

Efecto de los peptidos bioactivos sobre la salud

Trabajo de grado para optar al título de Especialistas en Alimentación y Nutrición

Andrea Marcela Carmona Salcedo

Sergio Alejandro Zapata Rincón

Asesora: Beatriz Estella López Marín

Nutricionista Dietista

Msc. en Ciencias Farmacéutica y Alimentarias

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de ingenierías

Especialización en Alimentación y Nutrición

Caldas-Antioquia

2016

Tabla de Contenido

Introducción.....	8
Péptidos bioactivos	9
Proteínas y Péptidos bioactivos	9
Métodos más representativos para obtención e identificación de péptidos.....	14
Cromatografía	16
Separación por precipitación.....	19
Ultrasonido	20
Membranas – Ultrafiltración y Nanofiltración.....	21
Proceso enzimáticos para liberación.....	23
Efectos sobre la salud de los péptidos bioactivos	27
Actividad antioxidante	29
Actividad Opiácea	32
Actividad Antimicrobiana.....	34
Actividad Inmunomoduladora.....	35
Actividad Anticancerígena.....	36
Actividad hipocolesterolémica	37
Actividad hipotensora	39
Actividad Antitrombótica.....	43
Actividad hipoglucemiante.....	44

Fuentes de péptidos bioactivos	45
Presencia comercial	60
Conclusiones.....	72
Referencias	73

Lista de tablas

Tabla 1. Posibles rutas para la absorción y transporte al torrente circulatorio de péptidos.....	13
Tabla 2. Técnicas usadas para el aislamiento e identificación de péptidos bioactivos.	16
Tabla 3. Péptidos bioactivos obtenidos por membranas de UF.....	23
Tabla 4. Estudio del efecto hipotensor de los lactotripéptidos de leches fermentadas en humanos.	62
Tabla 5. Productos lácteos comerciales e ingredientes con propiedades saludables o funcionales basados en péptidos bioactivos.	67
Tabla 6. Alimentos funcionales con péptidos biológicamente activos disponibles en el mercado.	69

Lista de ilustraciones

Ilustración 1. El enfriamiento rápido de los radicales libres por estructuras de anillo de residuos de aminoácidos.....	32
Ilustración 2. Principales sitios putativos de acción y bioactividad de la proteína de la leche ingerida por vía oral (caseína) derivan los péptidos opioides en los recién nacidos.....	33
Ilustración 3. El papel de la ACE en el control de la presión arterial.	41
Ilustración 4. Diagrama esquemático de la interacción entre ACE y sus péptidos inhibidores.....	42

Agradecimientos

A todas las personas que apoyaron nuestro proceso formativo y la realización de este trabajo, a los docentes, compañeros (amigos) y en especial a nuestra asesora Beatriz Estella López Marín y al docente Luís Fernando Garcés Giraldo.

Dedicado a mí hermano Armando.

Resumen

Las proteínas son una de las fuentes más representativas de nitrógeno para nuestro organismo, hacen parte de los macronutrientes presentes en los alimentos que ingerimos cada día y están formadas por aminoácidos que cumplen funciones muy específicas de mantenimiento y crecimiento celular. Estas grandes estructuras deben ser hidrolizadas para lograr su absorción, este proceso genera péptidos con diferentes cantidades de aminoácidos y secuencias, su tamaño varía según las condiciones del medio. Los estudios recientes han demostrado que ciertas secuencias de aminoácidos pueden tener actividad biológica sobre diferentes sistemas mostrando efectos benéficos para la salud, denominándolos péptidos bioactivos, incluso se les atribuye la reducción del riesgo de ciertas enfermedades. Este trabajo abarca una revisión de los últimos años sobre métodos de detección, extracción, efectos sobre la salud, posibles rutas de acción, productos lanzados al mercado con claims alusivos a los péptidos bioactivos.

Palabras claves: Péptidos bioactivos, ingredientes funcionales, cromatografía, proteína.

Introducción

Los cambios socioeconómicos y demográficos que se han dado en las últimas décadas a nivel mundial, han generado la necesidad de desarrollar nuevos compuestos con potencial para atender la alta demanda de patologías crónicas generando un beneficio para la salud y disminuyendo los efectos adversos que se generan por medicamentos empleados rutinariamente para tratar dichas patologías.

Hoy en día las proteínas y péptidos que han demostrado tener actividad biológica, constituyen una de las categorías más importantes dentro del sector de los alimentos funcionales, con un franco crecimiento, por el interés en aumento que muestra la sociedad por llevar un estilo de vida saludable incluyendo un balance adecuado de la dieta, conscientes de que esto ayuda a reducir el riesgo de padecer enfermedades y mantener un buen estado de salud (González, Marina y García, 2014; Segura, Guerrero y Betancur, 2013).

Péptidos bioactivos

Proteínas y Péptidos bioactivos

Los alimentos contienen diversos compuestos de naturaleza nitrogenada entre los cuales se encuentran proteínas, ácidos nucleicos, aminoácidos libres y otros compuestos minoritarios, muchos de los cuales contribuyen al sabor de los mismos. Entre todos esos compuestos, las proteínas son, con mucho, los nutrientes más importantes. La proteína supone aproximadamente el 17% de la masa corporal, desempeñan funciones estructurales (colágenos), facilitan la movilidad (actina y miosina en la contracción muscular) intervienen en el transporte de numerosas sustancias en los fluidos corporales (hemoglobina, transferrina, ceruloplasmina, etc.), y a través de las membranas (sistemas de transporte), intervienen como biocatalizadores en numerosas reacciones biológicas (enzimas), participan en la regulación del sistema inmune (inmunoglobulinas y citokinas) y actúan como reguladores en numerosos procesos de crecimiento, desarrollo y diferenciación celular (factores de crecimiento, factores de transcripción, etc.)(Gil, 2010).

Las proteínas son largas cadenas de aminoácidos que forman polipéptidos, y tienen principalmente una función estructural. Están compuestas de la siguiente manera: 50-55% de carbono, 20-23% oxígeno, 6-7% hidrógeno, azufre 0.2-0.3% y son una fuente importante de nitrógeno 12-19% que puede ser asimilado por el organismo(Walstra y Van Vliet, 2010).

Las proteínas son componentes fundamentales de los alimentos, tanto nutrimental como funcionalmente. Desde el primer punto de vista, son una fuente de

aminoácidos, los cuales son esenciales para el crecimiento y mantenimiento del cuerpo; desde el punto de vista funcional, estas afectan las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de los alimentos, así como también, muchas proteínas de la dieta pueden ejercer efectos fisiológicos benéficos en el cuerpo humano, ya que poseen propiedades biológicas que hacen a estos componentes ingredientes potenciales por su bioactividad o como alimentos promotores de la salud. De igual forma estas proteínas pueden afectar la funcionalidad tecnológica de los productos finales proyectados, por lo que es un factor esencial para aplicar o desarrollar tecnologías para conservar o regular el aumento de componentes bioactivos en sistemas alimenticios (Pihlanto-Leppälä, Rokka, y Korhonen, 1998).

En investigaciones recientes sobre alimentos funcionales se ha generado un interés en compuestos bioactivos entre estos podemos mencionar los péptidos. La actividad biológica de los péptidos se informó por primera vez por Mellander en 1950. En las últimas dos décadas ha habido un gran interés en la identificación y caracterización de estos compuestos. Las investigaciones siguen buscando nuevas fuentes, métodos de extracción y evaluaciones sobre sus beneficios para la salud.

Los péptidos bioactivos tienen potencial para ayudar a reducir la epidemia mundial de enfermedades crónicas que afectan a 58 millones de personas al año. Actualmente el mercado de proteínas y péptidos funcionales se valora en \$75 miles de millones / año. Los péptidos bioactivos de las proteínas ofrecen un gran potencial para su incorporación en alimentos funcionales y nutraceuticos. El desafío está asociado con la introducción de productos peptídicos para favorecer la degradación proteolítica,

rápida eliminación en el cuerpo, baja solubilidad en agua, inmunogenicidad y los obstáculos regulatorios (Kadam, Tiwari, Alvarez, y Donnell, 2015).

En las últimas décadas, diversas investigaciones han mostrado que los péptidos bioactivos pueden ser derivados de las proteínas de la dieta y estos pueden estar presentes como entidades independientes o codificadas en la proteína original y que durante la digestión gastrointestinal o procesamiento de los alimentos, estos péptidos son liberados de la proteína precursora (Vioque et al., 2006).

Los péptidos bioactivos son pequeñas cadenas peptídicas compuestas por 2 a 15 residuos de aminoácidos (Vioque et al., 2006). No obstante, Kitts y Weiler (2003) mencionan que los péptidos bioactivos obtenidos de los alimentos pueden presentar entre 2 y 9 residuos de aminoácidos. Aun así, puede haber excepciones ya que existen péptidos con más de 20 residuos de aminoácidos, tal como la lunasina, péptido extraído de la soya con actividad anticancerígena probada en ratas, el cuál presenta 43 residuos de aminoácidos y un peso molecular de 5400 Da (Jeong, Lam, y Lumen, 2002).

En concordancia con lo anterior, los péptidos bioactivos han sido definidos como fragmentos específicos de proteínas, de origen animal o vegetal, que tienen un impacto positivo sobre funciones o condiciones corporales y pueden tener influencia sobre la salud humana, más allá de una nutrición normal y adecuada. Es por ello, que dependiendo de la secuencia de aminoácidos en el péptido, su administración oral podría afectar alguno de los principales sistemas del organismo, entre ellos, el sistema cardiovascular, nervioso, gastrointestinal e inmunológico (Borja, 2014; Mulero, Zafrilla, Martínez, Leal, y Alemán, 2011). Por lo tanto, la actividad biológica está relacionada

con la composición y secuencia de los aminoácidos que los conforman (Alvarado y Guerra, 2010).

La mayoría de los péptidos bioactivos descritos recientemente tienen propiedades estructurales en común, tales como, cadena corta de aminoácidos (de 2 a 9 aminoácidos), residuos aminoácidos hidrofóbicos en adición a grupos prolina, lisina o arginina y resistencia a la acción de peptidasas digestivas (Nongonierma y Fitzgerald, 2015). Esto último permite su absorción y paso al torrente sanguíneo, sin alteración (Alvarado y Guerra, 2010).

Por otra parte, dentro de los hidrolizados extensivos, existe una aplicación que por su interés, novedad y potencialidad requiere una mención especial, ya que a través de una hidrólisis dirigida y de procesos de purificación, es posible obtener péptidos bioactivos, los cuales son cadenas de aminoácidos inactivos dentro de la proteína intacta pero que al ser liberados por hidrólisis, ya sea por la digestión en el organismo o por un procesado previo, pueden ser absorbidos por los enterocitos y llegar al torrente sanguíneo, desempeñando una actividad biológica y teniendo así un efecto fisiológico o funcional más allá de proveer aminoácidos esenciales y aportar al metabolismo energía, con la posibilidad de exhibir múltiples efectos (Hartmann y Meisel, 2007; Hong et al., 2008; Kitts y Weiler, 2003; Korhonen y Pihlanto, 2003; León, Jiménez, y Davila, 2011).

Los péptidos bioactivos han sido definidos como fragmentos de proteínas específicas que tienen un impacto positivo en las funciones o las condiciones del cuerpo y en última instancia posiblemente pueden influir en la salud (Hannu Korhonen, 2009).

En las últimas décadas, diversas investigaciones han mostrado que los péptidos bioactivos pueden ser derivados de las proteínas de la dieta y estos pueden estar presentes como entidades independientes o codificadas en la proteína original y que durante la digestión gastrointestinal o procesamiento de los alimentos, estos péptidos son liberados de la proteína precursora (Vioque et al., 2006).

Los mecanismos a través de los cuales se produce la absorción y transporte al torrente circulatorio de péptidos, se describen en la Tabla 1. Estos péptidos contenidos en hidrolizados, presentan una solubilidad en agua cercana al 100% en un intervalo amplio de pH y tienen la característica de ser hipoalergénicos. Además, su absorción intestinal es mejor que en las proteínas intactas.

Tabla 1. Posibles rutas para la absorción y transporte al torrente circulatorio de péptidos.

Ruta de transporte	Comentarios	Candidatos
Ruta paracelular	Difusión a través de las uniones entre células por un proceso de difusión pasiva independiente de energía	Péptidos grandes solubles en agua
Difusión pasiva	Difusión a través de un proceso de difusión transcelular independiente de energía	Péptidos hidrofóbicos
Vía transportador	Salida de algunos péptidos del enterocito hacia la circulación porta a través de un transportador localizado en la membrana baso	Péptidos pequeños resistentes a hidrólisis

	lateral intestinal		
Endocitosis	Unión de las moléculas a la célula para absorción al interior de la célula vía vesiculización.	Peptidos polares grandes	
Sistema linfático	Absorción de peptidos del espacio intersticial hacia el espacio linfático intestinal	Peptidos lipofílicos grandes absorbidos.	altamente demasiado para ser

Fuente: Sarmadi y Ismail (2010)

Métodos más representativos para obtención e identificación de péptidos

Cada día hay más interés por desarrollar tecnologías rentables para el aislamiento de fracciones de proteína (y péptidos) de las diferentes fuentes proteicas disponibles en los mercados alimentarios.

El diseño de una metodología eficaz de fraccionamiento de péptidos es de vital importancia para la separación de péptidos y aún más, cuando el proceso debe aplicarse a escala industrial. Las tecnologías de separación que discriminan diferencias en la carga, tamaño e hidrofobicidad, se pueden emplear para fraccionar los hidrolizados de proteínas y obtener fracciones de péptidos con una mayor funcionalidad o mayor valor nutritivo en una forma más purificada (León et al., 2011; Muro, Riera, y Fernández, 2013).

Los procesos de producción a escala piloto de péptidos bioactivos utilizan típicamente membranas de ultrafiltración y cromatografía de líquidos procesando secuencialmente el fraccionamiento y aislamiento de componentes bioactivos a partir

de hidrolizados. El diseño de procesos para la separación de péptidos se basa en propiedades moleculares tales como el tamaño, carga, polaridad e hidrofobicidad que dan información cuantitativa acerca de la relación estructura/actividad. Se han establecido nuevas estrategias que incluyan el acoplamiento o integración de procesos complementarios que sean necesarios para establecer procedimientos eficientes y económicos a nivel industrial, no solo para el fraccionamiento si no para la producción simultánea y continua de péptidos con diferentes propiedades bioactivas (Li-Chan, 2015).

