чого вони отримували плацебо протягом 30 днів. Інша група отримувала плацебо протягом 30 днів, період виведення тривав 3 тижні, а потім вони отримували as1-CH протягом 30 днів.

### Оцінка ефективності as1-CH

Анкета охоплювала три основні сфери, на які потенційно може впливати стрес: фізична та фізіологічна сфера (травний тракт, дихальна система, серцево-судинна система, опорно-руховий апарат, інші фізичні симптоми стресу); психологічна сфера (інтелектуальні функції, емоційна сфера); соціальне життя. Анкета була складена з пунктів Шкали тривоги Гамільтона (Hamilton, 1967; Maier et al., 1988) і діаграми оцінки тривожності Феррері (FARD) (Ferreri et al., 1988) частково для оцінки симптомів стресу, включаючи тривогу, депресію та внутрішньої напруги. Всього анкета включала 44 пункти симптомів стресу.

Ефективність продуктів досліджували за допомогою згаданої вище анкети, в якій тяжкість кожної ознаки оцінювалася за допомогою візуальної 10-градусної шкали (0% зовсім, 9% надмірно). Ми застосували формат, який використовувався в класичній шкалі сприйнятого стресу французькою мовою, адаптованою з Lafleur і Be´liveau (1994). Змінено методику виставлення балів з 4-бальної на 10-бальну (0–9). Усі суб'єкти повторно заповнювали анкету в день 0, наприклад, перед будь-яким прийомом продуктів, і в дні 15 і 30 кожного періоду прийому після початку цього дослідження.

### Статистика

Статистичну обробку даних проводили за допомогою статистичної програми SPSS. Ефект as1-CH досліджувався відносно симптомів кожної області шляхом виявлення максимальної варіації основного симптому, тому що людина, яка страждає від стресу, в основному сподівається на зменшення своїх найнеприємніших симптомів. Враховуючи, що розподіл поведінкових балів і відсотків, як правило, не є Гаусовим, і коли значення становлять <30 або <470%, використовувалася непараметрична статистика. Тест Вілкоксона

використовувався для аналізу різниці між групами лікування щодо основних симптомів стресу. Відмінності вважалися достовірними, коли  $P < 0,05$ .

Перш за все досліджували стабільність базової лінії. Коли відповідь була стабільною, можна було проводити прямі порівняння, використовуючи необроблені значення балів. Якщо значення балів не були стабільними від одного періоду до іншого, порівнювали варіації балів (у відсотках відносно дня 0 кожного періоду).

Подальший зв'язок між значеннями предиктора та основними симптомами стресу аналізували за допомогою аналізу дискримінантної функції. Був проведений дискримінантний аналіз, щоб показати, чи можна відрізнити лікування  $\alpha_1$ -СН від плацебо, беручи до уваги результати зміни симптомів у восьми досліджуваних сферах, таких як травна, дихальна, серцево-судинна, рухова, фізична, інтелектуальна, емоційна та соціальна сфера. Для кожного виміру використовували відсотки варіації під  $\alpha_1$ -СН і плацебо. Коли початкове значення дорівнювало 0, обчислення відсотка варіації було неможливим, і значення було приховано в цьому аналізі.

## Результати

*Стабільність вихідного рівня протягом періоду 1 і 2 між першим днем першого періоду та першим днем другого періоду лікування та незалежно від лікування, отриманого протягом періоду 1, інтенсивність 30 симптомів із 44 (=68,2% ) значно зменшилася. Це вказує на сильний вплив часу та/або участі в дослідженні на відчутні симптоми стресу.*

*Порівняння ефекту лікування  $\alpha_1$ -СН і плацебо на розвиток різних аспектів стресу між днями 0 і 15. Були показані результати статистичних порівнянь варіації величини основних симптомів стресу між 0 і 15 днями лікування в двох групах ( $\alpha_1$ -СН і плацебо) (табл. 2). Інтенсивність усіх симптомів стресу між 0 і 15 днями лікування була знижена в обох групах. Щодо всієї популяції, єдине значне покращення було виявлено для серцево-судинних симптомів. Поліпшення цього параметра було виявлено в суб'єктах, які отримували  $\alpha_1$ -СН (49,0%), порівняно з суб'єктами, які отримували плацебо (24,3%).*

