

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA



TRABAJO DE FIN DE GRADO

PÉPTIDOS BIOACTIVOS EN LA LECHE DE CONSUMO

Autor: Rocío Madurga Cerezo

Tutor: María José Villanueva Suarez

Departamento: Nutrición y Bromatología II

Convocatoria: Junio

ÍNDICE

RESUMEN	
3	
1. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES	
3	
1.1. Antecedentes	
1.2. Péptidos bioactivos	
1.2.1. ¿Qué son?	
1.2.2. ¿Cómo se obtienen?	
1.3. La leche como fuente de péptidos bioactivos	
1.3.1. Composición proteica de la leche	
1.3.2. Actividad biológica de los péptidos de la leche	
2. OBJETIVOS	13
3. MATERIAL	Y
MÉTODOS	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1. Péptidos activos en la leche de consumo	
4.2. Péptidos activos en la leche humana	
5. CONCLUSIONES	19
6. BIBLIOGRAFÍA	19

RESUMEN

En los últimos años el concepto de alimentación ha cambiado de manera sustancial debido a la evolución de los hábitos alimenticios y necesidades nutricionales del ser humano. Actualmente no sólo se espera que los alimentos que consumimos sean altamente nutritivos, sino que también tengan efectos beneficiosos sobre nuestra salud. En estos términos, se puede decir que poseen un papel preventivo, ya que reducen los factores de riesgo que pueden provocar una enfermedad. La leche se ha utilizado como base en nuestra alimentación siendo el primer alimento que ingerimos nada más nacer. La identificación de péptidos bioactivos, liberados por proteólisis durante el tránsito gastrointestinal o durante el procesamiento de los alimentos procedentes de las proteínas lácteas, está siendo objeto de numerosos estudios científicos. Las actividades biológicas más descritas para estos péptidos son muy diversas, así como: antimicrobiana, antihipertensiva, antitrombótica, hipocolesteromiante, opioide, inmunomoduladora, quelante de metales, entre otras.

Los resultados de dichas investigaciones ponen en evidencia los efectos beneficiosos de dichos biopéptidos al relacionarlos con la salud y la importancia de fomentar el consumo regular de leche como parte de una dieta variada y equilibrada.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1.1. Antecedentes

En los últimos años, los alimentos funcionales y los componentes bioactivos en los alimentos son objeto de un gran número de proyectos científicos de alimentos, nutricionistas, profesionales de la salud y consumidores en general. Un alimento funcional es aquel que, además de aportar nutrientes, aportan efectos beneficiosos al organismo de manera que proporcionan un mejor estado de salud y bienestar¹. Este tipo de alimentos pueden ser similares en apariencia a los alimentos convencionales, al consumirse como parte de una dieta normal pero además tienen varios beneficios fisiológicos y pueden reducir el riesgo de enfermedades crónicas más allá de las funciones nutricionales básicas.

La mayoría de las proteínas de la leche presentan unas propiedades bioactivas latentes, cuya actividad potencial se manifiesta tras la digestión proteolítica donde se liberan secuencias de aminoácidos que pueden llegar a identificarse como péptidos bioactivos². La actividad de dichos péptidos está relacionada con la composición y secuencia, así como con las características físico-químicas: hidrofobicidad, carga molecular, o cadenas laterales de los aminoácidos que los componen³.

El empleo de los péptidos bioactivos como ingredientes de los alimentos funcionales ha atraído la atención de los investigadores, debido a la variedad de propiedades biológicas atribuidas a dichos péptidos. Entre las más estudiadas, en la actualidad, se encuentran las siguientes: antimicrobiana, antihipertensiva, antitrombótica, hipocolesteromiante, opioide, inmunomoduladora, antioxidante, anticitotóxica, quelante de metales, entre otras. Es interesante señalar que algunos péptidos pueden ejercer diversas bioactividades, por lo que algunos se consideran multifuncionales⁴. Estas funciones de los péptidos derivados de las proteínas lácteas han sido revisadas por muchos investigadores como Park Y.W², Baró L⁶ o Mulero Cánovas J⁹, entre otros.

Los péptidos bioactivos pueden llegar a los consumidores mediante los alimentos convencionales, suplementos dietéticos, alimentos funcionales o alimentos medicamento, si bien su ingesta no sustituye el mantener unos hábitos alimentarios saludables.

1.2. Péptidos bioactivos

1.2.1. ¿Qué son?

Los péptidos bioactivos se han definido como fragmentos específicos de proteínas que tienen una influencia positiva en las funciones fisiológicas y metabólicas o en las condiciones del organismo y pueden tener efectos beneficiosos en la salud.

Estos péptidos se refieren a secuencias de aminoácidos inactivas cuando se localizan en el interior de la proteína precursora, pero que ejercen determinadas actividades biológicas tras su liberación mediante hidrólisis química o enzimática que puede tener lugar durante el procesado industrial de los alimentos o bien, durante la digestión gastrointestinal. Generalmente, son péptidos de pequeño tamaño, entre 3 y 20 aminoácidos, algunos de los cuales se incluyen la tabla 2 y cuyas actividades

biológicas se comentarán en el apartado 1.3.2. En dicha tabla se observa que en torno al 70% de los fragmentos presenta una secuencia de aminoácidos superior a 5.