Cromatografía

La cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) es ampliamente utilizada para la separación, identificación y purificación de péptidos bioactivos. Las columnas de fase inversa que se utilizan, permiten una rápida separación y detección de fracciones de péptidos; la cromatografía de fase normal se utiliza preferentemente para la separación de péptidos hidrofílicos; la cromatografía de intercambio iónico permite separar péptidos con base en su carga; mientras que la cromatografía de filtración en gel (en sistemas acuosos), y la cromatografía de permeación en gel (en sistemas no acuosos) permiten la separación con base en el peso molecular (Wang, Mejia, y Gonzalez, 2005). Además de esto, existen otras técnicas como la ultrafiltración, cristalización, cromatografía de partición y la cromatografía de interacción hidrofóbica a baja presión han sido empleadas para el fraccionamiento y purificación de proteínas (Seward y Jakubke, 2002). Recientemente la ionización por electrospray y espectrometría de masas, están siendo consideradas como una herramienta importante para la identificación y caracterización de proteínas, en la tabla 2 se mencionan algunas de las técnicas (Singh, Vij, y Hati, 2014).

Tabla 2. Técnicas usadas para el aislamiento e identificación de péptidos bioactivos.

Técnicas	Aplicación	Péptidos bioactivos Identificados	Referencia
Cromatografía de exclusión molecular	Usada para fraccionamiento de proteínas	Péptidos antioxidantes de hidrolizados de Sardinelli	Bougatef, Nedjar-Arroume, Manni, Manni, Ravallec, Barkia, Guillochon, et al., 2010

Cromatografía de líquidos de alta resolución fase reversa	Separación de péptidos a partir de hidrolizados de proteínas	Péptidos inhibidores de la ECA, antioxidantes y antimicrobianos de queso cheddar	Kim, Bae, Ahn, Lee y Lee, 2007; Pritchard, Phillips y Kailasapathy, 2010; Rho, Lee; Chung; Kim y Lee, 2009
Cromatografía líquida-Espectrometría de masas	Separación física de los péptidos y análisis de masas	<ul style="list-style-type: none"> • Péptido hipocolesterolémico de la soya (Trp-Gly-Ala-Pro-Ser-Leu) • Identificación de cinco tripéptidos inhibidores de ECA (Phe-Ile-Val), (Leu-Leu-Pro), (Leu-Asp-Phe) • Péptidos inhibidores de la sintasa de ácidos grasos de β conglucina de la soya 	Gu y Wu, 2013; Martinez-Villaluenga, Rupasingle, Schuler y Gonzalez de Mejia, 2010; Zhong, Zhang, Ma y Shoemaker, 2007
Ionización por electrospray-espectroscopia de masas	Determinación de pesos moleculares y secuencia de aminoácidos de los péptidos	<ul style="list-style-type: none"> • Péptidos antioxidantes Leu-His-Tyr-Leu-Ala-Arg-Leu, Gly-Gly-Glu, Gly-Ala- 	Bougatef et al., 2010; Chen, Yang, Sun, Niu y Liu, 2012.

purificados	His, Gly-Ala- Trp-Ala, Pro- Tyr-Leu, Gly- Ala-Leu-Ala-Ala- His) de Sardinelle
	<ul style="list-style-type: none"> • Péptidos antioxidantes de nuez

Fuente: Singh et al., 2014.

La identificación de péptidos con actividad biológica en alimentos, presenta una serie de dificultades que limitan el conocimiento acerca de su liberación a partir de las proteínas de origen; estas dificultades se deben a la complejidad de la matriz precursora y a las bajas concentraciones que se encuentran los analitos, por eso es necesario llevar a cabo etapas de purificación y concentración (Singh et al., 2014).

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es la técnica más utilizada para la separación, identificación y purificación de péptidos bioactivos. De sodio dodecil sulfato (SDS) y ultracentrifugación -electrophoresis son métodos alternativos utilizados para la caracterización estructural y la composición de aminoácidos de péptidos (Singh et al., 2014; Rodríguez G., Rentería, Rodríguez J. y Chavez, 2014).

La cromatografía líquida seguido de tándem de detección de espectrometría de masas (LC-MS / MS) se utiliza comúnmente para identificación de di, tri y tetra péptidos (Rodríguez et al., 2014); El láser de absorción / ionización de tiempo de vuelo (MALDI-TOF), el análisis de espectrometría de masas asistida por matriz son útiles para generar perfiles peptídicos de hidrolizados de proteínas; la espectrometría de masas ha

permitido la determinación precisa de las secuencias de masa y de proteínas moleculares así como la identificación de productos de degradación de la proteína y el estudio de conformaciones de proteína; la ultrafiltración de membrana y cromatografía de exclusión por tamaño se pueden utilizar para concentrar péptidos de intervalos de peso molecular especificados. Además de esto, la fase inversa HPLC se puede usar para fraccionar los péptidos con base a sus propiedades hidrófobas, especialmente en el estudio de las propiedades funcionales estructurales de péptidos (Singh et al., 2014).

Separación por precipitación

La separación de la proteína por precipitación implica el ajuste de las propiedades físicas de la solución para disminuir la solubilidad de la proteína. Las proteínas tienen generalmente baja solubilidad a un pH próximo al punto isoeléctrico y en soluciones de fuerza iónica baja. Por lo tanto, mediante la aplicación de las condiciones anteriores (es decir, el ajuste de pH cerca del punto isoeléctrico), las proteínas comenzarán a agregar. Los tratamientos térmicos, cuando se aplican, modifican la estructura de la proteína y la solubilidad. Por ejemplo; hay precipitado cuando el suero se calienta por encima de 90 °C durante 10 min en condiciones ácidas (pH 3.5 a 5.5) de la proteína. Con respecto a lo anterior, existen estudios fundamentales sobre la agregación de la proteína de suero, que se ve afectada por el pH, la temperatura y la concentración de proteína a pH isoeléctrico (Antoine y De Souza, 2007 de la Fuente, Singh y Hemar, 2002). Las proteínas desnaturalizadas por el calor, interactúan a través de la formación de enlaces disulfuro entre las moléculas de proteína que forman agregados. De igual modo, las moléculas de agregados se unirán y la resultante final serán precipitados sedimentables. Por ejemplo, un estudio realizado

por Pearce (1983), donde se utilizó un precipitado de α -AL (albumina) de suero líquido, dio como resultado un ajuste de pH a 4,2 y un tratamiento térmico a 65 °C. El sobrenadante se agota en α -AL y enriquecido con las proteínas restantes como β -LG (lactoglobulina), arroja que α -LA tiene más de una tendencia a agregarse a un pH entre pH 4,2 y 4,6 y a una temperatura entre 50 y 65 °. La tendencia a la agregación aumenta con un incremento del contenido de proteínas. Por otra parte, en este entorno, β -LG permanece completamente soluble (más de la agregación selectiva de α -LA. La precipitación o fraccionamiento también se llevaron a cabo mediante el uso de un agente floculante tal como bentonita, carboximetil celulosa y quitosano. El fraccionamiento con polímeros (por ejemplo, polisacáridos), con base a las interacciones electrostáticas (la de dos semanas u opuestos fuertes polielectrolitos) entre las proteínas y polímeros (Yadav et al., 2014). Por otra parte; Casal, Montilla, Moreno, Olano y Corzo (2006), reporta que era más eficaz para la precipitación de β -LG de suero de leche a un pH de 6,2 y alrededor de 80 % de las otras fracciones de proteína de suero que quedaba en la solución en concordancia con lo reportado por Shankar et al. (2015).

Ultrasonido

Las técnicas de extracción tales como los ultrasonidos enfocados de alta intensidad (HIFU) han permitido la aceleración de los procesos de extracción. Una sonda de ultrasonido proporciona la energía mecánica en forma de energía acústica cuando se introduce en un fluido. Esta energía mecánica permite la aceleración de las reacciones y procesos basados en un fenómeno conocido como cavitación (González et al., 2014).

Membranas – Ultrafiltración y Nanofiltración

Los procesos de membrana son vistos como herramientas eficientes para el desarrollo de productos con valor añadido como los péptidos bioactivos (Yves Pouliot, 2008). Estos procesos de separación se basan en la permeabilidad selectiva de uno o más líquidos a través de una membrana de acuerdo con la diferencia de presión. Las técnicas de membrana impulsadas por presión, la ultrafiltración y nanofiltración se han aprobado para el fraccionamiento de hidrolizados de proteínas debido al hecho de que el peso molecular de la mayoría de los péptidos bioactivos se encuentra dentro del rango normal del tamaño de poro de estas membranas.

La ultrafiltración (UF) es una técnica que ha sido empleada con éxito para la obtención de fracciones ricas en péptidos con actividad antihipertensiva procedentes de proteínas lácteas (Gómez, Taborda, Amigo, Recio y Ramos, 2006; Hernández-Ledesma, Amigo, Ramos, y Recio, 2004; León et al., 2011).

Un sistema de membrana de ultrafiltración se puede utilizar para separar los péptidos que tienen el peso molecular y las propiedades funcionales deseadas. Las membranas de ultrafiltración se utilizan para la bioactividad seleccionada de hidrolizado de proteína de soja y los aumentos que se encuentran en la actividad biológica de los péptidos recuperados (Singh et al., 2014).

La ultrafiltración se aplica comúnmente para preparar soluciones enriquecidas de péptidos a partir de hidrolizados de proteínas para mejorar la bioactividad de los péptidos; se utiliza para separar péptidos con un tamaño inferior a 7 kDa (Mehra y Kelly, 2004). Sin embargo, la combinación de procesos de UF (ultrafiltración) y

nanofiltración permite obtener polipéptidos <1 kDa, ya que primero se somete el hidrolizado a UF con el fin de obtener el rechazo completo de las proteínas intactas y péptidos intermedios. Las fracciones resultantes se someten a un fraccionamiento por nanofiltración obteniendo péptidos <1 kDa, ajustando a diferentes pH's de la membrana y obtener una mejor separación (Butylina, Luque y Nyström, 2006; Sabeena, Baron, Nielsen, Otte y Jacobsen, 2010; León et al., 2011).

En investigaciones recientes, también se ha aplicado el uso de UF y HPLC en hidrolizados de leche para mejorar la separación de péptidos; demostrando que la UF es suficiente para concentrar péptidos y posteriormente el permeado y retenido se trataron por exclusión molecular- HPLC para obtener péptidos pequeños con actividad biológica (Kapel, Klingenberg, Framboisier, Dhulster y Marc, 2011).

Actualmente una de las nuevas tecnologías empleada a nivel industrial para producir y separar péptidos es el reactor de membrana enzimática (RME), la cual consiste en la separación de secuencias de péptidos específicos por medio de una membrana selectiva, que se utiliza para separar el biocatalizador de los productos de reacción y el fraccionamiento de péptidos (Pouliot, Gauthier, Groleau, Mine, y Shahidi, 2006). Esta tecnología de separación de péptidos está ganando interés, porque es un modo específico para la ejecución de procesos en lote o continuos, en los que las enzimas son separadas de los productos finales con la ayuda de una membrana selectiva, de esta manera, es posible obtener la retención completa de la enzima sin problemas típicos de desactivación de la enzima. Hoy en día, esta técnica, opera bajo un campo eléctrico para la recolección continua de algunos péptidos biológicamente activos (León et al., 2011; Righetti, Nembri, Bossi, y Mortarino, 1997).

Tabla 3. Péptidos bioactivos obtenidos por membranas de UF.

Fuente dehidrolizado proteico	Actividad biológica	Referencia
Proteína de pescado	Inhibidor de ECA	Fujita,Yamagamy,Ohshima, 2001
Proteína de alfalfa	Antioxidante	Xie,Huang,Xu, Jin,2008
Gluten de trigo	Inhibidor de ECA	Kong,Zhouy Hua ,2008
Proteína de soya	Inhibidor de ECA	Wu y Ding, 2002
Papa	Antimicrobiano	Kim, Park,Kim,Lim,Park y Hahm, 2005
Papa	Antimicrobiano	Kim,Park,Kim,Lee,Lim, Cheong et al., 2006

Fuente: Muro, Riera, y Fernández 2013.

En los últimos años, el uso de RME se ha convertido en un área de investigación interesante debido a su bajo costo de producción y la seguridad del producto (Sharma y Sharma, 2009). La Tabla 3 resume algunos ejemplos de procesos para la separación o concentración de péptidos bioactivos por medio de membranas de UF y RME, no obstante, el uso de la UF limita la selectividad de fraccionar péptidos pequeños, por lo que el uso de RME equipado con membranas de UF logra el fraccionamiento del péptido, pero para obtenerlo de una forma más purificada deben utilizarse membranas de nanofiltración como un paso adicional (León et al., 2011).

Proceso enzimáticos para liberación

Los péptidos bioactivos pueden ser generados de la proteína precursora de múltiples maneras, que incluyen:

(a) Digestión gastrointestinal *in vivo*,

(b) Hidrólisis *in vitro* por acción de enzimas digestivas, proteolíticas u otras enzimas derivadas de microorganismos o plantas y

(c) Fermentación microbiana.

No obstante, la hidrólisis enzimática es el método más efectivo, común y confiable para obtener péptidos bioactivos.

En la hidrólisis enzimática un conjunto de etapas transcurre en serie, dando péptidos de tamaño decreciente: *Proteínas* → *proteosas* → *peptonas* → *péptidos* → *aminoácidos*. Se trata de un conjunto de reacciones simultáneas de ruptura de enlaces, con distintas especies cargadas en equilibrio (Borja, 2014).

En consecuencia, la hidrólisis enzimática ofrece indudables ventajas, como la no existencia de procesos de degradación del sustrato ya que las enzimas son selectivas para un tipo de enlace, los valores de pH y temperatura son moderados (pH están comprendidos entre 5 a 10 y las temperatura entre 40 a 60 °C), se mantiene o mejora el valor nutritivo de la proteína. Por otro lado, la ventaja adicional de la hidrólisis enzimática es la disminución de alérgenos (Borja, 2014).

La especificidad de la enzima afecta el tamaño, la cantidad, y composición de péptidos y aminoácidos libres, así como su secuencia de aminoácidos. El uso de diferentes enzimas resulta en la formación de una mezcla de péptidos con diferentes grados de hidrolisis y en consecuencia diferentes rangos de actividad biológica (Borja, 2014).

Al ingerirse las proteínas, son desnaturalizadas por los ácidos gástricos y la pepsina que se encuentra presente en el estómago; posteriormente, los fragmentos son

hidrolizados por proteasas a péptidos, los cuales van a las células de la mucosa para ser hidrolizados por peptidasas. Es así que una parte de éstos son aprovechados por enterocitos y otra fracción pasa al hígado para emplearse en las funciones hepáticas, los productos restantes se incorporan a la circulación para ser utilizados por otros órganos en general (Rodríguez et al., 2014; Saavedra, Hebert, Minahk, y Ferranti, 2013).