Table 2 Percentage of improvement of the major symptoms evaluated on the whole samples at day 15 of the treatments

Symptom items	% Improvement		Difference	P-value
	$\alpha_1$ -CH	Placebo		
Digestion	49.9	41.4	8.5	
Respiration	50.4	31.4	19.0	
Cardiovascular	49.0	24.3	24.7	< 0.05
Locomotion	53.6	54.5	-0.9	
Physical area	44.3	38.2	6.1	
Intellectual area	41.0	49.0	-8.0	
Emotional area	31.7	30.1	1.6	
Social life	40.9	48.9	-8.0	

Abbreviation:  $\alpha_1$ -CH:  $\alpha_1$ -casein hydrolysate.

Показано результати статистичних порівнянь у суб'єктів із найвищою початковою інтенсивністю (інтенсивність >4 у день 0) для симптомів між групами  $\alpha_1$ -СН і плацебо в дні 0 і 15 лікування (таблиця 3). Інтенсивність була знижена в обох групах. Значне покращення симптомів з боку травної, серцево-судинної і фізичної систем було виявлено для продукту  $\alpha_1$ -СН зниження інтенсивності симптомів було значно більше у суб'єктів, які отримували  $\alpha_1$ -СН, ніж у суб'єктів, які отримували плацебо.

**Table 3** Percentage of improvement of the major symptoms evaluated on the subjects with highest intensities of the symptoms at day 15 of the treatments

Symptom items	% Improvement		Difference	P-value
	$\alpha_{S1}$ -CH	Placebo		
Digestion	58.0	38.6	19.4	<0.05
Respiration	53.2	51.0	2.2	
Cardiovascular	53.4	21.8	31.6	<0.001
Locomotion	61.8	59.5	2.3	
Physical area	61.5	43.5	18.0	<0.05
Intellectual area	50.8	42.8	8.0	
Emotional area	31.9	24.4	7.5	
Social life	41.2	44.6	-3.4	

Abbreviation:  $\alpha_{S1}$ -CH:  $\alpha_{S1}$ -casein hydrolysate.

Порівняння ефекту лікування  $\alpha_{S1}$ -CH і плацебо на розвиток різних аспектів стресу між днями 0 і 30. Результати статистичних порівнянь варіації величини симптомів між 0 і 30 днями лікування в двох групах ( $\alpha_{S1}$ -CH і плацебо) були показані (табл. 4). Інтенсивність вимірюваних симптомів між 0 і 30 днями лікування була знижена в групах  $\alpha_{S1}$ -CH і плацебо. Покращення було значним щодо симптомів травлення та інтелектуальних проблем у суб'єктів, які отримували  $\alpha_{S1}$ -CH, порівняно з суб'єктами, які отримували плацебо.

**Table 4** Percentage of improvement of the major symptoms evaluated on the whole samples at day 30 of the treatments

Symptom items	% Improvement		Difference	P-value
	$\alpha_{S1}$ -CH	Placebo		
Digestion	65.6	44.6	21	<0.01
Respiration	51.5	60.4	-8.9	
Cardiovascular	48.9	39.0	9.9	
Locomotion	61.1	64.7	-3.6	
Physical area	45.3	37.6	7.7	
Intellectual area	62.5	46.2	16.3	<0.05
Emotional area	39.7	34.1	5.6	
Social life	40.2	30.5	9.7	

Abbreviation:  $\alpha_{S1}$ -CH:  $\alpha_{S1}$ -casein hydrolysate.

Показано результати статистичних порівнянь інтенсивності симптомів у суб'єктів із найвищою інтенсивністю симптомів (інтенсивність >4 у день 0) у групах  $\alpha_{S1}$ -CH та плацебо на 0-й та 30-й день лікування (табл. 5).

**Table 5** Percentage of improvement of the major symptoms evaluated on the subjects with highest intensities of the symptoms at day 30 of the treatments

Symptom items	Number of subjects		% Improvement		Difference	P-value
	$\alpha_{S1}$ -CH	placebo	$\alpha_{S1}$ -CH	placebo		
Digestion	37	35	66.1	36.6	29.5	<0.01
Respiration	9	8	68.9	43.1	25.8	
Cardiovascular	34	33	48.0	35.5	12.5	<0.05
Locomotion	34	32	65.8	63.9	1.9	
Physical area	32	30	53.8	41.0	12.8	
Intellectual area	34	32	64.8	36.7	28.1	<0.01
Emotional area	38	37	43.8	23.5	20.3	<0.05
Social life	51	50	36.7	22.5	14.2	<0.05

Abbreviation:  $\alpha_{S1}$ -CH:  $\alpha_{S1}$ -casein hydrolysate.