Últimamente, han aumentado los estudios científicos sobre los diferentes aspectos de estos fragmentos específicos de las proteínas, como sus propiedades funcionales, mecanismos de acción, biodisponibilidad de los mismos y posibles fuentes alimentarias. Se ha comprobado que los biopéptidos pueden atravesar el epitelio intestinal y alcanzar los tejidos periféricos a través de la circulación sistemática, pudiendo alterar el metabolismo celular, actuar como vasorregulador, inductor hormonal, neurotransmisor o como factor de crecimiento, lo que sugiere su uso potencial como ingredientes de alimentos funcionales⁶.

Toda fuente de proteínas es susceptible de aportar péptidos activos, sin embargo, este trabajo se ha centrado en las proteínas procedentes de la leche de vaca como una de las especies de origen animal más importantes, así como en la leche materna.

1.2.2. ¿Cómo se obtienen?

El análisis del origen y disponibilidad de los péptidos bioactivos es fundamental a la hora de valorar la leche como alimento funcional con propiedades fisiológicas.

La obtención de péptidos bioactivos a partir de las proteínas de la leche puede llevarse a cabo mediante diferentes métodos:

- *Hidrólisis enzimática en la digestión*

Los péptidos, una vez ingeridos, sufren la acción de las enzimas proteolíticas y de las peptidasas antes de ser absorbidos. La mayoría de los péptidos de más de tres aminoácidos son hidrolizados extracelularmente por estas enzimas, mientras que los dipéptidos y tripéptidos pueden ser absorbidos intactos a través de la mucosa intestinal y posteriormente ser hidrolizados por dipeptidasas y tripeptidasa⁶.

Sin embargo, existen algunas evidencias de que péptidos con actividad antihipertensiva pueden absorberse en el tracto digestivo y ser transportados por el torrente circulatorio sin haber sido hidrolizados por las proteasas sanguíneas.

Por otro lado, algunos péptidos podrían no absorberse en el tracto digestivo, ejerciendo una función directa en el lumen intestinal, o bien podrían

ejercer su función mediante la interacción con receptores que se encuentran en la pared del intestino.

Hay estudios en humanos que demuestran el paso a través del epitelio intestinal de péptidos con la característica de bloquear los terminales amino, como por ejemplo la hormona luteinizante (LHR), que gracias a ello posee resistencia al ataque de peptidasas.

- Durante la elaboración industrial de alimentos

Las técnicas de elaboración de alimentos, en muchos casos, favorecen la obtención de aminoácidos libres, así como de cadenas con distinto número de aminoácidos denominados péptidos potencialmente bioactivos. Así, los biopéptidos se liberan de las proteínas de la leche durante la fermentación de la leche y la maduración de los quesos, lo que enriquece los productos como consecuencia de la acción de los coagulantes o las enzimas microbianas². Esto significa que, como consecuencia de la elaboración tradicional de dichos alimentos, aunque científicamente se desconociese, se producían componentes bioactivos.

En la actualidad, debido al interés de los biopéptidos procedentes de las proteínas lácteas, se han diseñado nuevas tecnologías como la microfiltración⁶, que permiten la separación de caseínas micelares de las proteínas del suero lácteo debido a la gran diferencia de tamaño molecular que existe entre ambas. Esta técnica resulta de gran interés para la obtención de ingredientes o alimentos con actividad biológica.

- Hidrólisis enzimática in vitro

En los últimos años se han desarrollado técnicas para la obtención de nuevos péptidos bioactivos a partir de proteínas lácteas mediante digestión enzimática *in vitro*, empleando enzimas proteolíticas de origen animal como la pepsina, tripsina y quimotripsina de origen vegetal, como la papína y la bromelaína y de origen microbiano, como la proteinasa K o la termolisina⁷. Estas enzimas, procedentes de bacterias lácticas como *Lactobacillus helveticus* han permitido la obtención de péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) derivados de las caseínas⁷.

1.3. La leche como fuente de péptidos bioactivos

1.3.1. Composición proteica de la leche

El valor nutricional de la leche es reconocido, especialmente por su proteína de alta calidad, particularmente rica en aminoácidos esenciales, junto con el resto de sus componentes. En este contexto de la calidad nutricional de la leche, se puede mencionar además su calidad funcional, y concretamente debido a los péptidos bioactivos procedentes de las diferentes proteínas que contiene, y que se comentarán brevemente a continuación.

	MATERIAS NITROGENADAS		
	Totales (g)	Caseína (%)	No proteicas (%)
Leche humana	1,5	28	17
Yegua	2,2	50	--
Burra	1,8	45	--
Vaca	3,5	78	5
Cabra	4	75	7
Oveja	6	77	5
Búfala	4,8	80	--
Reno	10,4	80	--
Cerda	6	50	8

Tabla n°1: Composición analítica por 100g. de leche de diferentes animales

En la tabla anterior se reflejan los valores de las proteínas en función de la especie, si bien también influyen otros factores como la raza, el tipo de alimentación, el momento del ordeño, entre otros. Asimismo se comparan dichos tipos de leche de origen animal con la leche materna.

Fundamentalmente, existen dos tipos de proteínas: las caseínas y las proteínas del suero lácteo.