Además de esto, se ha observado que los biopéptidos presentan efectos benéficos, sin embargo, éstos pueden inhibirse o disminuirse antes de llegar a su órgano blanco, debido a las diferentes condiciones a las que se enfrentan en el organismo. Por ejemplo, los péptidos pequeños como los dipéptidos y tripéptidos han presentado actividad in vivo, resistiendo la peptidólisis, logrando así ser absorbidos intactos para posteriormente pasar a la circulación (Rodríguez et al., 2014).

Por otro lado, la producción in vitro de péptidos bioactivos incluye la hidrólisis enzimática de la proteína de la comida por las enzimas endógenas presentes en la matriz alimentaria, así como proteólisis que ocurre durante el procesamiento de alimentos o maduración por la acción de los cultivos iniciadores o por las enzimas aisladas a partir de microorganismos proteolíticos (por ejemplo, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *L. delbrueckii subsp.*). La fermentación *Lactis* microbiana es uno de los principales procesos para generar péptidos bioactivos, principalmente en la industria láctea, donde las células de lactobacilos liberan proteinasas durante la fermentación de la leche (Saavedra et al., 2013; Dominguez et al., 2014).

Básicamente, los péptidos bioactivos, pueden ser generados a partir de proteínas precursoras de múltiples maneras, incluyendo: la hidrólisis enzimática (ya sea por las enzimas digestivas o enzimas derivadas de microorganismos y plantas) y la fermentación microbiana. Es así como en los países del sudeste de Asia, como China, Japón y Corea, la fermentación se utiliza ampliamente como la forma más antigua para conservar los alimentos. Se cree que la fermentación puede aumentar el valor nutracéutico de los alimentos, además de la capacidad de almacenamiento de largo tiempo que posiblemente es debido a la fragmentación de las proteínas de péptido bioactivo por proteasas microbianas.

La hidrólisis con enzimas se ha utilizado ampliamente en la producción de péptidos a partir de proteínas alimentarias. Las enzimas comerciales alcalasa®, flavourzima® y protamex® derivadas de microorganismos, así como la papaína y pepsina-tripsina, se han empleado también en la producción de péptidos (Borja, 2014).

Aunado a lo anterior, debe considerarse los tratamientos térmicos a los que son sometidos los productos durante su procesamiento. Dichos tratamientos pueden ocasionar la desnaturalización e hidrólisis de las proteínas y por lo tanto la formación de péptidos diferentes, que pueden poseer o no bioactividad. Por otra parte, considerando la carga neta, el peso molecular, la lipolicidad y la solubilidad de los péptidos, éstos pueden ser químicamente modificados para aumentar su estabilidad por medio de diferentes técnicas, como lo son: la lipidización (aumento de la absorción intestinal), la glicosilación (aumento de la permeabilidad y estabilidad en el suero sanguíneo) y la microencapsulación (incremento de la farmacocinética y la permeabilidad) (Rodríguez et al., 2014).

El procedimiento para obtener, aislar e identificar péptidos con actividad biológica, incluyendo la antihipertensiva, en general, es muy similar entre los distintos trabajos revisados: en primer lugar se trabaja con una solución de 1% a 2% de proteínas del suero, a la cual se le adiciona una enzima específica y se incuba por un tiempo determinado para obtener el grado de hidrólisis deseado. Posterior a esto, se fracciona el hidrolizado por cromatografía de exclusión (SEC) y/o por cromatografía líquida semi-preparativa en fase inversa (RP-HPLC), seleccionándose la fracción con mayor actividad *in vitro*, es este caso actividad inhibidora ACE, y finalmente se identifica la secuencia de los péptidos responsables de dicha actividad aplicando espectrometría de masas (LC-MS/MS) y/o secuenciación N-terminal. Ahora bien, los hidrolizados son mezclas complejas y pueden contener hasta cientos de diferentes moléculas, por lo cual, localizar péptidos bioactivos en este tipo de muestras ha sido comúnmente una tarea difícil y requiere mucho tiempo y dedicación. Las fracciones usualmente contienen aún múltiples compuestos que requieren ciclos adicionales de fraccionamiento, concentración y evaluación de bioactividad para lograr identificar la molécula responsable de dicha actividad (Carrasco y Guerra, 2010).

Efectos sobre la salud de los péptidos bioactivos

Aunque existen diversos fármacos para curar o ralentizar el progreso de enfermedades específicas en los seres humanos, sus efectos secundarios pueden ser mayores que los beneficios. En este contexto, los péptidos derivados de la proteína tienen potencial como alternativas naturales a los medicamentos para la gestión de la enfermedad (Nongonierma y Fitzgerald, 2015).

La literatura científica evidencia que estos péptidos pueden atravesar el epitelio intestinal y llegar a tejidos periféricos vía circulación sistémica, pudiendo ejercer funciones específicas a nivel local, en el tracto gastrointestinal y a nivel sistémico (Mulero et al., 2011; Rodríguez et al. 2014). Los péptidos y proteínas pueden escapar a la digestión y ser absorbido en una forma intacta a través del espacio intersticial en el sistema linfático intestinal. Sin embargo, la capacidad de los compuestos para entrar en el sistema linfático intestinal se ve afectado por su permeabilidad a través de los capilares de la circulación portal y la solubilidad de los lípidos. Se ha propuesto que los fármacos transportados a través del sistema linfático gastrointestinal pueden escapar del metabolismo hepático. Es así como el tamaño y propiedades estructurales moleculares, tales como la hidrofobicidad, afectan a la ruta de transporte importante para los péptidos (Sarmadi y Ismail, 2010).

Como se mencionó la actividad biológica dependerá de la secuencia de aminoácidos que conformen los péptidos al terminar la hidrolisis, estos tendrán la capacidad de regular diversos procesos fisiológicos, alterando el metabolismo celular y actuando como hormonas o neurotransmisores a través de interacciones hormona-receptor y cascadas de señalización: también pueden ejercer su acción sobre la regulación del metabolismo controlando las glándulas de excreción, ajustando la presión arterial, ejerciendo efectos sobre el sueño, memoria, dolor, apetito y los efectos sobre el sistema nervioso central (Mulero et al., 2011; Rodríguez et al., 2014)

Basados en las propiedades estructurales y en la composición y secuencia de sus aminoácidos, los biopéptidos pueden desempeñar diversas funciones, tales como antihipertensivos, antioxidantes, hipocolesterolémicos, opiáceos, antimicrobianos,

antitrombóticos, inmunomoduladores, anticancerígenos, saciantes, vinculante mineral, de unión a la calmodulina, etc. (Nongonierma y Fitzgerald, 2015). Permitiendo ofertar variedad de alimentos con targets o nichos específicos. La capacidad antioxidante y antihipertensiva son las más comunes (Dominguez et al., 2014; González et al. 2014).

No obstante, su biodisponibilidad no está tan clara, ya que han de ser liberados de las proteínas en las que se encuentran tras sufrir la acción de las proteasas gástricas e intestinales y han de poder atravesar el epitelio intestinal y llegar a los tejidos periféricos a través de la circulación sanguínea para poder ejercer su acción (Mulero et al. 2011).

Actividad antioxidante

Este grupo de compuestos no sólo son importantes en la prevención de la oxidación en los alimentos, sino también a nivel fisiológico. Estos péptidos actúan impidiendo que otras moléculas se unan al oxígeno, al interactuar más rápido con los radicales libres que con el resto de las moléculas presentes en un determinado microambiente de membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. (Mulero et al., 2011)

El mecanismo exacto de la actividad antioxidante de los péptidos no se ha entendido totalmente. Diversos estudios han mostrado que los péptidos antioxidantes son inhibidores de la peroxidación de lípidos, captadores de radicales libres y quelantes de iones metálicos de transición. Además, se ha reportado que éstos péptidos mantienen las células a salvo de daños por especies reactivas de oxígeno a través de la inducción de genes (Borja, 2014).

En condiciones normales, los sistemas de defensa antioxidantes pueden eliminar las especies reactivas a través enzimático (como la superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa) y los antioxidantes no enzimáticos (tales como vitaminas antioxidantes, elementos, coenzimas y cofactores TRACE). Sin embargo, en ciertas circunstancias, el sistema de defensa endógena no puede proteger el cuerpo contra los radicales reactivos en su propio. Esto da como resultado el estrés oxidativo, una condición en la que la generación de moléculas altamente reactivas tales como las especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) supera su eliminación y / o cuando su eliminación es inadecuada. En los seres humanos, el estrés oxidativo juega generalmente el papel de promover en lugar de un iniciador de enfermedades crónicas (Sarmadi y Ismail, 2010).

Propiedades antioxidantes de los péptidos están más relacionadas con su composición, la estructura y la hidrofobicidad. Tyr, Trp, Met, Lys, Cys, y sus ejemplos son de aminoácidos que causan actividad antioxidante (Alvarado y Guerra, 2010). Los aminoácidos con residuos aromáticos pueden donar protones de electrones radicales deficientes. Esta propiedad mejora las propiedades de barrido de radicales de los residuos de aminoácidos. Se propone que la actividad antioxidante de sus péptidos que contienen está en relación con el atrapamiento peroxilo lípidos donadora de hidrógeno radical y / o la capacidad quelante del grupo imidazol. Por otro lado, el grupo SH en cisteína tiene una acción antioxidante independientemente fundamental debido a su interacción directa con los radicales. Además de la presencia adecuada de aminoácidos, su posicionamiento correcto en la secuencia del péptido desempeña un papel importante en la actividad antioxidante. Es así como investigadores diseñaron 28

péptidos sintéticos siguiendo la estructura de un péptido antioxidante (Leu-Leu-Pro-His-His) de la digestión de una proteína de soja, con la glicina.

Dicha investigación, reveló que la actividad antioxidante de los ppéptidos era más dependiente del segmento His-His en el dominio Leu-LeuPro-His-His por lo cual su actividad se redujo mediante la eliminación de un residuo de His del extremo C-terminal (Sarmadi y Ismail, 2010; Suarez, Burgos, y Ezquerra, 2012).

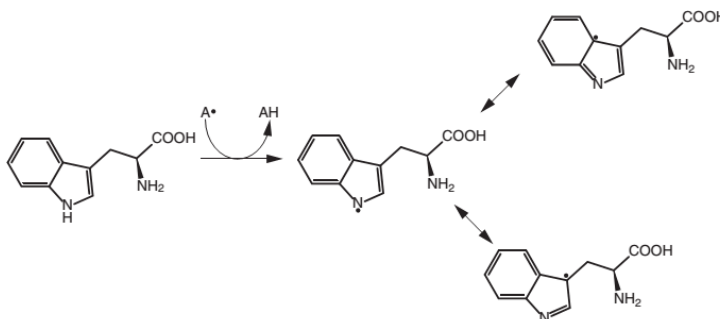


Ilustración 1. El enfriamiento rápido de los radicales libres por estructuras de anillo de residuos de aminoácidos.

Los residuos de aminoácidos tales como Trp y Tyr sirven como donantes de hidrógeno, y estabilizan los radicales a través de la resonancia y la deslocalización. (Sarmadi y Ismail, 2010; Suarez, Burgos, y Ezquerro, 2012).

Actividad Opiácea

Los péptidos con actividad opiácea, también llamados exorfinas, se definen como péptidos que presentan afinidad por receptores opiáceos y actúan, mediante la unión a receptores, como moduladores exógenos de la motilidad intestinal, de la permeabilidad epitelial y de la liberación de hormonas. Estos péptidos han sido aislados de cereales, leches y tejidos animales (Mulero et al., 2011).

Esta revisión detalla con precisión diversos aspectos de la farmacología y actividades celulares de estos opioides y sus implicaciones en la modulación de distintos circuitos o vías neurales y funcionamiento del SNC de los mamíferos. Asimismo, los estudios relacionados con la función estructura-actividad de estos péptidos han mostrado que, al igual que la mayoría de los péptidos bioactivos endógenos de naturaleza opioide y no opioide, son vulnerables a la escisión peptídica por cortes enzimáticos mediante la exposición a distintas enzimas proteolíticas que

podiesen participar en la degradación endógena de las endomorfina, y la obtención de diversos productos de degradación. Paralelamente, este artículo menciona la amplia distribución neuro anatómica que poseen las endomorfina en distintas regiones del cerebro, particularmente en aquellas que regulan el procesamiento y la transmisión de la información nociceptiva y que, por tanto, reflejan el papel potencial de estos péptidos en procesos fisiológicos de analgesia, entre muchos otros (memoria y otro aprendizaje). En este contexto, diferentes estudios basados en el empleo de ensayos inmunológicos entre los que se encuentran radioinmunoensayos y técnicas de inmuno histoquímica, que por su parte requieren el uso de anticuerpos específicos generados contra las secuencias consenso de las endomorfina mostraron una amplia distribución de material inmuno reactivo a endomorfina en tejidos neural en humanos, bovinos y roedores(Gelman et al., 2010).

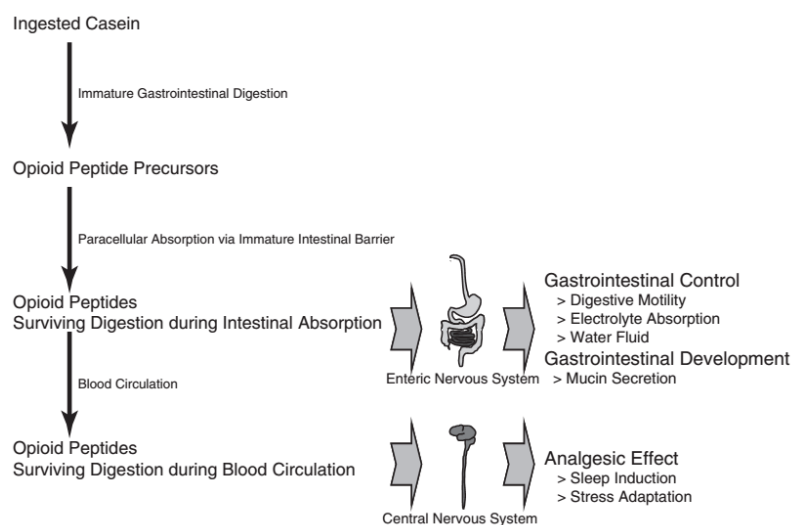


Ilustración 2. Principales sitios putativos de acción y bioactividad de la proteína de la leche ingerida por vía oral (caseína) derivan los péptidos opioides en los recién nacidos.

Posiblemente debido a la digestión incompleta y una barrera gastrointestinal más permeable en los animales recién nacidos, los precursores de péptidos opioides se forman después de la ingestión de proteínas de leche y absorbidos. Los precursores en parte se resisten a la digestión en la pared intestinal y la circulación sanguínea, y ciertas cantidades de los péptidos opioides resultante pueden ser entregados al nervio entérico y el sistema nervioso central, ejerciendo su bioactividad. (Gelman et al., 2010).