Інтенсивність симптомів між 0 і 30 днями лікування значно зменшилася в обох групах. Що стосується суб'єктів із найвищою інтенсивністю симптомів, у групі  $\alpha_{S1}$ -CH можна було продемонструвати значні покращення після 30-денного лікування травлення (36,6% для плацебо/66,1% для  $\alpha_{S1}$ -CH), серцево-судинних симптомів (35,5% для плацебо/ 48,0% для  $\alpha_{S1}$ -CH), інтелектуальні проблеми (36,7% для плацебо/64,8% для  $\alpha_{S1}$ -CH), проблеми з емоціями

(23,5% плацебо/43,8% для as1-CH) і соціальне життя (22,5% для плацебо/36,7% для as1-CH) (рис. 1). Не було суттєвих відмінностей між суб'єктами, які отримували as1-CH, порівняно з суб'єктами, які отримували плацебо, щодо респіраторних симптомів, рухової активності чи інших фізичних симптомів.

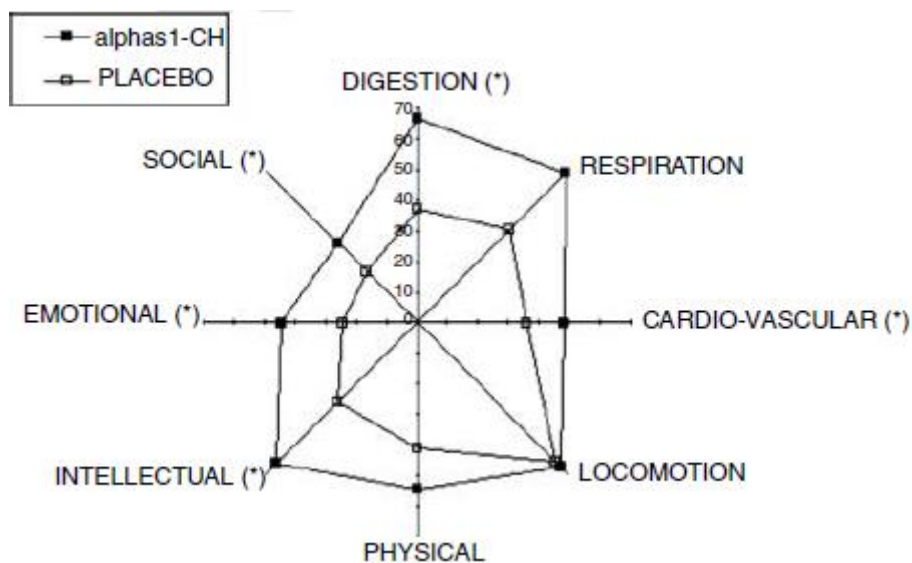


Рисунок 1. Графічне представлення відсоткового покращення основні симптоми, оцінені на предметах з найвищим інтенсивність симптомів на 30-й день лікування.

### Дискримінантний аналіз

Дискримінантну функцію можна представити як дискримінантну вісь, зібрану в s.d. одиниць. У цьому випадку було помічено розрив між двома групами на дискримінантній осі відповідно до лікування. Ординати в одиницях стандартного відхилення барицентрів груп, які отримували as1-CH і плацебо, на дискримінантній осі становили 0,481 і  $-0,435$  відповідно. Це показало, що суб'єкти, які отримували as1-CH, мали більший відсоток покращення симптомів, ніж суб'єктів плацебо. Якість класифікації можна оцінити за допомогою кінцевої класифікаційної матриці, обчисленої з дискримінантного рівняння для кожного суб'єкта, ймовірності перебування в одній чи іншій групі. Результат порівнювався з реальною групою досліджуваного. Як наслідок, дискримінантний аналіз правильно класифікував 67,8% суб'єктів. Наступний точний тест Фішера показав, що нульова гіпотеза дорівнює  $P=0,0089$ . Це показало, що лікування as1-CH і плацебо призвело до дуже значущих відмінностей, із більшим покращенням у групі лікування as1-CH порівняно з групою плацебо.