- Caseínas

Representan el 80% de las proteínas en leche de vaca. Se trata de un grupo de proteínas que permanecen insolubles a pH 4,6 y 20°C. Presentan un carácter ácido por ser ricas en ácido glutámico y aspártico. Debido a su carácter hidrofóbico, junto a la distribución de las cargas, las caseínas se unen entre sí formando micelas, compuestas por un 92% de proteína y un 8% de sales inorgánicas, generalmente fosfato cálcico¹³. Dentro de las caseínas, se distinguen cuatro tipos distintos de cadenas proteicas^{7,8}:

- *Caseína- α 1 (as1-CN)*. Hay distintas variantes genéticas de la α 1-CN que se diferencian por el grado de fosforilación y las diferentes sustituciones de

aminoácidos en su estructura. Consta además de 3 zonas hidrofóbicas, comprendidas entre los residuos 1-44, 30-113 y 132-199 y una parte muy fosforilada (residuos 41-80). Esta localización de las cargas de manera irregular, dota a la α 1-CN de un comportamiento dipolar.

- *Caseína- α 2* (α 2-CN). Se trata de la proteína más hidrofílica de las caseínas, con entre 10 y 13 grupos fosfato y dominios con altas cargas netas.
- *Caseína- β* (β -CN). Es la más hidrófoba de las proteínas. Consta de residuos de fosfoserina en el extremo N-terminal y presenta un fuerte carácter hidrofóbico en la mitad del extremo C-terminal. Gracias a esta diferencia de hidrofobicidad entre los dos dominios hace que esta proteína sea altamente anfipática.
- *Caseína- κ* (κ -CN). Posee carácter anfipolar, al igual que la caseína β , contando con un segmento N-terminal hidrofóbico y poco soluble, que contiene los dos residuos cisteinil (Cis 11 y Cis 88); y la parte C-terminal, de alto carácter hidrofílico. Entre los residuos Cis 11 y Cis 88 se establece una unión disulfurica bajo la acción de una enzima denominada disulfihidroxilasa, confiriendo una estructura mucho más ordenada y estable.

- *Proteínas solubles o del suero lácteo*

Son proteínas que permanecen en la fase líquida tras la precipitación de las caseínas a pH 4,6. La composición de aminoácidos en estas proteínas es diferente a la de las caseínas, ya que presentan menor cantidad de ácido glutámico y prolina, aunque son más ricas en cisteína y metionina. Se trata de proteínas compactas, globulares y sensibles a las altas temperaturas. En estado natural no se asocian con las caseínas, aunque en las leches tratadas térmicamente una parte de estas proteínas sí que se encuentran interaccionando con aquellas. Las proteínas del suero de la leche más importantes son^{7,9}:

- *β -lactoglobulina* (β -Lg). Representa el 60% del total de las proteínas del suero de la leche de vaca. Consiste en una estructura globular con secuencias polares y no polares que producen interacciones intramoleculares provocando la formación de puentes disulfuro.
- *α -lactoalbúmina* (α -La). Representa el 25% de las proteínas del suero. Presenta una mayor resistencia al calor que β -lactoglobulina. La desnaturalización de α -La es reversible si la temperatura es inferior a 75°C.

- *Seroalbúmina (BSA)*. Se encuentra en una concentración menor que las proteínas anteriores. Contiene 17 puentes disulfuro y un grupo tiol libre. Se trata de una proteína de baja estabilidad térmica, por lo que se desnatura fácilmente. Sin embargo, se une a moléculas, principalmente ácidos grasos, que le proporcionan protección frente a ataques enzimáticos y desnaturación térmica.
- *Inmunoglobulinas (Ig)*. Hay cinco clases de inmunoglobulinas, siendo la Ig G la mayoritaria. Representa el 80% del total de las Ig presentes en la leche y favorece la transferencia de inmunidad pasiva al neonato. Está compuesta por cuatro subunidades unidas por puentes disulfuro.
- Otras proteínas minoritarias pertenecientes a este grupo son la lactoferrina (Lf) y enzimas como la plasmina y la lactoperoxidasa.

La leche de vaca ha sido la principal fuente de leche y productos lácteos en los países desarrollados, especialmente en el mundo occidental, aunque exista una población mundial superior que bebe leche de cabra que de cualquier otra especie.

1.3.2. Actividad biológica de los péptidos de la leche

Varios péptidos derivados de la leche han demostrado propiedades multifuncionales, es decir que ciertas secuencias peptídicas específicas tienen dos o más actividades fisiológicas distintas. En la siguiente tabla observamos los principales péptidos bioactivos obtenidos por hidrólisis de las proteínas que poseen actividad tanto opiácea como antihipertensiva y antitrombótica:

	PEPTIDOS BIOACTIVOS	FRAGMENTO	BIOACTIVIDAD
α-caseína	α - casomorfina	Arg-Tyr-Leu-Gln-Tyr-Ley-Glu	Actividad opiácea
	α -casokinina-5	Ph-Phe-Val-Pro-Tyr-Cln-Arg	Antihipertensión
β-caseína	β -casokinina-7	Ala-Val-Pro-Tyr-Gln-Arg	Antihipertensión
K-caseína	Casoplatelina	Met-Ala-Ile-Pro-Pro-Lis-Lis-Asn-Gln-Asp-Lys	Actividad antitrombótica
	Casoxina	Tyr-Ile-Pro-Gln-Tyr-Val-Leu-Ser-Arg	Antagonista opiáceo