En este contexto, diferentes estudios basados en el empleo de ensayos inmunológicos (radioinmunoensayos [RIA] y técnicas de inmunohistoquímica [IHC]) que requieren el uso de anticuerpos específicos generados contra las secuencias consenso de las endomorfina mostraron una amplia distribución de material inmunoreactivo a endomorfina (vg., EM1-LI, EM2-LI) en tejidos neurales de humano, bovino y roedores. Por ejemplo, la EM1-LI mostró una distribución relativamente abundante en una gran mayoría de las regiones del SNC de mamíferos estudiados, particularmente en la región rostral y superior del tallo cerebral, así como en el núcleo accumbens (NAc), la corteza prefrontal y frontal (PFCx), la amígdala (AMG), el tálamo (TH), el hipotálamo (HPT), el estriado (CPu) y fibras nerviosas de la raíz del ganglio dorsal (DRG). En contraste, la expresión de EMZ mostró ser muy abundante en la región de la médula espinal y en la región caudal del tallo cerebral (Gelman et al., 2010).

Actividad Antimicrobiana

El modo de acción y efectividad de estos péptidos biológicamente activos como agentes antimicrobianos, varían de acuerdo a sus características estructurales, tamaño,

composición de aminoácidos, carga, hidrofobicidad y estructura secundaria (Borja, 2014).

Estos péptidos están constituidos por cadenas cortas de aminoácidos con características hidrofóbicas y carga positiva, lo que les permite alterar la bicapa lipídica de los microorganismos, causando una modificación similar a la producida por las proteínas de canal, lo cual conlleva a la muerte de la célula debido a la pérdida de iones y sustancias metabólicas. La lactoferrina presente en el lactosuero siempre se ha reconocido como la proteína antimicrobiana de la leche; estudios recientes han reportado la generación de un potente péptido bactericida generado por degradación de la lactoferrina con pepsina, denominado lactoferricina B, efectivo contra bacterias Gram positivas y Gram negativas negativas (Alvarado y Guerra, 2010).

La identificación de péptidos antimicrobianos, vislumbra un amplio y promisorio campo de acción e investigación que podría llevar al reconocimiento, entendimiento y aplicación de estas moléculas en el campo clínico para el futuro tratamiento de múltiples enfermedades de la piel y otros órganos. (Orosco, 2013)

Actividad Inmunomoduladora

Estos pueden jugar un papel importante en la modulación de la respuesta inmunológica, estimulando la fagocitosis en macrófagos y la proliferación de linfocitos. Se han propuesto diversas hipótesis para explicar la acción de estos péptidos, una de ellas propone la estimulación de la proliferación y maduración de células T y otras células fagocíticas para la defensa contra infecciones. Se ha demostrado que varios componentes lácteos modulan la proliferación *in vitro* de linfocitos, por ejemplo, la

lactoferrina B promueve la actividad fagocítica de los neutrófilos humanos; pequeños péptidos derivados del extremo N-terminal de la α -lactalbúmina bovina aumentan significativamente la proliferación de linfocitos sanguíneos periféricos humanos. Sin embargo, el mecanismo por el cual estos péptidos ejercen su efecto inmunopotenciador no se conoce en la actualidad; en principio se ha propuesto que estos péptidos podrían interactuar con el tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal (GALT)(Alvarado y Guerra, 2010).

Los péptidos bioactivos con propiedades inmunomoduladoras más estudiados son aquellos que proceden de la leche y los productos lácteos. Otros alimentos, aunque no tan estudiados como los lácteos, también contienen péptidos con actividad inmunomodulante, como es el caso de la jalea real de la que se han aislado péptidos que estimulan la proliferación de monocitos humanos, péptidos derivados de las proteínas del arroz y la soja que estimulan los sistemas de inmunidad no específica y péptidos del trigo sarraceno y pimiento (Mulero et al., 2011).

Varios estudios sugieren que algunas secuencias de biopéptidos refuerzan el sistema inmune, alivian reacciones alérgicas, potencian la actividad de los linfocitos y mejoran la reacción contra microorganismos como *Klebsiella pneumoniae* (Rodríguez et al., 2014)

Actividad Anticancerígena

Algunos péptidos eliminan compuestos mutagénicos (glutación transferasas y glutación peroxidasas), potencian la respuesta inmune (lactoferrina), mientras que otros evitan que las células cancerosas absorban los compuestos necesarios para su

proliferación y evitan la acetilación de las histonas (lunasina), encontrándose estos dos últimos en proteínas de soya.

Trayendo a colación estudios recientes los cuales sustentan que algunos caseinofosfopéptidos, que son péptidos fosforilados obtenidos de las caseínas, pueden enlazar cationes como zinc, calcio o hierro haciéndolos más estables en diferentes condiciones fisicoquímicas, lo que facilita su absorción intestinal. Por otra parte, en un estudio en particular, se observó que el concentrado de péptidos de proteína láctea causaba apoptosis (muerte celular programada) de las células cancerosas (HT-29) presentes en el colon (Rodríguez et al., 2014).

Actividad hipocolesterolémica

La dislipidemia, caracterizado por la presencia de uno o más de una concentración de lípidos en suero anormales (total de colesterol-TC, LDL-C, triglicéridos y HDL-C), es un factor de riesgo principal para las enfermedades cardiovasculares (ECV).

El efecto hipocolesterolemiante de los péptidos bioactivos se atribuye a dos acciones de los mismos: Los péptidos bioactivos inhiben la absorción del colesterol, posiblemente debido a la represión de la solubilidad micelar del colesterol; algunos péptidos pueden incrementar la concentración o el número de los receptores LDL, que están crónicamente suprimidos por la hipercolesterolemia o administración de colesterol de la dieta. Estudios del efecto hipocolesterolémico de péptidos de soya han resultado en la hipótesis que un péptido con alta capacidad de unión al ácido biliar puede inhibir la reabsorción de la bilis en el íleon y estimular la transformación del colesterol en

ácidos biliares en el plasma e hígado, y por lo tanto bajar los niveles de colesterol en sangre (Borja, 2014).

Los mecanismos considerados responsables de la actividad hipocolesterolémico de los alimentos de soja y su péptido bioactivo implican la estimulación de la secreción de ácidos biliares, los cambios para el metabolismo del colesterol en el hígado, efectos hormonales y regulación de los receptores de colesterol de actividad Biofuncional de péptido bioactivo in vitro hace no siempre implica un efecto in vivo. Incluso si lo hace, es muy difícil establecer una relación directa entre in vitro y actividad in vivo. Esto se debe principalmente a la biodisponibilidad de los péptidos bioactivos, para ejercer un efecto potencial después de la ingestión oral, el péptido tiene que alcanzar el objetivo en una forma activa. Por lo tanto, tienen que permanecer activos durante la digestión por proteasas humanas y ser transportados a través de la pared intestinal a la sangre (Borja, 2014)(Singh et al., 2014).

Estudios han observado que hidrolizados de proteína de soja mostraron un mayor descenso del colesterol plasmático que la proteína de soja intacta. Además de los péptidos derivados de la soja, otros péptidos bioactivos con efecto hipocolesterolémico han sido obtenidos a partir de B-Lactoglobulina, hidrolizado de proteína de carne de cerdo y proteína vegetal. (Mulero et al., 2011)

Por otra parte, se ha sugerido que existen biopéptidos de origen lácteo que influyen sobre la regulación del colesterol sérico, tal es el caso de la lactostatina (derivada de la β -lactoglobulina), que administrada oralmente disminuyó significativamente los niveles de colesterol sérico total en animales modelos. Sin embargo, no se conoce con

certeza cómo actúan estos péptidos, se cree que el efecto que ejercen los péptidos hipocolesterolémicos se debe a que disminuyen la solubilidad micelar del colesterol, es decir, reducen su absorción intestinal, así como la inducción de la transcripción genética de la enzima colesterol-7-hidroxilasa (responsable de metabolizar el colesterol) (Rodríguez et al. 2014).

Actividad hipotensora

Clásicamente, el control de la presión arterial se ha asociado con el sistema renina-angiotensina, que desempeña un papel importante en la regulación de la presión arterial. La renina angiotensinógeno convierte desde el hígado hasta el decapeptido angiotensina I, que a su vez se somete a escisión proteolítica para el octapeptido biológicamente activa, la angiotensina II. Este último paso se lleva a cabo por la enzima convertidora de angiotensina (ACE), que está altamente expresada en el endotelio vascular, en particular en los pulmones. ACE pertenece a la clase de las proteasas de cinc que necesitan zinc y cloruro para su activación. Se convierte la angiotensina I biológicamente inactivo a la potente vaso constrictor y factor trófico cardiovascular angiotensina II. La angiotensina II tiene muchas acciones importantes, entre ellas: el aumento de la presión arterial, el aumento de sodio y retención de líquidos, aumento de la función adrenérgica simpático y causando la remodelación cardíaca y vascular (Hong et al., 2008).

En la actualidad, el sistema renina-angiotensina se ha convertido en un objetivo clave para la lucha contra la hipertensión. La hipertensión es un importante problema de salud en todo el mundo. Es uno de los principales factores de riesgo controlable

asociados con eventos de enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca, y la etapa final de inhibidores de la ECA sintéticos diabetes. Varios son ampliamente utilizados para el tratamiento de trastornos cardiovasculares. Sólo en los EE.UU., los costos de medicamentos antihipertensivos anuales actuales son de aproximadamente \$ 15 mil millones. Fármacos antihipertensivos convencionales causan varios efectos adversos, por lo que más baratos, alternativas más seguras son deseables. Esto está dando lugar a un modo de pensar de la automedicación a menudo impulsados por el deseo de evitar los efectos secundarios indeseables asociados con el consumo de drogas químicas orgánicamente sintetizados y también para evitar el aumento del costo de la terapia con medicamentos. Es bien reconocido que, aparte de su papel nutricional muchas proteínas de los alimentos básicos contienen codificados dentro de sus estructuras primarias secuencias de péptidos capaces de modular las funciones fisiológicas específicas (Hong et al., 2008).

Péptidos inhibidores de ECA tienen una menor actividad inhibidora de la ECA in vitro que los fármacos inhibidores de la ECA, sin embargo, no tienen los efectos secundarios dañinos y también reducir el coste de la asistencia sanitaria. Estos péptidos deben ser considerados como hipotensor agentes. Cada vez más, la investigación está explorando la relación entre estos péptidos y sus efectos antihipertensivos. Investigamos los efectos sobre la presión arterial de la enzima LAP péptido inhibidor de conversión de angiotensina. Este péptido disminuye la presión arterial sistólica (PAS) de SHR. Así eran ver los últimos descubrimientos de estas

funciones de péptidos para el desarrollo de mejores modalidades terapéuticas en el tratamiento de la hipertensión (Hong et al., 2008; Ruiz, 2013).

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) han sido reconocidas como la principal causa de muerte en el mundo. El sistema renina-angiotensina regula la presión sanguínea y el balance de fluidos, y juega un papel importante en la fisiología de las ECV. Enzima convertidora de angiotensina (ACE), es una dipeptidilpeptidasacarboxi no específica, convierte el decapeptido angiotensina I inactiva mediante la escisión de dipéptido del extremo C-terminal en el potente vasoconstrictor octapéptido angiotensina II en el sistema renina-angiotensina (RAS). Este potente vaso constrictor también está involucrado en la liberación de un esteroide, la aldosterona que retiene sodio, a partir de la corteza suprarrenal, que tiene una tendencia a aumentar la presión arterial (Ruiz, 2013).

ACE se distribuye ampliamente en los tejidos de mamíferos, predominantemente como una ectoenzima unido a la membrana en las células endoteliales vasculares y también en varios otros tipos de células incluyendo epiteliales de absorción, neuroepitelial, y las células germinales masculinas (León et al., 2011).

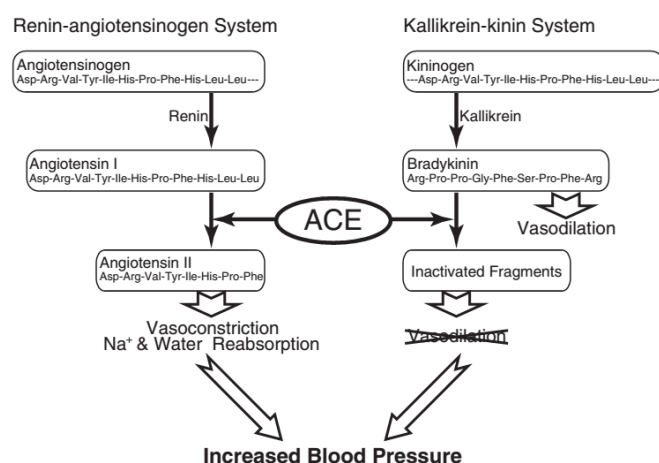


Ilustración 3. El papel de la ACE en el control de la presión arterial.

ACE es una enzima multifuncional que también cataliza la degradación de la bradiquinina, bajando nonapéptido en el sistema de calicreína-quinina una presión arterial. La inhibición de ACE se considera que es un enfoque terapéutico útil en el tratamiento de la hipertensión. Péptidos inhibidores de la ECA bloquean el primer paso en el sistema renina-angiotensina e interrumpen los efectos de retroalimentación negativa de la angiotensina II. (León et al., 2011)

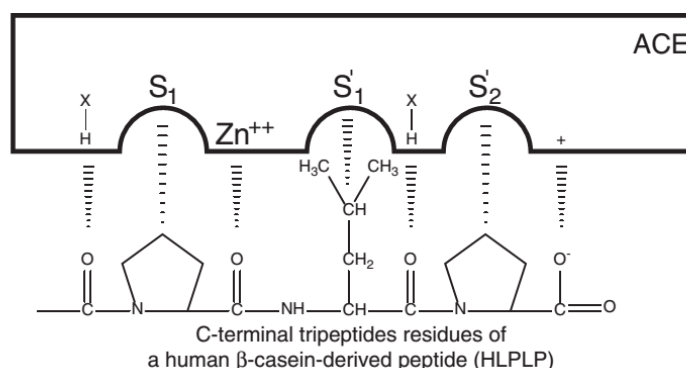


Ilustración 4. Diagrama esquemático de la interacción entre ACE y sus péptidos inhibidores.