### Обговорення

Мета цього дослідження полягала в тому, щоб оцінити вплив перорального прийому as1-CH на жінок, які страждали принаймні від одного симптому, який може бути пов'язаний зі стресом відповідно до їхніх відповідей на анкету. Були використані різні інструменти для характеристики різних компонентів стресової реакції, психологічні опитувальники (опитувальник Коена; опитувальник Спілбергера; опитувальник Тайера), ендокринний аналіз (Ilardo та ін., 2001) та фізіологічні вимірювання (Бойтен та ін., 1994; Ларсон). та ін., 2001). У цьому дослідженні використано анкету, яка охоплює три основні сфери: фізичну та фізіологічну, психологічну сферу та соціальне життя, оскільки стрес пов'язаний із концепцією напруги, яка сама по собі пов'язана з м'язовою та постуральною системами, іншими фізіологічними системами, і внутрішній стан з негативно афективними інтелектуальними та стосунковими функціями.

Дане дослідження продемонструвало, що  $\alpha 1$ -СН зменшує симптоми, пов'язані зі стресом, у різних аспектах напруги. Крім того, спостерігався значний ефект лікування в групі плацебо де покращення основних симптомів відмічалось від 15% до більш ніж 40%. Цікаво відзначити, що інтенсивність деяких оцінюваних симптомів була значно знижена також у пацієнтів, які отримували плацебо. Добре відомо, що стрес, тривога, депресія мають важливий психологічний компонент, і відповідь на плацебо часто є дуже високою в клінічних дослідженнях щодо них (Berk and Dodd, 2005). Закон «HURIET-SERUSCLAT», який стосується випробувань на людях у Франції, передбачає, що суб'єкти підписують форму «інформованої згоди» перед початком експерименту. Це означає, що коли починається дослідження, вони знають, що протягом двох періодів вони будуть лікуватися речовиною ( $\alpha 1$ -СН) або плацебо, і що  $\alpha 1$ -СН, можливо, може змінити їхні симптоми стресу. Під час дослідження відповідність суб'єктів не контролювалася. Участь у цьому дослідженні могла спричинити ефект плацебо.

Ефект  $\alpha 1$ -СН спостерігався на 15-й день лікування в серцево-судинній системі та на 30-й день лікування в системі травлення та інтелектуальних симптомах. Додаток  $\alpha 1$ -СН у дозі 150 мг/день була особливо ефективною для суб'єктів, які продемонстрували найвищу початкову інтенсивність (>4) для своїх основних симптомів. Серцево-судинна система, травна система та основні фізичні симптоми покращилися при найвищій інтенсивності симптомів на 15 день лікування, а травна та серцево-судинна система, інтелектуальні, емоційні та соціальні симптоми/проблеми були покращені при найвищій інтенсивності симптому на 30 день лікування.

У сукупності  $\alpha 1$ -СН може мати регулюючий ефект у сфері пов'язаних зі стресом симптомів, а саме пов'язаної з напругою фізіологічні системи (серцево-судинна та травна системи), внутрішнього стану, який негативно взаємодіє з афективними емоційними проблемами, інтелектуальних функцій та реляційні функції (соціальна поведінка) суб'єктів.

Коров'яче молоко довгий час вважалося заспокійливим напоєм із здатністю викликати сон, але молекулярні причини такої потенційної дії невідомі. Численні біоактивні пептиди, виявлені в молочному білку, можуть вивільнятися після ферментативного перетравлення (Meisel, 1997; Clare і Swaisgood, 2000). Функціональні пептиди з молока показали багато фізіологічних ефектів, таких як біоперенесення кальцію (Lee та ін., 1979), опіатну активність (Meisel та FitzGerald, 2000), імунотропну активність (Pitt та ін., 1974; Totima та ін., 1994), антигіпертензивну активність (Maruyama et al., 1987) і антитромботичну активність (Chabance et al., 1995). Також повідомлялося, що  $\alpha 1$ -СН демонструє бензодіазепінову (BDZ)-подібну активність рецептора GABA<sub>A</sub> без побічних ефектів (Miclo та ін., 2001). Однак даних про клінічні дослідження на людях немає.