	Péptido inhibidor de trombina	Lys-Asp-Gln-Asp-Lys	Actividad antitrombótica
Lactoferrina	Lactoferroxina	Tyr-Leu-Gly-Ser-Gly-Tyr-OCH ₃	Antagonista opiáceo
	Péptido inhibidor de trombina	Lys-Arg-Asp-Ser-Glu-Arg-Lys-Arg-Asp-Ser	Actividad antitrombótica
α-lactoalbúmina	A-lactorfina	Tyr-Gly-Leu-Phe	Antihipertensión
β-lactoglobulina	β-lactorfina	Tyr-Leu-Leu-Phe-NH ₂	Actividad opiácea
		Ala-Leu-Phe-Met-His-Ile-Arg	Antihipertensión

Tabla nº2: Péptidos bioactivos y su actividad biológica

En los últimos tiempos, se ha estudiado con gran interés el efecto biológico que los péptidos de la leche pueden ejercer sobre el organismo, entre los que destacan los que se comentan a continuación:

- Actividad opiácea sobre el sistema digestivo

La β-casomorfina es uno de los péptidos bioactivos relacionados con la caseína más importante. Se trata de una exorfina, es decir, un péptido opiáceo de origen dietético⁹. La acción opiácea se debe, en parte, a su estructura. Son péptidos de 4 - 10 aminoácidos, derivados de la α y β caseínas, que tienen en común con las endorfinas (péptidos opiáceos endógenos) la tirosina en el extremo amino terminal, así como aminoácidos aromáticos como fenilalanina que ayudan a la fijación con el receptor opiáceo⁷.

Una vez ingeridos se unen a los receptores del lumen intestinal, ejerciendo una actividad agonista opiácea. Actúan como moduladores exógenos de la motilidad y de la permeabilidad intestinal, siendo capaces de disminuir la motilidad intestinal y secreción gástrica. Por consiguiente, gracias a esta actividad se abre un amplio campo de aplicaciones en el tratamiento y prevención de desórdenes gástricos como la diarrea⁶.

Es importante destacar la acción que provoca en los neonatos. Dada la inmadurez y la alta permeabilidad de su barrera intestinal, los péptidos con actividad opiácea alcanzan fácilmente la circulación sistémica, pudiendo así actuar sobre receptores del SNC⁸. Las consecuencias son, por tanto, sedación, somnolencia y analgesia, entre otros efectos.

Conjuntamente, se han estudiado péptidos de actividad opiácea antagonista, como las casoxinas¹⁰, que proceden de la caseína κ, y lactoferroxinas, que derivan de la lactoferrina. Este grupo de péptidos suprimen la actividad agonista de las

casomorfina, antagonizando el efecto de inhibición de la motilidad gástrica. Sin embargo, dado que las α y β caseínas se encuentran en mayor proporción, parece que la acción opiácea es dominante.

- Actividad antihipertensiva sobre el sistema cardiovascular

Los péptidos ejercen una actividad antihipertensiva gracias a la inhibición de la enzima de conversión de la angiotensina (ECA)⁶. El sistema de renina – angiotensina consiste en una cascada de interacciones entre enzimas y sustratos que finaliza con la síntesis de angiotensina II. Gracias a la enzima convertidora de angiotensina, la angiotensina I pasa a angiotensina II, que tiene una acción vasoconstrictora.

Actúa sobre los receptores AT1, que se encuentran en los vasos sanguíneos, adipocitos, riñón, corazón y cerebro. Su acción contrae las arterias incrementando la presión arterial. Este aumento de la presión estimula la secreción de aldosterona, que aumenta la reabsorción de sodio y la secreción de potasio^{9,11}.

Los péptidos de la leche que presentan asimismo esta acción son α -S1 caseína y β -caseína. Esta última es la proteína de la leche con mayor número de fragmentos con actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (iECA)¹². Se ha observado que el aminoácido de prolina se encuentra en las estructuras de los péptidos que demuestran esta actividad, confiriendo resistencia a la hidrólisis de proteasas digestivas.

A continuación, se muestran las actividades iECA de las distintas proteínas de la leche⁹:

PROTEÍNA	FRAGMENTO PEPTÍDICO	*ECA IC ₅₀ μ mol/l
α 1-caseína	f(25-27)	2,0
α 2-caseína	f(174-179)	4,3
β -caseína	f(74-76)	5,0
κ -caseína	f(185-190)	52,0
α -lactoalbúmina	f(104-108)	77,0
β -lactoglobulina	f(142-148)	42,6

Tabla n°3: Actividad iECA de las proteínas de la leche

*ECA IC₅₀: Concentración de péptido que inhibe la actividad de la enzima convertidora de angiotensina al 50%.