Péptidos inhibidores de la ECA, derivados de diferentes fuentes de plantas y animales, en comparación con los fármacos quimiosintéticos, se pueden utilizar como potentes alternativas de drogas de síntesis debido a la creciente interés para las reacciones de oxidación seguros y económicos dentro del cuerpo durante la respiración en organismos aeróbicos; en particular los vertebrados y los humanos pueden producir radicales libres, así como los contaminantes del aire y oxidantes de tabaco puede ser absorbido a la circulación sanguínea y ejercer efectos adversos (León et al., 2011).

Actividad Antitrombótica

La trombosis consiste en la formación de coágulos que obstruyen el flujo sanguíneo ocasionando isquemia o infarto de órganos. En la trombosis arterial, la activación de plaquetas y lesiones de la pared del vaso (placas ateroscleróticas) son los factores preponderantes para la formación de trombos ricos en plaquetas presentando manifestaciones a nivel cardiovascular y neurovascular (Alvarado y Guerra, 2010). En la trombosis venosa la estasis sanguínea y la consecuente activación de la coagulación, se consideran factores principales en la formación de trombos ricos en fibrina y hematíes (Gonzalez et al., 2011). La búsqueda de nuevos agentes antiagregantes que inhiban el funcionalismo plaquetario es de importancia dado que existe un gran número de personas con padecimientos trombóticos (Wada y Lönnnerdal, 2014).

La actividad antitrombótica está también relacionada con la regulación del sistema cardiovascular, de hecho, se ha reportado que tanto las proteínas del suero como algunas caseínas liberan biopéptidos que inhiben enlaces del fibrinógeno y trombina (inhibiendo la formación de trombos) así como también inhiben el factor dependiente de inhibición plaquetaria (Rodríguez et al., 2014).

Por otra parte, existen los péptidos antitrombóticos, los cuales pueden inhibir la agregación plaquetaria debido a la analogía de su estructura con el fragmento 400-411 de la cadena g del fibrinógeno; de esta manera el péptido inhibe la unión del fibrinógeno con su receptor plaquetario, lo cual de no ser así estimularía la agregación plaquetaria dando origen así a la fibrina responsable de la formación de trombos (Carrasco y Guerra, 2010).

Actividad hipoglucemiante

La dieta es importante no solo en el control del peso corporal sino también en la prevención de diabetes, ya que la obesidad está relacionada con la disminución en el número de receptores para la insulina y por consiguiente con el desarrollo de resistencia a esta hormona. Los medicamentos hipoglucemiantes se deben descontinuar en todos aquellos casos de diabetes mellitus en los que la dieta y el ejercicio físico resulten insuficientes para normalizar la glucemia. Dentro de los medicamentos hipoglucemiantes se encuentra la insulina y los hipoglucemiantes orales: sulfonilureas, biguanidas y acarbose (Vargas, De, Bonilla, y Lourenc, 2015). Los fármacos hipoglucemiantes orales actúan en varios mecanismos fisiopatológicos de la diabetes: la resistencia a la insulina, las alteraciones en la secreción de la insulina por las células beta del páncreas, la producción hepática de la glucosa, la absorción intestinal de la glucosa derivada de la digestión de los alimentos, el control funcional insular total con base en las hormonas incretinas, la actividad del glucagón, etc. Al disminuir la hiperglucemia, mejora la glucotoxicidad independientemente del medicamento empleado y por esa razón aumenta la sensibilidad a la insulina y la capacidad secretora de las células beta (Vargas et al., 2015).

Los hipoglucemiantes orales se encuentran agrupados según su principal mecanismo de acción en: secretagogos de insulina, reductores de la producción hepática de glucosa, sensibilizadores de la insulina e inhibidores de las alfa glucosidasas intestinales⁴¹. En algunos de estos fármacos se consideran otros efectos además del hipoglucemiante; se les atribuyen efectos en los factores de riesgo cardiovascular como los lípidos, en los fenómenos inflamatorios, la disfunción endotelial, la resistencia a

la insulina, la producción de radicales libres, el vaciamiento del estómago, la preservación de las células beta y la diferenciación a partir de precursores. Los problemas mencionados podrían evitarse con el uso de sustancias hipoglucemiantes puras y a partir de éstas podrían desarrollarse, previa investigación farmacológica experimental y clínica, agentes hipoglucemiantes orales. El efecto hipoglucemiante de péptidos puede ser ejemplificado con el péptido MC2-1-5 cuyos primeros 10 aminoácidos en posición N-terminal corresponden a la secuencia GHPYYSIKKS aislada de *Momordica charantia* L. Dicho péptido redujo los niveles de glucosa inducida con aloxano en ratones en un 61,70% y 69,18% a las 2 y 4 horas, respectivamente de su administración a dosis de 2mg/kg. La evaluación de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) mostró que el MC2-1-5 produjo una reducción del nivel de glucosa de 25,50%, 39,62% y 41,74% después de 1, 2 y 3 h, respectivamente de administración oral comparado con un grupo control.

Fuentes de péptidos bioactivos

Cualquier proteína independientemente de sus funciones y calidad nutricional, puede ser empleada como fuente de péptidos con actividad biológica, llamados también biopéptidos (Karelín, Blishchenko, y Ivanov, 1998). De esta forma, se puede establecer la generación de biopéptidos como un nuevo criterio para establecer el valor de una proteína (Meisel, 1998).

Entre las proteínas alimentarias precursoras de biopéptidos, destacan las proteínas lácteas, tanto de la caseína como del suero; se han aislado péptidos con actividad antihipertensiva, opioide, antimicrobiana e inmunomoduladora (Darewicz,

Dziuba y Minkiewicz, 2007; Dziuba, Niklewicz, Iwaniak, Darewicz y Minkiewicz, 2004; Gobbetti, Stepaniak, De Angelis, Corsetti y Di Cagno, 2002). Igualmente destacan las proteínas de la carne de pollo y huevo son importantes fuentes de biopéptidos con actividad antihipertensiva (Pihlanto-Leppälä et al., 1998). Por su parte, el colágeno y la elastina son precursores de péptidos con actividad anticoagulante (Maruyama, Miyoshi, Osa, y Tanaka, 1992).

Por otra parte, las proteínas vegetales son una alternativa para la obtención de péptidos debido a su mayor disponibilidad y menor costo, como es el caso de la soya, el trigo, el arroz y el maíz (Gibbs, Zougman, Masse y Mulligan, 2004; Yoshikawa et al., 2000).

Entre los productos más estudiados ricos en proteína que poseen propiedades funcionales se encuentran la soja, la leche y el huevo. En estos alimentos se han identificado diferentes péptidos con actividad biológica que pueden ser beneficiosos para la salud y la prevención de enfermedades. Estos péptidos presentan actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), antimicrobiana, agonistas y antagonistas opioides y antitumoral. En la actualidad se realizan estudios clínicos de péptidos con actividad antitumoral como el inhibidor de tripsina y la lunasina. Es de destacar que estudios epidemiológicos sugieren que una dieta rica en productos a base de soja estaría asociada a una baja incidencia de cáncer, principalmente de mama, colon y próstata (Carrillo, Vilcacundo, y Carpio, 2015).

Por otra parte, aunque la leche y los productos lácteos son estudiados en gran medida como fuente de péptidos bioactivos, muchos péptidos bioactivos también se encuentran en otras fuentes animales y vegetales como el huevo, pescado, ostras,

cereales (arroz, trigo, soja, trigo sarraceno, cebada y maíz), soja, y semillas de rábano, y adicional a esto, un producto de abeja también ha mostrado ser una buena fuente de péptidos inhibidores de la ECA; la soja es económicamente el grano más importante en el mundo, proporcionando proteína vegetal para millones de personas y los ingredientes para cientos de productos químicos y una fuente potencial de péptidos bioactivos. Las proteínas de soja son abundantes y relativamente barata fuente de proteína que tiene un alto valor nutricional y excelentes propiedades funcionales. Además de esto, son una excelente fuente de proteínas de la dieta y paralelamente tienen efecto antihipertensivo, anticolesterolemico, antioxidante y actividad contra el cáncer. Por su parte, la glicinina y β -conglucina, representan el 65-80% de las proteínas totales de la soja, y son el precursor de la mayoría de los péptidos aislados (Singh et al., 2014).

Los tejidos vegetales contienen una gran cantidad de proteasas y otros compuestos tales como polisacáridos, lípidos, compuestos fenólicos y metabolitos secundarios que pueden interferir tanto en la extracción, posterior separación y detección de proteínas (González et al., 2014). Por lo tanto, la extracción de proteínas a partir de plantas por lo general es un proceso tedioso que es difícil de automatizar y, muy a menudo, presenta eficacia y reproducibilidad limitada.

Gonzales et al. (2011) han desarrollado un método para la extracción de proteínas a partir de un material residual de ciruela. El método implica el uso de ultrasonidos focalizados de alta intensidad que permitieron la preparación de semillas de ciruela con aislado proteico, lo cual arrojó un contenido de proteína de aproximadamente 40% (en base seca y desgrasada) en menos de 1 h. Por otra parte,

la optimización de las condiciones de digestión con cuatro enzimas diferentes dio como resultado grados de hidrólisis que van desde 90% en el caso de termolisina a 60% en el caso de alcalasa. Además de esto, bajo condiciones óptimas de digestión, la enzima catalasa parece ser la enzima que muestra el extracto más prometedor para el aislamiento de antioxidantes y posibles péptidos antihipertensivos. Sin embargo, el análisis de hidrólisis de la alcalasa por RP-HPLC-ESI-Q-TOF permitió la identificación de 13 péptidos con características típicas de péptidos antioxidantes y antihipertensivos. Este método podría ser una estrategia para la recuperación y puesta en valor de este subproducto de la ciruela.

El contenido de proteínas y lípidos de la harina de tarwi deslupinizadas es 46,37 y 31,57 % respectivamente, Borja (2014) obtuvo hidrolizados proteicos con alcalasa y crudo enzimático de *Bacillus* sp., presentaron mayor concentración de péptidos solubles de 1383,17 y 663,55 µg/ ml, respectivamente a pH 8 y 50 °C.

El péptido, His- Cys- Gln -Arg- Pro- Arg aislado de la digestión de glicinina de soya, también muestra actividad inmunoestimulante activando la fagocitosis de neutrófilos en humanos, y estimulando el factor de necrosis tumoral (TNF) cuando fue administrado en ratones (Borja, 2014).

Por otra parte, estudios recientes, identificaron secuencias de péptidos presentes en un hidrolizado de clara de huevo con pepsina, como IVF, RAADPFL y YAEER PIL que inhiben ACE in vitro y presentan actividad antihipertensiva en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) en dosis mínimas eficaces de 2-4 mg / kg (Miguel et al., 2006).

Por otra parte, las endomorfinas son dos péptidos opioides, clasificados como endomorfinas-1 (EM1, Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) y endomorfinas-2 (EM2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂), cuyas secuencias peptídicas fueron identificadas y aisladas del cerebro de bovino y humano por el grupo de Zadinaen en 1997 (Gelman et al., 2010).

La mayoría de los péptidos que han demostrado tener actividad inhibitoria de la ACE contienen prolina en su estructura. Este aminoácido le confiere resistencia a la hidrólisis por proteasas digestivas. Es así como dos de las secuencias reportadas, ampliamente estudiadas en leches fermentadas con actividad inhibitoria de la ACE, son valina-prolina-prolina (VPP) e isoleucinaprolina-prolina (IPP). Estos son conocidos como lactotripéptidos y tienen un valor de concentración inhibitoria del 50 % (IC₅₀) de 9,0 y 5,0 µmol, respectivamente. (Dominguez et al., 2014)

Adicionalmente, un potente péptido ACE-inhibidor formado por el fragmento f(108-110 k-caseína) del GMP, el cual corresponde a Ile-Pro-Pro, fue purificado a partir de una bebida láctea japonesa; y en estudios controlados, se ha encontrado que la presión sanguínea de pacientes hipertensos disminuyó significativamente después de 4-8 semanas de ingesta diaria de 95 L de leche agria conteniendo este péptido. Se ha reportado así que, en comparación con el GMP intacto, los hidrolizados trípticos del GMP exhibieron niveles más altos de actividad inhibidora-ACE (Carrasco y Guerra, 2010).

Tal es el caso de los tripéptidos Val-Pro-Pro e Ile-Pro-Pro, los cuales se ha demostrado que presentan actividad inhibitoria de la ECA (Rodríguez et al., 2014).

Por otra parte, investigaciones y estudios técnicos lograron obtener péptidos con actividad inhibidora de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) mediante digestión con pepsina de proteínas del garbanzo (*Cicerarietinum*), lupino (*Lupinus albus*), frijol común (*Phaseolus vulgaris*), guisante (*Pisum sativum*), soya (*Glycine max*), y lenteja (*Lens culinaria*) (Borja, 2014).

Estudios realizados por Jakubczyk, Karaś, Baraniak y Pietrzak (2013), reportaron péptidos con actividad IECA luego de la digestión ,bajo condiciones gastrointestinales (GI), de productos fermentados obtenidos de la fermentación de proteínas de guisantes por *Lactobacillus plantarum* (Borja, 2014).

Los péptidos antihipertensivos aislados de los huevos se pueden obtener por hidrólisis enzimática de la ovoalbúmina, incluyendo ovokinina y ovokinina. La hidrólisis de clara de huevo crudo con pepsina, tripsina, quimotripsina, produjo péptidos con propiedades inhibidoras de la ECA. Ovokinina, donde tuvo una mayor potencia antihipertensiva de ovokinina en SHR. Algunos péptidos inhibidores de la ECA obtenidos de este hidrolizado también mostraron actividad antihipertensiva (Hong et al., 2008).

Ahora bien, la sangre animal es una fuente potencial sin explotar de las drogas y la producción de alimentos con valor agregado. El hidrolizado más activo se obtuvo de la digestión péptica de hemoglobina porcina. Asimismo, fermentados realizados con mejillones azules (CESM) también han demostrado actividad inhibidora de ACE, al igual que el péptido inhibidor para ACE, que se aisló a partir de extracto de músculo de pechuga de pollo, muestra actividad hipotensora en SHR. De la misma manera el Hyp-GlyLeu-Hyp-Gly-Phe mostró una actividad más fuerte que el dicho péptido, es así como

el Phe en el extremo C-terminal del péptido era muy importante para la actividad inhibidora de ACE (Hong et al., 2008).