Плацебо (сухе знежирене молоко) містить казеїн і особливо  $\alpha 1$ -казеїн (цілий білок), але біологічно активний пептид, ідентифікований в  $\alpha 1$ -СН, а саме  $\alpha 1$ -казеїн (f91–100), не може значно вивільнятися (з нього), оскільки *in vivo* травлення може бути засвоєно як багатоферментний процес, включаючи спочатку гідроліз кишківника в шлунку. Пепсин розщеплює 91-92, 95-96, 98-99 і 99-100 зв'язки  $\alpha 1$ -казеїну (Mercier et al., 1970), запобігаючи вивільненню  $\alpha 1$ -казеїну (f91-100) з усього білка, що міститься в плацебо. Значний вміст біологічно активного пептиду в  $\alpha 1$ -СН і його відносно малий розмір можуть захистити його від подальшого перетравлення та можуть пояснити значні ефекти після прийому *in vivo*. У цьому дослідженні  $\alpha 1$ -СН є результатом моноферментного розщеплення очищеного  $\alpha 1$ -казеїну.

Результати дискримінантного аналізу показали, що відсоток варіацій величини симптомів у восьми областях містить достатньо інформації, щоб розрізнити дві групи відповідно до лікування. Таким чином, можна вважати, що лікування as1-CN і плацебо призводить до значних відмінностей із більшим покращенням у групі лікування as1-CN порівняно з групою плацебо.

На завершення це дослідження надало докази того, що 30-денне вживання as1-CN показало позитивний ефект у жінок із скаргами, подібними до багатьох клінічних симптомів стресу, що свідчить про те, що as1-CN можна використовувати як ефективний функціональний інгредієнт для полегшення стресу. Потрібні подальші дослідження, щоб з'ясувати, чи можна узагальнити висновки, зроблені на основі цієї популяції, на чоловіків і на неклінічні популяції з подібною симптоматикою, а також чи можна спостерігати наслідки на довгостроковій основі.