- Actividad antitrombótica

El efecto antitrombótico se debe a la similitud de la κ -caseína con la cadena γ del fibrinógeno. Estas secuencias se denominan casoplatelinas¹⁴. Hay estudios *in vitro* que han demostrado la actividad inhibitoria en la agregación plaquetaria de los

péptidos derivados del extremo carboxilo terminal (106-116) de esta caseína, y a su vez, de la unión de la cadena γ del fibrinógeno al receptor de la membrana de las plaquetas. Estas secuencias peptídicas se fijan sobre los receptores de la superficie de las plaquetas impidiendo pues la formación del trombo^{6,7}. A su vez, la lactoferrina posee un fragmento Lys-Arg-Asp-Ser con actividad antitrombótica gracias a otro mecanismo de acción. Inhibe de manera dosis-dependiente la agregación plaquetaria inducida por ADP, como consecuencia de la semejanza de este fragmento con el fibrinógeno⁷.

- Actividad inmunomodulante

Existen péptidos que actúan como inmunomoduladores, alterando la función biológica de algunas proteínas que poseen la actividad de modificar el sistema inmune a través de la proliferación de linfocitos, aumentando la actividad fagocítica de macrófagos, aumentando la síntesis de anticuerpos, estimulando las inmunoglobulinas y regulando las citoquinas¹³. El efecto inmunomodulador ejercido por las proteínas del suero parece que está relacionado con un aumento de glutatión. Este tripéptido es necesario para la actividad y proliferación linfocitaria.

- Actividad antimicrobiana

La carga positiva de ciertos péptidos lácteos podría estar relacionada con un efecto antimicrobiano. Existen aminoácidos básicos en estos péptidos que forman un bucle en forma de α -hélice en el carboxilo terminal. Esto origina canales iónicos en la membrana de los microorganismos provocando una alteración en su permeabilidad y por último la muerte celular. Existe también un efecto inhibitorio sobre los microorganismos mediante la interacción con su material genético, lo que provoca una inhibición de la síntesis de proteínas y de la división celular de microorganismos^{9,10}.

Un ejemplo de actividad antimicrobiana es aquella que ejerce el fragmento f(1-23) de la α_{s1} -CN o también llamado isracidina⁷. Se obtiene por la acción hidrolítica de la quimosina que ejerce una actividad *in vivo* antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Existen a su vez otros fragmentos de distintas caseínas como los derivados de la α_{s2} -CN, cuyo fragmento con actividad antimicrobiana f(165-203), también conocido como la casocidina – I, inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus carnosus*⁷. Se han descrito numerosos fragmentos derivados de las caseínas y proteínas del suero que ejercen esta acción sobre el organismo.

Se ha descrito también la actividad inhibitoria de la lactoferrina frente a la replicación de los virus, como por ejemplo el de la leucemia de células T tipo I, el citomegalovirus, el virus de la hepatitis C o herpes simple⁹.

- Actividad quelante de metales

Existen fragmentos derivados de α_{s1} -CN, α_{s2} -CN y β -CN denominados caseinofosfopéptidos⁷, los cuales contienen secuencias de fosfoserina con dos glutámicos. Gracias a las cadenas con carga negativa es posible la unión de minerales como el calcio⁷. Estos péptidos son capaces de ejercer efectos en la absorción del calcio e incluso de inhibir caries provocadas por la recalcificación dental¹³. Un uso en complementos dietéticos de estos péptidos puede ser beneficioso para las alteraciones dentales o una mala absorción mineral.

Asimismo, se ha comprobado mediante ensayos *in vitro*, una actividad antioxidante ejercida por péptidos de la leche humana. Las caseínas son capaces de quelar hierro y de inhibir la peroxidación lipídica¹³.

2. OBJETIVOS

Los principales objetivos del presente Trabajo Fin de Grado se definen a continuación:

1. Revisar los conocimientos actuales sobre los péptidos activos de la leche de consumo mediante búsqueda bibliográfica.
2. Conocer y comparar los péptidos activos más importantes procedentes de la leche de consumo.
3. Estudiar los mecanismos de acción y los efectos funcionales más importantes para la salud humana de los diferentes péptidos mediante la revisión de publicaciones recientes.
4. Comparar los estudios científicos realizados por los diferentes grupos de investigación sobre el tema de la presente Memoria.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Con el objetivo de recopilar la información actual sobre los péptidos bioactivos procedentes de la leche y, en particular, sus potenciales efectos fisiológicos sobre el organismo humano, se ha realizado una búsqueda, recogida y revisión de información utilizando distintos recursos bibliográficos como:

- Artículos en inglés de las bases de datos *Science Direct* y *Pubmed*.

- Libros y documentos en inglés y español localizados en internet en los que se recogían capítulos referidos al tema tratado en el presente TFG.
- Publicaciones científicas localizadas en Google Scholar.

Para realizar esta búsqueda de artículos y revisiones bibliográficas, se ha empleado el servidor de la Universidad Complutense de Madrid como apoyo para consultar el material bibliográfico. Se ha procurado utilizar como criterio de búsqueda que los artículos hayan sido publicados en los últimos 10-15 años. Para ello se han utilizado principalmente las siguientes palabras clave: *péptidos bioactivos, leche y derivados lácteos, compuestos bioactivos, enfermedad cardiovascular, antioxidante, antihipertensivo, opiáceo*.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Péptidos activos en la leche de consumo

Si bien, los compuestos bioactivos de la leche y los productos lácteos presentan un gran interés y están siendo ampliamente estudiados durante las últimas décadas, especialmente en las leches maternas y bovinas y algunos derivados lácteos, todavía no existen demasiadas publicaciones sobre este tema, en las leches procedentes de otras especies de mamíferos y sus productos lácteos⁴.