Las proteinasas en varias cepas bacterianas, muchos de los que se utilizan en la fabricación de productos lácteos fermentados son capaces de liberar péptidos inhibidores de la ECA a partir de proteínas de la leche. Estudios In vitro de péptidos aislados de la leche fermentada demostraron actividad inhibidora de ACE que resulta en una disminución de la presión arterial. Los investigadores informaron que la liberación in vitro de péptidos inhibidores de ECA de caseína o suero mediante arrancadores de yogur comercial requiere más de incubación con pepsina y tripsina actividad. Donde las cepas de *Lactobacillus helveticus* eran capaces de liberar péptidos inhibidores de ECA en las bebidas de leche fermentada o productos de tipo yogur. Un número mayoritario de estudios han demostrado que los péptidos inhibidores de la ECA pueden ser producidos durante la fabricación de queso. También se encontró que la liberación de la ECA aumenta un péptido inhibidor durante la maduración del queso. Un número limitado de estudios en humanos que se han realizado sobre el efecto hipotensor de diferentes proteínas de la leche hidrolizadas y los productos lácteos fermentados, que, in vitro, contienen péptidos inhibidores de la ECA. La mayoría de los estudios in vivo atribuye los efectos antihipertensivos de casokinins. Por otra parte, se ha demostrado que el consumo de 20 g / día de un hidrolizado tríptico de caseína podría provocar cierta reducción en la presión arterial diastólica (PAD) y SBP en voluntarios humanos hipertensos (Hong et al., 2008).

En definitiva, las proteínas de leguminosas son una valiosa fuente de péptidos y proteínas alimenticias con actividad biológica o funcional. Sin embargo, no todas las

leguminosas han sido explotadas para la salud humana, como es el caso del género *Lupinus* que contiene un número de moléculas bioactivas y compuestos funcionales poco estudiados (Borja, 2014).

En diferentes estudios, se ha encontrado que la actividad antioxidante de los hidrolizados de alcalasa derivada es más alta que la de otros hidrolizados. Adicionalmente, se describe que los péptidos producidos por alcalasa tienen diversas actividades biológicas, incluyendo la actividad antioxidante. Por otra parte, en comparación con otras proteasas, que proporciona rendimientos más altos de péptidos antioxidantes y desarrolla péptidos más cortos, los péptidos bioactivos resultantes son más resistentes a las enzimas digestivas (Sarmadi y Ismail, 2010).

En general, los 20 aminoácidos presentes en las proteínas pueden reaccionar con radicales libres si la energía de estos es alta (por ejemplo en radicales hidroxilo). Los más reactivos incluyen los azufrados Met y Cis, los aromáticos Trp, Tir y Fen y los que contienen anillo imidazol como la His (Borja, 2014).

Un número de péptidos bioactivos de leguminosas con función moduladora e inmune también han sido identificados. Yoshikawa *et al.*, han aislado el péptido soymetide - 13 (Met- Ile- Thr- Leu- Ala- Ile- Pro- Val- Asn- Lys- Pro- GlyArg) derivado de la subunidad α de la β -conglucina de soya digerida que estimula la fagocitosis en leucocitos polimorfonucleares en humano. El residuo de Met del amino terminal fue esencial en esta actividad (Yoshikawa *et al.*, 2000). El péptido, His- Cys- GlnArg- Pro- Arg aislado de la digestión de glicina de soya, también muestra actividad inmunoestimulante activando la fagocitosis de neutrófilos en humanos, y estimulando el factor de necrosis tumoral (TNF) cuando fue administrado en ratones (Borja, 2014). La

Tyr, Trp, Met, Lys, Cys, son ejemplos de aminoácidos que causan la actividad antioxidante. Los aminoácidos con residuos aromáticos pueden donar protones de electrones a los radicales deficientes (Borja, 2014). Por ejemplo, se ha informado que Gln- Gly- Ala- Arg- Leu y Glu tienen un papel importante en la eliminación de radicales. Sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales para aclarar la relación estructura / función de los péptidos antioxidantes (Borja, 2014).

La capacidad antioxidante de los hidrolizados de proteína de soya se atribuye a péptidos con secuencia Leu-Leu-Pro-His-His. De igual modo, se ha identificado como sitio activo la secuencia Pro-His-His; es sabido que los péptidos que contienen histidina en su estructura pueden actuar como quelantes de metales, captadores de radicales hidroxilo y especies reactivas de oxígeno (Borja, 2014).

Por otra parte, los péptidos con actividad opiácea, también llamados exorfinas, se definen como péptidos que presentan afinidad por receptores opiáceos y actúan, mediante la unión a receptores, como moduladores exógenos de la motilidad intestinal, de la permeabilidad epitelial y de la liberación de hormonas. Asimismo, las β -casomorfina derivadas de la leche se ha determinado que pueden participar en la regulación del apetito, modificando la actividad endocrina del páncreas para aumentar la producción de insulina (Borja, 2014).

Estructuralmente, ambos péptidos opioides exógenos y endógenos varían en la secuencia N-terminal. Los péptidos endógenos tienen la misma secuencia N-terminal de Gly- Gly- Phe, mientras que se han encontrado que varios péptidos opioides exógenos tienen un residuo Tyr en el amino terminal (por ejemplo, Tyr- X- Phe, Tyr- X1- X2- Phe) (Borja, 2014)

La asociación entre la nutrición y la inmunidad es un hecho reconocido desde hace tiempo. Existen estudios que demuestran que péptidos bioactivos derivados de diferentes fuentes de proteínas ejercen efectos inmunomoduladores *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, la mayoría de los estudios se centran en la evaluación del efecto de los péptidos e hidrolizados de proteínas específicas en el sistema inmunológico y sólo un número limitado de investigaciones examinan su impacto en la inmunidad inespecífica (innata) (Borja, 2014).

Algunos péptidos eliminan compuestos mutagénicos (glutación transferasas y glutación peroxidasas), potencian la respuesta inmune (lactoferrina), mientras que otros evitan que las células cancerosas absorban los compuestos necesarios para su proliferación (inhibidor de proteasas Bowman - Birk) y evitan la acetilación de las histonas (lunasina), encontrándose estos dos últimos en proteínas de soya (Borja, 2014; Shankar et al., 2015).

Por otro lado, se ha descrito en cuanto a las semillas de frijol que estas contienen dos proteínas importantes, donde se incluye el inhibidor de la α -amilasa y fitohemaglutinina, los cuales median mecanismos de absorción de glucosa y la regulación del apetito, respectivamente. De igual modo, el inhibidor de la α -amilasa (α -AI) impide la digestión del almidón, reduce la absorción de glucosa y por lo tanto disminuye la síntesis de grasa y el almacenamiento; la fitohemaglutinina por su parte, reduce el apetito mediante la modulación de la producción de hormonas anoréxicas, que, según se afirma en menos ingesta de lípidos de la dieta (Ramirez, Reynoso, Tejero, León, y Loarca, 2015).

En orden de ideas, la ingesta de alimentos es controlada por las hormonas del hambre de señalización, que están reguladas por el cerebro y producen en el núcleo arqueado (ARC) del hipotálamo, el tracto gastrointestinal y la mucosa del estómago. Los principales neuropéptidos implicados en la regulación del apetito son la hormona grelinaorexigenica y algunos neuropéptidosanorexígenos tales como la colecistoquinina (CCK), el péptido de tirosina-tirosina (PYY) y péptido similar al glucagón-1. (GLP-1). Nuevas pruebas indican que los AGCC y fitohemaglutinina de los granos comunes aumentan suero neuropéptidosanorexígenos y disminuyen las hormonas del hambre (Ramirez et al., 2015).

Por otra parte, los hidrolizados de proteínas de leche, hidrolizados de proteínas de suero de leche y productos lácteos fermentados contienen secuencias de péptidos biológicamente activos multifuncionales con antioxidante, antimicrobiano, antitrombótico, inmunomoduladora y actividades antihipertensivas. La conjugación de péptidos antioxidantes (potencialmente bioactivo) con azúcares reductores, especialmente el prebiótico lactulosa, puede dar lugar a productos altamente antioxidantes y potencialmente nutracéuticos con diversas aplicaciones, incluyendo en la formulación de alimentos funcionales para la salud. Sin embargo no se han descrito informes sobre péptidos y azúcares reductores conjugados a través de la reacción de Maillard como un procedimiento de elaboración de alimentos convencionales (Nooshkam y Madadlou, 2016).

Con respecto a lo anterior, el producto con cualquiera de las proteínas de suero o péptidos con efecto antioxidante forma sistemas con actividad radical de captación apreciable DPPH; La actividad radical de captación de sistema de péptidos-lactulosa

con efecto antioxidante fue mayor que la de las proteínas de suero de leche-lactulosa en par. El destino de las proteínas / péptidos-lactulosa y proteínas / lactosa conjugadas en el tracto gastrointestinal es de suma importancia y requiere un estudio exhaustivo. Los conjugados muestran potencial para la supresión de los ataques de radicales libres en el cuerpo (Nooshkam y Madadlou, 2016).

Junto a varios antioxidantes naturales conocidos como la vitamina C, polifenoles, flavonoides y carotenoides, péptidos con propiedades antioxidantes son también el foco de la investigación reciente. Por ejemplo, la ingestión de Douchi (alimentos de soja fermentada) ha tenido en ratas el efecto de aumentar el SOD, en la actividad del hígado y el riñón, la catalasa (CAT) en el hígado, la actividad de GSH-Px en el riñón. Estos resultados se atribuyeron a los péptidos y los componentes aminoácidos libres de los extractos de Douchi que actúan como antioxidante. Además, se ha encontrado que la capacidad de captación del radical de plasma se elevó mientras que una elevada concentración de MDA en la aorta se redujo después de una ingesta de huevo hidrolizados blanco (0,5 g / kg / día de huevo hidrolizados blancas) por las ratas espontáneamente hipertensas (SHR). Se ha postulado que los hidrolizados de huevo blanco pueden contribuir en la prevención del estrés oxidativo por incremento de la capacidad de plasma en la captación de radicales y la inhibición de la peroxidación de lípidos (Sarmadi y Ismail, 2010).

Por su parte, investigadores han informado que un aislado de proteína de soja y sus hidrolizados resultan en una disminución de TBARS del 28 a 65%; en otro estudio, se demostró que la ingestión de aislados de proteína de soja (SPI) o el péptido de soja en ratas reduce el indicador del estrés oxidativo. No obstante, no se observaron tales

efectos cuando la mezcla de aminoácidos se suministró como alimento a las ratas. Además de esto, la proteína de soja y aislados peptídicos de soja impidieron la elevación de la concentración de TBARS en suero. Asimismo, la leche de soja-kéfir ha mostrado tener actividad anti-mutagénica y antioxidante más importante. Por lo tanto, se propuso que la leche de soja fermentada puede ser considerada como un alimento con funciones de prevención en el daño oxidativo y mutagénico (Sarmadi y Ismail, 2010).

A pesar de que una buena cantidad de evidencia ha confirmado la actividad antioxidante in vitro del péptido bioactivo, es importante, pero difícil de considerar una relación entre propiedades antioxidantes in vitro y la capacidad antioxidante in vivo de los péptidos ya que están sujetos a la degradación y modificación en el intestino, sistema vascular y el hígado. Por lo tanto, se puede entender que los péptidos deben ser capaces de superar las barreras y alcanzar su objetivo en una forma activa. Es así como se ha indicado que una pequeña porción de péptidos bioactivos puede pasar la barrera del intestino y aunque por lo general es demasiado pequeño para ser considerado nutricionalmente importante, puede presentar los efectos biológicos en el nivel de los tejidos. Asimismo la absorción intacta de péptidos es considerada como un proceso fisiológico normal que es diferente a la regulación de ruta de un péptido transportador (Sarmadi y Ismail, 2010).

Investigaciones han demostrado que péptidos con 2-6 aminoácidos se absorben más fácilmente en comparación con las proteínas y aminoácidos libres. Investigadores han descrito que los pequeños (di- y tripéptidos) y grandes (10-51 aminoácidos) péptidos pueden cruzar la barrera intestinal intactos y exhibir sus funciones biológicas a

nivel tisular. Sin embargo, como el peso molecular de los péptidos se incrementa, su oportunidad de pasar la barrera intestinal disminuye. Además de esto, se ha registrado la presencia de prolina y de prolina hidroxilo resultados en la resistencia peptídica a las enzimas digestivas, especialmente tripéptidos con Pro-Pro en el extremo C-terminal resistentes a las peptidasas específica de prolina (Sarmadi y Ismail, 2010).

En relación al *Amaranthus*, se han descrito péptidos con actividad biológica entre los que se encuentran inhibidores de proteasas y alfa-amilasas, péptidos antimicrobianos y antifúngicos que poseen un dominio rico en cisteína/glicina característico de proteínas ligadoras de quitina. Estos resultados in vitro son alentadores para iniciar estudios in vivo y determinar el potencial efecto antitumoral. Donde se ha descrito actividad reductora de colesterol por parte de las proteínas de *Amaranthus* (este efecto se observó en un modelo animal). Extractos obtenidos de *Amaranthushypocondriacus* presentaron una fuerte actividad antioxidante con el método de inhibición de DPPH40 (Carrillo et al., 2015).

En conclusión el amaranto y la quinua pueden ser usados como fuente de nuevos compuestos bioactivos: extractos, proteínas, hidrolizados y péptidos que podrían usarse en la industria alimentaria (Carrillo et al., 2015).

Con antelación se ha mencionado que la actividad antioxidante de los péptidos derivados del lactosuero está relacionada con la presencia de cisteína la cual promueve la síntesis de glutatión, un potente antioxidante intracelular. Donde investigadores obtuvieron resultados similares comparando la actividad antioxidante de las proteínas del suero con la de sus hidrolizados. Sus resultados sugieren que la actividad

antioxidante es inherente a la secuencia de péptidos en la β -Lactoglobulina(Alvarado y Guerra, 2010).

Gelman et al. (2010) resumen varios aspectos de las múltiples actividades biológicas, celulares, efectos farmacológicos, respuestas fisiológicas y conductuales de dos nuevas sustancias peptídicas de naturaleza opioide, descubiertas recientemente y denominadas endomorfinas; Las endomorfinas son dos péptidos opioides, clasificados como endomorfin-1 (EM1, Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) y endomorfin-2 (EM2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂), cuyas secuencias peptídicas fueron identificadas y aisladas del cerebro de bovino y humano por el grupo de Zadina en 1997. Estudios de unión radioligando-receptor demostraron que estos péptidos se unen con alta afinidad de unión al receptor opioide μ en relación con su capacidad de unión a otros subtipos de receptores opioides (κ [k], δ [d]), previamente identificados en el SNC de mamíferos. Ambos péptidos están compuestos por cuatro aminoácidos y son estructuralmente distintos de las demás sustancias opioides endógenas conocidas. Esta revisión detalla, precisa diversos aspectos de la farmacología y actividades celulares de estos opioides y sus implicaciones en la modulación de distintos circuitos o vías neurales y funcionamiento del SNC de los mamíferos, respectivamente. Los estudios relacionados con la función estructura-actividad de estos péptidos han mostrado que, al igual que la mayoría de los péptidos bioactivos endógenos de naturaleza opioide y no opioide, son vulnerables a la escisión peptídica por cortes enzimáticos mediante la exposición a distintas enzimas proteolíticas que pudiesen participar en la degradación endógena de las endomorfinas, y la obtención de diversos productos de degradación. Asimismo, este artículo menciona la amplia distribución neuroanatómica que poseen las endomorfinas

en distintas regiones del cerebro, particularmente en aquellas que regulan el procesamiento y la transmisión de la información nociceptiva y que, por tanto, reflejan el papel potencial de estos péptidos en procesos fisiológicos de analgesia, entre muchos otros (memoria y otro aprendizaje).