## Список літератури

- Berk M, Dodd S (2005). Antidepressants and the placebo response. *Hum Psychopharmacol* 5, 305–307.
- Boiten FA, Frijda NH, Wientjes CJE (1994). Emotions and respiratory patterns: review and critical analysis. *Int J Psychophysiol* 17, 103–128.
- Buguet A, Bourdon L, Canini F, Cespuaglio R, Padomski M (1994). Sommeil et stress: exercice physique et environnement extreme. *Revue Scientifique et Technique de la Defense* 41, 187–198.
- Cacioppo J, Malarkey W, Kiecolt-Glaser J, Uchino BN, Sgoutas-Emch SA, Sheridan JF et al. (1995). Heterogeneity in neuroendocrine and immune response to brief psychological stressors as a function of autonomic cardiac activation. *Psychosomat Med* 57, 154–164.
- Carlson NR (1994). *Physiology of Behavior*. Allyn and bacon, pp 359–361.
- Chabance B, Jolle's P, Izquierdo C, Mazoyer E, Francoal C, Drouet L et al. (1995). Characterization of an anti-thrombotic peptide from k-casein in newborn plasma after milk ingestion. *Br J Nutr* 73, 583–590.
- Clare DA, Swaisgood HE (2000). Bioactive milk peptides: a prospectus. *J Dairy Sci* 83, 1187–1195.
- de Quervain DJF, Roozendaal B, McGaugh JL (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature* 394, 787–790.
- Engler MB, Engler MM (1995). Assessment of the cardiovascular effects of stress. *J Cardiovasc Nurs* 10, 51–63.
- Ferreri M, Von Frenckell R, Mirabel V, Tawil S, Alby JM (1988). A new scale of quantitative and qualitative evaluation of anxiety: the Ferreri Anxiety Rating Diagram (FARD). *Encephale* 14 (5), 385–393.
- Hamilton M (1967). Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol* 6, 278–296.
- Hotta M, Shibasaki T, Arai K, Demura H (1999). Corticotropin-releasing factor receptor type 1 mediates emotional stress-induced inhibition of food intake and behavioral changes in rats. *Brain Res* 823, 221–225.
- Icardo C, Toniolo AM, Aimone-Gastin I, Abdelmoutaleb I, Gue'ant JL, Desor D (2001). Effects of psycho-physiological stress (competitive rafting) on saliva interleukin-1 beta. *Stress Health* 17, 9–15.
- Lafleur J, Be'liveau R (1994). *Les quatre clés de l'équilibre personnel*. les Editions Logiques Inc.: Outremont, Canada, pp 273.
- Larson MR, Ader R, Moynihan JA (2001). Heart rate, neuroendocrine, and immunological reactivity in response to an acute laboratory stressor. *Psychosomat Med* 63, 493–501.
- Lecouvey M, Frochot C, Miclo L, Orlewski P, Driou A, Linden G et al. (1997a). Two-dimensional <sup>1</sup>H-NMR and CD structural analysis in a micellar medium of a bovine as<sub>1</sub>-casein fragment having benzodiazepine-like properties. *Eur J Biochem* 248, 872–878.
- Lecouvey M, Frochot C, Miclo L, Orlewski P, Marraud M, Gaillard JL et al. (1997b). Conformational studies of a benzodiazepine likepeptide in SDS micelles by circular dichroism, <sup>1</sup>H NMR and molecular dynamics simulation. *Lett Pept Sci* 4, 357–364.
- Lee YS, Noguchi T, Naito H (1979). An enhanced intestinal absorption of calcium in the rat directly attributed to dietary casein. *Agric Biol Chem* 43, 2009–2011.
- Le'oni J, Bosc C, Maubois JL, Tome' D (2001). Prote'ins. In: Debry G, coordianteur, Tec et Doc (eds). *Lait, Nutrition et Sante'*. Deuxie'me partie: Le lait et ses constituants: biodisponibilite' et valeur nutritionnelle. pp 43–83.
- Maier W, Buller R, Philipp M, Heuser I (1988). The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *J Affect Disord* 14, 61–68.
- Maruyama S, Mitachi H, Aways J, Kurono M, Tomizuka N, Susuki H (1987). Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of the C-terminal hexapeptide of as<sub>1</sub>-casein. *Agric Biol Chem* 51, 2557–2561.
- McEwen BS (2005). Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. *Metabolism* 54 (Suppl 1), 20–23.
- Meisel H (1997). Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins. *Biopolymers* 43, 119–128.
- Meisel H, FitzGerald RJ (2000). Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences. *Br J Nutr* 84 (Suppl 1), S27–S31.
- Mercier JC, Grosclaude F, Ribadeau-Dumas B (1970). Primary structure of bovine alpha S1 casein partial sequence. *Eur J Biochem* 16 (3), 453–460.
- Messaoudi M, Lefranc-Millot C, Desor D, Demagny B, Bourdon L (2004). Effects of a tryptic hydrolysate from bovine milk alphaS1-casein on hemodynamic responses in healthy human volunteers facing successive mental and physical stress situations. *Eur J Nutr* 44, 128–132.
- Miclo L, Perrin E, Driou A, Papadopoulos V, Boujrad N, Vanderesse R et al. (2001). Characterization of alpha-casozepine, a tryptic peptide from bovine alpha(s1)-casein with benzodiazepine-like activity. *FASEB J* 15 (10), 1780–1782.
- Murison R (2000). Ulceration gastric. In: Fink G (ed). *Encyclopedia of stress*. San Diego: Academic Press. Vol. 3, pp 631–634.
- Odagiri S (1985). Recent studies on casein in bovine milk. *Food Sci* 18 (2), 40–49.
- Pacak K, Palkovits M (2001). Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Rev* 22 (4), 502–548.
- Pitt J, Barlow D, Hend WC, Snatrilli TV (1974). Macrophages and the protective action of breast milk on necrosis enterocolitis. *Pediatr Res* 8, 384.
- Sapolsky RM (1997). McEwen-induced modulation of endocrine history: a partial review. *Stress* 2 (1), 1–12.
- Totima M, Takase M, Bellamy W, Shimamura S (1994). A review: the active peptides of lactoferrin. *Acta Paedtr Japan* 36, 585–591.
- Vrijkotte TG, van Doornen LJ, de Geus EJ (2000). Effects of work tress on ambulatory blood pressure, heart rate, and heart rate variability. *Hypertension* 35, 880–886.
- Weissman MM, Klerman GL (1992). Depression: current understanding and changing trends. *Annu Rev Public Health* 13, 319–339.