Las numerosas y recientes investigaciones han conducido a la identificación de nuevos péptidos bioactivos en la leche y productos lácteos así como al conocimiento más profundo de sus factividades desde diferentes puntos de vista como: bioquímico, fisiológico y nutricional lo que representa un importante potencial de efectos beneficiosos para la salud humana. De todos los efectos beneficiosos que se están investigando, y a los que anteriormente se ha hecho referencia, en la presente discusión vamos a remitirnos a los siguientes:

- Actividad opiácea

Se trata de una de las actividades más conocidas de los biopéptidos, y por tanto de las más estudiadas, al igual que otras que comentaremos más tarde.

Hernández y col.⁷, demostraron que la α -lactorfina procedente de las caseínas, identificado como el fragmento f(50-53), así como la β -lactorfina y la serorfina, reconocidos como los fragmentos f(102-105) y f(399-404) respectivamente, son agonistas opiáceos del receptor opiáceo μ . Torres – Llanez y col.¹⁰ explica los efectos fisiológicos asociados a dicho receptor. Entre ellos están el control de la motilidad intestinal y el comportamiento intestinal.

Ambos autores coinciden en la característica estructural que poseen los agonistas endógenos y exógenos opiáceos, la presencia de Tyr en el extremo amino terminal. Se trata de un aminoácido esencial para la actividad opiácea, ya que su eliminación provoca la pérdida de actividad del péptido. La presencia de otro residuo aromático como Phe o Tyr en la tercera o cuarta posición favorece la fijación del péptido al receptor opiáceo. El aminoácido Pro en la segunda posición es crucial para mantener la orientación de las cadenas de aminoácidos Tyr y Phe⁷.

- Actividad antihipertensiva

Según el estudio realizado por Torres-Llanez y col.¹⁰, los péptidos que muestran actividad antihipertensiva están formados por Val-Pro e Ile-Pro-Pro. Estas secuencias de aminoácidos se encuentran en β - CN y κ - CN. Está información es descrita asimismo en diferentes artículos como Rodríguez-Hernández y col.¹³ y Domínguez González y col.¹². Este último resalta el efecto antihipertensivo de las leches fermentadas, cuyos ensayos se apoyaron en los realizados previamente por Mulero Cánovas y col.⁹. La proteína de la leche con mayor número de fragmentos con actividad inhibitoria de la ECA, es la β -caseína. Estos mismos autores realizaron un estudio en quesos donde observaron la actividad inhibitoria de la ECA después de un proceso de digestión proteásica. Parece ser que la proteólisis que tienen lugar durante la maduración de los quesos podría aumentar la tasa de actividad inhibitoria de la ECA.

Es por eso que, tras lo mencionado es importante destacar la gran actividad iECA que poseen las leches fermentadas, gracias a microorganismos como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* o *Bifidobacterium*¹². Su mayor capacidad de producción de péptidos bioactivos es debido a su sistema proteolítico, aunque se debe resaltar la importancia del pH, de la temperatura y del tiempo de fermentación ya que también determinan el grado de hidrolisis.

- Actividad antitrombótica

Entre la bibliografía consultada, Mulero Cánovas y col.⁹ son los únicos autores que describen el receptor que da lugar a la agregación plaquetaria. El fibrinógeno se une a su receptor, una glucoproteína GPIIb/IIIa de la membrana de las plaquetas, la cual reconoce la secuencia Arg-Gli-Asp del fibrinógeno. Por tanto, los péptidos que presentan dicha secuencia serán capaces de antagonizar la unión del fibrinógeno a la GPIIb/IIIa, dando lugar a la inhibición de la agregación plaquetaria. Asimismo, explica la estructura de la secuencia nombrada. Un grupo guanidino en la cadena

lateral de la Arg y una estructura ácido β - carboxilo de la Asp es lo que le confiere actividad.

- Actividad inmunomodulante

Se han realizado estudios en ratas alimentadas con proteínas del suero lácteo en los que se obtuvo una respuesta inmune cinco veces mayor que en ratas alimentadas con caseínas. Asimismo, se demuestra que dicho incremento estuvo acompañado de un incremento en la producción de glutatión⁷.

El mecanismo de acción de estos péptidos es poco conocido. Hernández Ledesma considera que los péptidos se unen a los receptores opiáceos situados en la membrana de los linfocitos, lo que influye en su capacidad inmunorreactiva. Los péptidos con esta actividad son fragmentos derivados de la α s1-CN, β -CN, κ -CN y α -La. Parece ser que el péptido Tyr-Gly, que procede de los fragmentos f(18-19) y f(50-51) de la α -La y el fragmento f(38-39) de la κ -CN y el péptido Tyr-Gly-Gly, que corresponde al fragmento f(18-20) de la α -La, modulan la producción de linfoquinas *in vitro*. Estos péptidos se están utilizando en inmunoterapia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (SIDA), ya que reducen el progreso de la enfermedad.