Presencia comercial

Cabe mencionar que diversas empresas están realizando la labor de incluir en sus productos diversos componentes bioactivos entre ellos se encuentra la compañía Valio Ltda. de Finlandia, donde se desarrolló un producto a base de leche fermentada la cual contiene péptidos bioactivos, Evolus® , el cual presenta un efecto benéfico sobre la presión sanguínea ya que contiene muy poco sodio (Borja, 2014). En todos los casos la acción antihipertensiva se ha debido a la presencia de los tripéptidos formados por Val- Pro- Pro (VPP) y Ile- Pro- Pro (IPP), los cuales purificados o como componentes de los productos hidrolizados han demostrado su efectividad para bajar la presión arterial en humanos después de entre 2 a 7 semanas de consumir el producto (Borja, 2014).

Las leches fermentadas con efecto antihipertensivo que se comercializan en la actualidad son Calpis® (Calpis Co. Ltd., Japan) y Evolus® (Valio, Oy, Finlandia). El producto Calpis®, preparado por fermentación de leche descremada con *L. helveticus* y *Saccharomyces cerevisiae*, ha demostrado tener la capacidad para disminuir la presión arterial sistólica y diastólica en sujetos con hipertensión; paralelamente, encontraron un mayor efecto con 95 ml/d de Calpis® el cual disminuyó la presión arterial sistólica y diastólica en 14,1 y 6,9 mm Hg, respectivamente, después de 8 semanas. Adicionalmente se encuentra el producto comercial Evolus® el cual es un producto

fermentado con *L. helveticus* LBK-16H distribuido en Finlandia; recientemente la empresa Kaiku lo ha introducido en España con el nombre de Kaiku Vitabrand®. Su efecto en pacientes hipertensos ha sido evaluado por Seppo *et al*, quienes encontraron una disminución significativa en la presión sistólica y la diastólica en los sujetos de prueba después de consumir esta leche (Seppo, Jauhiainen, Poussa, y Korpela, 2003). Tuomilehto *et al.*, (2004) encontraron el mayor efecto antihipertensivo al administrar 15 ml/d de Evolus® en sujetos con hipertensión ligera, lo que condujo a una disminución en la presión sistólica de 16,0 mm Hg en la primera fase, que duró de 8-10 semanas, y una disminución de 11,0 mm Hg en la segunda fase, que duró de 5-7 semana. En un metanálisis publicado, se incluyeron nueve estudios realizados entre 1996 y 2005, con un total de 623 participantes, donde se demostró que los lactotripéptidos tuvieron un efecto hipotensor en sujetos prehipertensos e hipertensos (Dominguez et al., 2014)

La formación de los lactotripéptidos en leches fermentadas se debe a que las caseínas, proteínas mayoritarias de la leche, son ricas en prolina. Estudios recientes, encontraron el mayor efecto antihipertensivo en humanos con hipertensión leve al suministrarles 100 ml/d de una leche fermentada con *L. casei* Shirota y *Lactococcus lactis* YIT 2027 con ácido gamma-aminobutírico (GABA); después de 12 semanas se obtuvo una disminución de la presión arterial sistólica y diastólica de 17,4 y 7,2 mm Hg (Dominguez et al., 2014; Sarmadi y Ismail, 2010).

Tabla 4. Estudio del efecto hipotensor de los lactotripéptidos de leches fermentadas en humanos.

Producto	Dosis	Tipo de estudio	Respuesta máxima (mmHg)	Tiempo de respuesta (semanas)	Referencia
Calpis (L. <i>helveticus</i> , S. <i>cerevisiae</i>)	95 ml/d	Estudio controlado con placebo, en 30 sujetos hipertensos	-14,1 PAS -6,9 PAD	8	18
Leche fermentada (L. <i>casei</i> TMC0409 y S. <i>thermophilus</i> TMC 1543)	2 x 200 ml/d	Estudio simple ciego y paralelo con leche fermentada y el placebo, en 20 voluntarios	-7,0 PAS	8	27
Calpis (L. <i>helveticus</i> , S. <i>cerevisiae</i>)	96 ml/d	Estudio en 18 sujetos con hipertensión	-7,6 PAS (NS) -2,0 PAD (NS)	8	22
Leche fermentada (L. <i>helveticus</i> , S. <i>cerevisiae</i>)	160 g/d	2,53 mg VPP y 1,52 mg IPP; estudio placebo controlado, doble ciego, en personas	13,7 PAS -7,4 PAD	8	27

		que tenían hipertensión L o M no tratada con medicamentos				
Leche fermentada (L. <i>helveticus</i> , S. <i>cerevisiae</i>)	120 g/d	2,66 mg VPP y 1,60 mg IPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, en 36 sujetos no tratados que tenían hipertensión L o M	-14,5 PAS -8,1 PAD (NS)	8		20
Evolus (L. <i>helveticus</i> LBK16H)	150 ml/d	2,25 mg IPP + 3-3,75 mg VPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 17 sujetos con hipertensión L	-10,8 PAS -6,9 PAD	8		43
Leche fermentada (L. <i>cosei</i> Shirota y Lc. <i>lactis</i> YIT)	100 ml/d	Estudio aleatorizado, controlado con placebo, simple ciego,	-17,4 PAS -7,2 PAD	12		21

2027) con GABA		el 39 sujetos con hipertensión L				
Evolus (L. <i>helveticus</i> LBK16H)	150 ml/d	Estudio aleatorizado controlado con placebo en 39 sujetos hipertensos	-6,7 PAS -3,6 PAD	21		44
Calpis (L. <i>helveticus</i> , S. <i>cerevisiae</i>)	160 g/d	1,15 mg IPP + 1,98 mg VPP; estudio doble ciego controlado aleatorizado, en 46 sujetos hipertensos	-4,3 PAS -5,2 PAS -1,7 PAD -2,0 PAD	2-4		33
Evolus (L. <i>helveticus</i> LBK16H)	15 ml/d	2,4 a 2,7 mg IPP + 2,4 a 2,7 mg VPP, en 60 sujetos con hipertensión L	-16,0 -11,0	En la 1ª fase 8-10 En la 2ª 5-7		47
Tabletas de leche fermentada en polvo (L. <i>helveticus</i> CM4)	6 tabletas/d	4,7 mg IPP + 8,3 mg VPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 80 sujetos con	-3,2 PAS (NA) -11,2 PAS (L)	4		2

		hipertensión arterial NA o L			
Evolus (L. <i>helveticus</i> LBK16H)	2 X 150 ml/d	22,5 mg IPP + 30 mg VPP;	-4,1 PAS -1,8 PAD	10	24
		estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 94 sujetos con hipertensión L			

Fuente: Dominguez et al., 2014.

La tabla 4, describe el efecto hipertensor de algunas leches fermentadas, en las cuales se ha demostrado que poseen los lactotripéptidos VPP e IPP. Por otra parte, investigadores han estudiado la leche Evolus® con dosis de 27 ml/d y obtuvieron una disminución en la PAS a las 12 y 14 semanas de 21 y 22 mm Hg, respectivamente. Seppo *et al.* (2003) demostraron que el libre acceso a una leche fermentada que contenía VPP e IPP disminuyó la PAS en 8,3 mm Hg después de 9 semanas (Dominguez et al., 2014)

Es importante mencionar que los estudios realizados no han tomado en cuenta factores como etnias, estado de salud y edad. No obstante, se ha demostrado una tendencia en la prevalencia de hipertensión de acuerdo con el grupo étnico; por ejemplo, en Latinoamérica y el Caribe así como en países asiáticos (excepto Japón), la hipertensión tiene la menor incidencia, mientras que las personas afroamericanas y asiáticas de la zona sur tienen un alto índice de hipertensión. Asimismo, entre personas

de color se ha identificado la tendencia a desarrollar hipertensión a una edad temprana (Dominguez et al., 2014).

A pesar de los distintos estudios realizados que han demostrado el efecto de las leches fermentadas con lactotripéptidos en la disminución de la presión arterial, la EFSA (European Food Safety Authority) consideró que la evidencia sobre el efecto antihipertensivo de los actotripéptidos es insuficiente, después del análisis de un gran número de solicitudes. La EFSA argumenta que las investigaciones de estos alimentos funcionales con lactotripéptidos presentan, en general, una diferencia muy pequeña entre el tratamiento activo y el placebo en los estudios en humanos, por lo que sugieren contar con poblaciones de estudio más grandes para probar la eficacia de estos alimentos. Además de esto, se recomienda dar mayor énfasis a los estudios preclínicos, con el fin de demostrar que los efectos se repiten varias veces y son registrados por varios grupos de investigación (Dominguez et al., 2014; Miguel et al., 2007).

Adicionalmente a estas proteínas, en el suero derivado de quesos obtenidos por la acción de la quimosina, se encuentra la porción hidrosoluble de la k-caseína conocida como glicomacropéptido (GMP). En el caso del GMP, numerosos estudios resumidos, han resaltado sus múltiples aplicaciones: enlazador o secuestrante de enterotoxinas de cólera y *E. coli*, inhibidor de la adhesión bacteriana y viral, modulador de respuestas del sistema inmune, promotor del crecimiento de bifidobacterias, supresor de secreciones gastrointestinales y regulador de la circulación sanguínea; todas estas aplicaciones son facilitadas por las características funcionales del GMP, principalmente su alta solubilidad y propiedades emulsificantes. (Alvarado y Guerra,

2010). Este péptido con actividad antitrombotica, anticariogénica y antimicrobiana ha sido purificado y comercializado por Davisco, Foods International Inc. (BioPureGMP®). También se han combinado péptidos con fosfato cálcico amorfo para ser empleados como ingredientes de enjuagues bucales (Prospec MI Paste®, GC Tooth Mouse®), pasta de dientes o gomas de mascar (Recaldent® y Trident®) (Segura et al., 2013).

Tabla 5. Productos lácteos comerciales e ingredientes con propiedades saludables o funcionales basados en péptidos bioactivos.

Nombre de la marca	Tipo de producto	Reivindicados bioactivos funcionales péptidos	Salud /funciones reclamaciones	Fabricante
Calpis	Leche agria	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro, derivado de β -caseínas y κ -caseínas	Reducción de la presión sanguínea	Calpis Co., Japón
Evolus	Calcio bebida de leche fermentada enriquecida	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro, derivado de β -caseínas y κ -caseínas	Reducción de la presión sanguínea	Valio Oy, Finlandia
BioZate	proteína de suero hidrolizada	B-fragmentos de lacto globulina	Reducción de la presión sanguínea	Davisco, EEUU
BioPURE -GMP	Proteína de suero	K-caseína f(106-169)	Prevención de caries	Davisco, EEUU

		(glicomacropéptido)	dentales, influye en la coagulación de la sangre, prevención de virus y bacterias	
PRODIE T F2000/lactium	Bebida de leche sabor a confite, capsulas	α x1-caseína f(91-100) (Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu-Glu-Gln-Leu-Leu-Arg)	Reduce los efectos del estrese	Ingredia, Francia
Festivo	Queso duro fermentado bajo en grasa	α x1-caseína f(1-6), (1-7), (1-9)	Ninguna propiedad de la salud	MTT Investigación agroalimentaria Finlandia
Péptido cisteína	Ingrediente/hidrolizado	Proteína de leche – derivada péptido	Ayuda a elevar el nivel de energía y dormir	DMV internacional de Países bajos
C12	Ingrediente/hidrolizado	Péptido derivado de la caseína	Reducción de la presión sanguínea	DMV internacional de Países bajos
Capolac	Ingrediente	Péptido fosforo de caseína	Ayuda a la absorción de minerales	Arla ingredientes alimentos, Suecia
PeptoPro	Ingrediente/hidrolizado	Péptido	Mejora el	DSM

	hidrolizado	derivado de la caseína	rendimiento deportivo y la recuperación muscular	especialistas de comida, Países bajos
Alfa Vivinal	Ingrediente/ hidrolizado	Péptido derivado del suero	Ayuda a la relajación y a dormir	Borculo Domo Ingredients (BDI), Países bajos
Recaldent	Chicle	caseína de calcio peptona - fosfato de calcio	Anti caries	Cadbury Adams, EEUU

Fuente: León et al., 2011.

Tabla 6. Alimentos funcionales con péptidos biológicamente activos disponibles en el mercado.

Nombre	Fabricante	Tipo de alimento	Péptidos bioactivos	Alegación de salud
Calpis AMELL S (Japón) o Calpico (Europa)	Calpis Co, Japón	Leche amarga	VPP, IPP procedente de β - y κ -CN	
Evolus	Valio, Finlandia	Leche fermentada enriquecida en calcio	VPP, IPP procedente de β - y κ -CN	Hipotensores
BioZate	Davisco, EEUU	Hidrolizado de β -LG	Péptidos de suero	
C12 Peption	DMV,	Ingrediente	Dodecapéptid	

	Holanda		o derivado de la caseína FFV APFPEVFGK	
Peptide Soup	NIPPON, Japón	Sopa	Péptidos derivados del bonito	
Casein DP Peptio Drink	Kanebo, Japón	Refresco	Dodecapéptid o derivado de la caseína FFV APFPEVFGK	
BioPURE-GMP	Davisco, EEUU	Hidrolizado proteico de suero	Glicomacropéptido	Anticariogénico, antimicrobiano, antitrombótico
CholesreBLOCK	Kyowa Hakko, Japón	Bebida en polvo	Péptidos de soja enlazados a fosfolípidos	Hipocolesterolémicos
CSPHP ProDiet F200	Ingredia, Francia	Bebida de leche, confitería	s1-CN(f91-100): YLGYLEQLL R	Reductores de estrés
Capolac	Aria Foods, Dinamarca	Ingrediente	CPP	
Tekkotsu Inryou	Suntory, Japón	Refresco	CPP	
Kotsu calcium	Asahi, Japón	Refresco	CPP	Mejora la absorción mineral
CE90CPP	DMV,	Ingrediente	CPP(20%)	

	Holanda			
Glutamin peptide	DMV, Holanda	Hidrolizado proteico de	Péptidos ricos en glutamina	
WGE80GPA		leche		Inmunomoduladores
WGE80GPN				
WGE80GPU				

Fuente: Herrera, Betancur, Rubi, y Campos, 2014.

Conclusiones

El suministro de péptidos bioactivos puede plantearse como una opción de tratamiento seguro y económico para ciertas patologías. La investigación adicional en la biodisponibilidad de estos péptidos puede conducir al desarrollo de más medicamentos y alimentos eficaces, que, en el futuro, pueden resultar novedosas alternativas a las opciones de tratamiento actuales. Aunque existen algunos productos comerciales, estos se han lanzado al mercado afirmando actividad biológica específica y un efecto terapéutico, las principales entidades regulatorias siguen colocando trabas a la aprobación de claims saludables por la dificultad que se presenta vincular los estudios en personas, la adición de péptidos bioactivos y el efecto sobre la salud.

Los avances en métodos analíticos como los cromatográficos han aumentado el estudio de fuentes de diversos compuestos tales como los péptidos bioactivos, los cuales han sido identificados en fuentes animales como vegetales; y aunque se ha avanzado en métodos de aislamiento, purificación e identificación; existe la necesidad de desarrollar estos métodos para procesos de producción a escala industrial. Adicional a la parte química y a las pruebas in vitro aún se desconocen muchas de las rutas de acción de los péptidos bioactivos a nivel in vivo, se hace entonces necesario un mayor estudio que permita explicar la importancia fisiológica de estos compuestos en la dieta para humanos y de esta manera, establecer modelos biológicos que permitan aislar, caracterizar y determinar mecanismos de acción, tanto in vivo como in vitro. Son útiles no solo para la relación alimento-efecto sino también para pensar en otras formas de tratar patologías como: diabetes, hipertensión, obesidad, síndrome metabólico y cáncer.

Referencias

- Alvarado, C., & Guerra, M. (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 23(1), 42–49.
- Antoine, E. M., & De Souza, C. H. (2007). Study by differential scanning calorimetry of the thermal stability of whey proteins concentrate. *Biotechnology*, 6(3), 431–435.
- Borja, J. (2014). Obtención de péptidos bioactivos de *Lupinus mutabilis* (“ tarwi ”) mediante proteasas de *Bacillus* sp. (Tesis de pregrado), Lima, Perú.
- Butylina, S., Luque, S., & Nyström, M. (2006). Fractionation of whey-derived peptides using a combination of ultrafiltration and nanofiltration. *Journal of Membrane Science*, 280(1-2), 418–426. <http://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.01.046>
- Carrasco, C. A., & Guerra, M. (2010). Lactosuero como fuente de péptidos bioactivos. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 23(1), 42–49.
- Carrillo, W., Vilcacundo, R., & Carpio, C. (2015). Compuestos bioactivos derivados de amaranto y quinua. *Actualización En Nutrición*, 16, 18–22.
- Casal, E., Montilla, A., Moreno, F. J., Olano, A., & Corzo, N. (2006). Use of chitosan for selective removal of beta-lactoglobulin from whey. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1384–9.
- Darewicz, M., Dziuba, J., & Minkiewicz, P. (2007). Computational characterisation and identification of peptides for in silico detection of potentially celiac-toxic proteins. *Food Science and Technology International*, 13(2), 125–133.
- de la Fuente, M. A., Singh, H., & Hemar, Y. (2002). Recent advances in the

characterisation of heat-induced aggregates and intermediates of whey proteins. *Trends in Food Science y Technology*, 13(8), 262–274.

Dominguez, K., Cruz, A., Gonzalez, H., Gómez, L., García, M., & Rodríguez, G. (2014). El Efecto antihipertensivo de las leches fermentadas. *Asociación Argentina de Microbiología*, 46(1), 58–65.

Dziuba, J., Niklewicz, M., Iwaniak, A., Darewicz, M., & Minkiewicz, P. (2004). Bioinformatic-aided prediction for release possibilities of bioactive peptides from plant proteins. *Acta Alimentaria*, 33(3), 227–235.

Gelman, P. L., Herrera, N. E. G., Ortega, M. E. M., Romero, L. P., Santillán, C. T., Juárez, A. S., & Palma, B. A. (2010). Endomorphin peptides: pharmacological and functional implications of these opioid peptides in the brain of mammals. *Salud Mental*, 33(2), 179.

Gibbs, B. F., Zougman, A., Masse, R., & Mulligan, C. (2004). Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. *Food Research International*, 37(2), 123–131.

Gil, Á. (2010). *Tratado de nutrición*. Segunda Edición. Madrid. Editorial Medica Panamericana.

Gobbetti, M., Stepaniak, L., De Angelis, M., Corsetti, A., & Di Cagno, R. (2002). Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42 (3), 223–239.

Gómez, J. Á., Taborda, G., Amigo, L., Recio, I., & Ramos, M. (2006). Identification of

- ACE-inhibitory peptides in different Spanish cheeses by tandem mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 223 (5), 595–601.
- González, E., Marina, M. L., & García, M. C. (2014). Plum (*Prunus Domestica* L .) by-product as a new and cheap source of bioactive peptides : Extraction method and peptides characterization. *Journal of Functional Foods*, 11, 428–437.
- Gonzalez, L., Jiménez, J., Cruz, A., Rodríguez, G., Gómez, L., & García, M. (2011). Liberación de péptidos bioactivos por bacterias lacticas en leches fermentadas comerciales. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(2), 179–188.
- Hartmann, R., & Meisel, H. (2007). Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 163–9.
- Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Ramos, M., & Recio, I. (2004). Application of high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry to the identification of biologically active peptides produced by milk fermentation and simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Chromatography A*, 1049(1-2), 107–114.
- Herrera, F., Betancur, D., Rubi, M., & Campos, S. (2014). Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad ; péptidos biológicamente activos. Potential in preventing pathologies related with overweight and obesity ; *Nutrición Hospitalaria*, 29(1), 10–20.
- Hong, F., Ming, L., Yi, S., Zhanxia, L., Yongquan, W., & Chi, L. (2008). The antihypertensive effect of peptides: a novel alternative to drugs? *Peptides*, 29(6), 1062–71.

- Jakubczyk, A., Karaś, M., Baraniak, B., & Pietrzak, M. (2013). The impact of fermentation and in vitro digestion on formation angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from pea proteins. *Food Chemistry*, 141(4), 3774–80.
- Kadam, S. U., Tiwari, B. K., Alvarez, C., & Donnell, C. P. O. (2015). Ultrasound for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. *Trends in Food Science y Technology*, 46(1), 60-67
- Kapel, R., Klingenberg, F., Framboisier, X., Dhulster, P., & Marc, I. (2011). An original use of size exclusion-HPLC for predicting the performances of batch ultrafiltration implemented to enrich a complex protein hydrolysate in a targeted bioactive peptide. *Journal of Membrane Science*, 383(1-2), 26–34.
- Karelín, A. A., Blishchenko, E. Y., & Ivanov, V. T. (1998). A novel system of peptidergic regulation. *FEBS Letters*, 428(1-2), 7–12. [http://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00486-4](http://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00486-4)
- Kitts, D. & Weiler, K. (2003). Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 1309–1323.
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177–187.
- Korhonen, H. & Pihlanto, A. (2003). Food-derived Bioactive Peptides - Opportunities for Designing Future Foods. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16), 1297–1308.
- León, E. ., Jiménez, C., & Davila, G. (2011). *Péptidos Bioactivos de Fuentes Vegetales:*

Un nuevo ingrediente para alimentos funcionales. (O. Science, Ed.). Barcelona.

Li-Chan, E. C. (2015). Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 1, 28–37.

Maruyama, S., Miyoshi, S., Osa, T., & Tanaka, H. (1992). Prolyl endopeptidase inhibitory activity of peptides in the repeated sequence of various proline-rich proteins. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 74(3), 145–148.

Mehra, R., & Kelly, P. M. (2004). Whey protein fractionation using cascade membrane filtration. *Bulletin-International Dairy Federation*, 389, 40–44.

Meisel, H. (1998). Overview on Milk Protein-derived Peptides. *International Dairy Journal*, 8(5-6), 363–373.

Miguel, M., Alvarez, Y., López, R., Alonso, M., & Salaices, M. (2007). Vasodilator effects of peptides derived from egg white proteins. *Regulatory Peptides*, 140, 131–135.

Miguel, M., Muguerza, B., Sánchez, E., Delgado, M. A., Recio, I., Ramos, M., & Aleixandre, A. (2006). Efecto producido por la ingesta crónica de leche fermentada por *Enterococcus faecalis* CECT 5728 en ratas hipertensas. *Hipertensión*, 23 (6), 166–172.

Mulero, J., Zafrilla, P., Martínez, A. M., Leal, M., & Alemán, A. (2011). Péptidos bioactivos. *Clin Invest Arterioscl*, 23 (5), 219–227.

Muro, C., Riera, F., & Fernández, A. (2013). Advancements in the fractionation of milk biopeptides by means of membrane processes. *Bioactive Food Peptides in Health*

and Disease. InTech, Rijeka, 241–266.

Nongonierma, A. B., & Fitzgerald, R. J. (2015). The scientific evidence for the role of milk protein-derived bioactive peptides in humans : A Review. *Journal of Functional Foods, 17*, 640–656.

Nooshkam, M., & Madadlou, A. (2016). Maillard conjugation of lactulose with potentially bioactive peptides. *Food Chemistry, 192*, 831–836.

Orosco, E. (2013). Actividad biológica de péptidos de amaranto obtenidos por acción de microorganismos (tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina., 0–68.

Pearce, R. J. (1983). Analysis of whey proteins by high performance liquid chromatography. *Australian Journal of Dairy Technology.*

Pihlanto-Leppälä, A., Rokka, T., & Korhonen, H. (1998). Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Bovine Milk Proteins. *International Dairy Journal, 8* (4), 325–331.

Pouliot, Y. (2008). Membrane processes in dairy technology—From a simple idea to worldwide panacea. *International Dairy Journal, 18* (7), 735–740.

Pouliot, Y., Gauthier, S. F., Groleau, P. E., Mine, Y., & Shahidi, F. (2006). Membrane-based fractionation and purification strategies for bioactive peptides. *Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease, 639–658.*

Ramirez, A., Reynoso, R., Tejero, M., León, F., & Loarca, G. (2015). Potential role of bioactive compounds of *Phaseolus vulgaris* L. on lipids-lowering mechanisms. *Food*

Research International.

- Righetti, P. G., Nembri, F., Bossi, A., & Mortarino, M. (1997). Continuous Enzymatic Hydrolysis of β - Casein and Isoelectric Collection of Some of the Biologically Active Peptides in an Electric Field. *Biotechnology Progress*, 13(3), 258–264.
- Rodríguez, G., Rentería, A., Rodríguez, J., & Chavez, A. (2014). Biopéptidos en la leche y sus derivados: funcionamiento y beneficios a la salud. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 1(3), 281–294.
- Rodríguez, G., Rentería, A., Rodríguez, J., & Chávez, A. (2014). Biopéptidos en la leche y sus derivados: funcionamiento y beneficios a la salud. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 1(3), 281–294.
- Ruiz, P. (2013). Efecto antihipertensivo, mediante inhibición de la enzima convertora de angiotensina I, de péptidos derivados de lactoferrina bovina y péptidos diseñados racionalmente (Tesis doctoral no publicada). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. <http://doi:10.4995/Thesis/10251/31123>.
- Saavedra, L., Hebert, E. M., Minahk, C., & Ferranti, P. (2013). An overview of “ omic” analytical methods applied in bioactive peptide studies. *Food Reserch International*, 54(1), 925–934.
- Sabeena Farvin, K. H., Baron, C. P., Nielsen, N. S., Otte, J., & Jacobsen, C. (2010). Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 2 – Characterisation of peptide fractions. *Food Chemistry*, 123(4), 1090–1097.
- Sarmadi, B. H., & Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: A review.

Peptides, 31(10), 1949–1956.

Segura, M., Guerrero, L., & Betancur, D. (2013). *Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias*. *Omnia Science*. Barcelona.

Seppo, L., Jauhiainen, T., Poussa, T. & Korpela, R. (2003). A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure–lowering effect in hypertensive subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(2), 326–330.

Seward, N. & Jakubke, H. D. (2002). *Peptide: Chemistry and Biology*. <http://doi:10.1002/9783527626038>

Shankar, J., Yadav, S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D. & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*.

Sharma, A. K., & Sharma, M. K. (2009). Plants as bioreactors: Recent developments and emerging opportunities. *Biotechnology Advances*, 27(6), 811–32.

Singh, B. P., Vij, S., & Hati, S. (2014). Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*, 54, 171–9.

Suarez, G., Burgos, A., & Ezquerro, J. (2012). Bioactive Peptides and Depsipeptides with Anticancer Potential : Sources from Marine Animals. *Marine Drugs*, 963–986.

Tuomilehto, J., Lindström, J., Hyyrynen, J., Korpela, R., Karhunen, M. L., Mikkola, L., & Nissinen, A. (2004). Effect of ingesting sour milk fermented using *Lactobacillus helveticus* bacteria producing tripeptides on blood pressure in subjects with mild hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 18(11), 795–802.

- Vargas, C., De, T. G., Bonilla, J., & Lourenc, G. (2015). ScienceDirect Recent patents on the application of bioactive compounds in food : a short review , o da Aparecida Makishi and Paulo Jose. *Current Opinion in Food Science*, 5, 1–7.
- Vioque, J., Pedroche, J., Yust, M., Lqari, H., Megías, C., Girón, J., & Millán, F. (2006). Bioactive peptides in storage plant proteins. *Brazilian Journal of Food Technology*, 3, 99–102.
- Wada, Y., & Lönnerdal, B. (2014). ScienceDirect Bioactive peptides derived from human milk proteins — mechanisms of action. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(5), 503–514. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.10.012>
- Walstra, P., & Van Vliet, T. (2010). Quimica de Alimentos de Fennema. In Artmed (Ed.), *Quimica de Alimentos de Fennema* (pp. 611–660).
- Wang, W., Mejia, D., & Gonzalez, E. (2005). A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(4), 63–78.
- Yadav, J. S. S., Bezawada, J., Elharche, S., Yan, S., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2014). Simultaneous single-cell protein production and COD removal with characterization of residual protein and intermediate metabolites during whey fermentation by *K. marxianus*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(6), 1017–1029.
- Yoshikawa, M., Fujita, H., Matoba, N., Takenaka, Y., Yamamoto, T., Yamauchi, R., & Takahata, K. (2000). Bioactive peptides derived from food proteins preventing lifestyle-related diseases. *Biofactors*, 12(1-4), 143–146.