- Actividad anticancerígena

Existen numerosos estudios en animales sobre este posible efecto de las proteínas del suero. En uno de ellos se analizó a un grupo de ratones a los que se les alimentó con pienso normal, a otro grupo se les alimentó con proteínas del suero y, por último, a un tercer grupo de ratones con caseína. Transcurrido un mes se encontró una menor incidencia de tumores en el segundo y tercer grupo de ratones. Cuando el experimento llegó a su fin, el grupo de ratones alimentados con proteínas del suero estaban vivos, al contrario que los alimentados con las otras dos dietas, en los que murieron el 33% de los ratones. Por tanto, se estableció que las proteínas lácteas contenían capacidad protectora frente al desarrollo de tumores de colon en ratones. Se sigue estudiando este posible y beneficioso efecto, y existen numerosas hipótesis sobre el mecanismo de acción. La hipótesis más aceptada hasta ahora es que el aumento de las concentraciones de glutatión mediada por las proteínas del suero, ejerce un efecto protector frente al cáncer de colon⁷.

4.2. Péptidos activos en la leche humana

La leche humana contiene elementos imprescindibles para el buen crecimiento del niño, proporcionándole, además de nutrientes, protección e inmunidad. La composición de la leche materna varía según la etapa y el momento de la lactancia, así pues, ésta recibe diferentes nombres^{15,16}:

- *Precolostró*. La leche es rica en proteínas, nitrógeno, inmunoglobulinas, ácidos grasos, magnesio, hierro, sodio y cloro, al contrario que la lactosa, que se encuentra en muy baja concentración. Esto es debido a que el prematuro posee una baja actividad de la enzima lactasa, encargada de hidrolizar la lactosa.
- *Calostro*. Posee β -carotenos, proporcionando al líquido un color amarillento. Su contenido en proteínas es alto, al igual que de vitaminas liposolubles, lactoferrina, *Lactobacillus bifidus*, sodio y zinc, mientras que las grasas, la lactosa y las vitaminas hidrosolubles se encuentran en menores concentraciones. La función más importante del calostro es la inmunidad pasiva que la madre transfiere al niño.
- *Leche de transición*. Aumenta su contenido en lactosa y grasas. Las proteínas e inmunoglobulinas van disminuyendo, al igual que las vitaminas liposolubles.
- *Leche madura*. El 87% de su composición es agua. La lactosa es el principal hidrato de carbono que contiene, y su función en el bebé es importante puesto que va a favorecer el desarrollo de la flora intestinal gracias a su poder acidificante. Posee además grasas, como el colesterol, proteínas, compuestos nitrogenados, minerales y oligoelementos.

	CALOSTRO	LECHE MATERNA	LECHE DE VACA
Agua	87	88	88
Energía (Kcal)	58	70	69
Lactosa	5,3	7,3	4,8
Proteínas totales	2,3	0,9	3,3
Caseína	--	0,25	2,73
Lactoalbúmina	0,16	0,26	0,11
β -lactoglobulina	0	0	0,36
Lactoferrina	0,33	0,17	Trazas

Tabla nº4: Composición del calostro, leche humana madura y leche de vaca (expresado en g/100 mL)

Como se observa en la tabla, la lactoferrina se encuentra en muy baja proporción en la leche de vaca. Esta proteína presente en la leche materna es una de las proteínas más importantes de la leche. Tiene la capacidad de unir dos átomos de hierro y favorece

la absorción del hierro en el intestino¹⁷. En el tracto intestinal del lactante compite con algunas bacterias por el hierro, de forma que los microorganismos no pueden utilizarlo para su crecimiento, inhibiendo la proliferación de bacterias patógenas ya que necesitan este elemento para su multiplicación. Se trata de un efecto bacteriostático. En estudios recientes, se ha determinado un posible efecto bactericida, ya que interacciona con las paredes del microorganismo desestabilizándolas y causando su muerte.

No solo las proteínas son las que presentan efectos beneficiosos para el lactante, sino también los péptidos liberados durante la digestión enzimática. La mucosa intestinal del neonato es más permeable que la del adulto, y, además, la resistencia de los péptidos a la acción proteolítica es también mayor, por lo que pueden atravesar la barrera intestinal y alcanzar la circulación sistémica¹⁹.

La α -lactoalbúmina aparte de ser una fuente de aminoácidos esenciales como el triptófano y la cisteína, presenta actividad prebiótica sobre *Bifidobacterium* y, una vez digerida a nivel intestinal libera péptidos con actividad antimicrobiana, inmunomoduladora y opioide. Entre los péptidos presentes en la leche materna destacan aquellos con actividad opiácea, que ejercen su acción sobre el sistema digestivo (Tabla 5):

PROTEINA	FRAGMENTO	PÉPTIDO
β -caseína	60-70	β -casomorfina
	60-66	β -casomorfina-7
	60-64	β -casomorfina-5
α_{s1} -caseína	90-96	α -caseína exorfina
	90-95	
	91-96	
κ -caseína	33-39	casoxina
	25-34	casoxina c
α -lactoalbúmina	50-53	α -lactorfina
β -lactoglobulina	102-105	β -lactorfina
albúmina sérica	399-404	serorfina

Tabla n°5: Péptidos bioactivos procedentes de las proteínas de la leche

Estos péptidos se unen a sus receptores en el lumen intestinal ejerciendo su actividad de manera local. Reducen el reflejo peristáltico, ya que actúan como moduladores exógenos de la motilidad gastrointestinal, de la permeabilidad intestinal y de la liberación de hormonas intestinales.

Cabe destacar la importancia de la permeabilidad de la mucosa intestinal del lactante, que gracias a ella los péptidos podrían alcanzar la circulación sistémica y llegar al cerebro produciendo un efecto sedante y regulador de la ingesta¹⁹.

5. CONCLUSIONES

1. El mayor número de investigaciones sobre péptidos bioactivos recopiladas en las bases de datos utilizadas recae sobre la leche de vaca, si bien también en otras especies de mamíferos como la de cabra.
2. En cuanto a la funcionalidad de estos compuestos, el efecto mejor estudiado y que ofrece una mayor evidencia científica por los resultados obtenidos (tamaño de muestra, significación...) es la hipertensión.
3. La bibliografía consultada es muy amplia y actual, lo que hace de este trabajo una fuente de información detallada de gran interés.
4. Los ensayos clínicos in vivo siguen siendo necesarios para conocer el mecanismo de acción y evaluar la eficacia sobre la salud humana
5. A partir de los péptidos activos lácteos se pueden elaborar nuevos alimentos funcionales lácteos o no lácteos que promuevan la salud como parte de una dieta variada y equilibrada.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Fesnad.org [Internet]. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). Disponible en: http://www.fesnad.org/resources/files/Publicaciones/guia_alimentos_funcionales.pdf
2. Park YW and Nam MS Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review. Korean J. Food Sci. 2009; 35(6):831-840.
3. Udenigwe Ch, Aluko R. Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, processing, and Potential Health Benefits. J. Food Sci. 2012; 71:11-24.
4. Ricci-Cabello I, Olalla M, Artacho R. Possible role of milk-derived bioactive peptides in the treatment and prevention of metabolic syndrome. Nutr. Rev. 2012; 70:241–255.
5. Park Y.W. Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Wiley-Blackweel. 2009.
6. Baró L, Jimenez J, Martinez - Férrez A, Bouza JJ. Bioactive milk peptides and proteins. Ars Pharmaceutica. 2001; 42(3-4):135-145.

7. Hernández Ledesma B. Caracterización y bioactividad de péptidos obtenidos a partir de proteínas lácteas mediante hidrólisis enzimática y procesos fermentativos. ISBN: 84-669-2033-1. CSIC. 2002. Disponible en:

<http://biblioteca.ucm.es/tesis/far/ucm-t26285.pdf>

8. Cheftel J, Cuq J, Lorient D. *proteins alimentaires. Biochimie – Propriétés fonctionnelles – Valeur nutritionnelle – Modifications chimiques*. Zaragoza: Acribia; 1989.

9. Mulero Cánovas J, Zafrilla Rentero P, Martínez - Cachá Martínez A, Leal Hernández M, Abellán Alemán J. Péptidos bioactivos. *Clin Invest Arterioscl* [Internet]. 2011; 23(5):219-227. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-clinica-e-investigacion-arteriosclerosis-15-articulo-peptidos-bioactivos-S0214916811001057>

10. Torres-Llanez MJ, Vallejo-Córdoba B, González-Córdova AF. Péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche. *Alan* [Internet]. 2005; 55(2). Disponible en:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200002

11. Maurer Díaz K, Murad JE, Escalante Acosta BA. Importancia de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en la circulación coronaria. *Archivos de Cardiología de México* [Internet]. 2001; 71(4). Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/archi/ac-2001/ac014c.pdf>

12. Domínguez Gonzalez KN, Cruz Guerrero A, Gonzalez Márquez H, Gomez Ruiz L, Garcia-Garibay M, Rodriguez-Serrano G. El efecto antihipertensivo de las leches fermentadas. *Rev Agent Microbiol*. 2014; 46(1):58-65.

13. Rodríguez-Hernández G, Rentería- Monterrubio AL, Rodríguez – Figueroa JC, Chávez-Martínez A. bioactive peptides in milk and their derivatives: functionality and health benefits. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. 2014; 1(3):281-294.

14. Mazza, G. *Functional Foods. Biochemical & Processing Aspects*. Zaragoza: Acribia; 2000.

15. Shellhorn C, Valdés V. *La leche humana, composición, beneficios y comparación con la leche de vaca*. Comisión de lactancia MINSAL, UNICEF. 1995. Disponible en:

<http://www.unicef.cl/lactancia/docs/mod01/Mod%20beneficios%20manual.pdf>

16. Macías S, Rodríguez S, Ronayne de Ferrer P. Leche materna: composición y factores condicionantes en la lactancia. *Arch. Argent. Pediatr*. 2006; 104(5).

Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-00752006000500008&script=sci_arttext&tlng=pt

17. García-López R. Composición e inmunología de la leche humana. Act Pediatr Mex. 2011; 32(4):223-230.
18. Guillén-López S, Vela-Amieva M. Desventajas de la introducción de la leche de vaca en el primer año de vida. Acta pediatr Mex. 2010; 31(3):123-128.
19. Gomez Gallego C, Perez Conesa D, Bernal Cava MJ, Periago Castón MJ, Ros Berruezo G. Functional compounds in breast milk. Enfermería global. 2009; 16:1-14.