

---

# Críptidos: péptidos biológicamente activos derivados de proteínas alimentarias de interés para la salud.

---

-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA -

---

*Propuesta de Trabajo Final de Máster  
Máster Universitario de Nutrición y Salud  
(primer semestre del curso 21/22)*

---

Autor/a: Daniela Pes  
Tutor/a del TFM: Aida Serra Maqueda



Esta obra está bajo una licencia de Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada  
(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.es>)

# Índice

1.	<b>Resumen</b>	5
2.	<b>Abstract</b>	6
3.	<b>Introducción</b>	7
4.	<b>Objetivos</b>	13
	4.1 Objetivos generales	13
	4.2 Objetivos específicos	13
5.	<b>Preguntas investigables</b>	14
6.	<b>Metodología</b>	15
	6.1 Criterios de inclusión y exclusión	17
	6.2 Estrategia de búsqueda	18
	6.3 Selección del buscador y criterios de búsqueda	19
	6.4 Identificación y selección de artículos de fuentes alimentarias	20
	6.5 Identificación de artículos de fuentes no-alimentarias	22
7.	<b>Resultados</b>	22
	7.1 Consideraciones iniciales	22
	7.2 Resultados obtenidos	23
	7.3 Consideraciones sobre los resultados	27
	7.4 Evaluación de los estudios	29
	7.5 Críptidos antihipertensivos	30
	5.5.1 En la leche	30
	5.5.2 En leches fermentadas	31
	5.5.3 En leches infantiles	36
	5.5.4 En suero de leche	37
	5.5.5 En los glóbulos de grasa de la leche	39
	5.5.6 En queso	40
	5.5.7 En otras fuentes	41

7.6	Críptidos antioxidantes .....	49
7.7	Críptidos antimicrobianos y citotóxicos.....	53
7.8	Críptidos con actividad opioide .....	56
7.9	Críptidos con actividad antiinflamatoria .....	60
7.10	Críptidos con actividad en la diabetes y la obesidad .....	61
7.11	Críptidos con actividad antitrombótica .....	64
7.12	Críptidos con otras actividades .....	64
8.	<b>Discusión</b> .....	65
9.	<b>Aplicabilidad y nuevas líneas de investigación</b> .....	68
10.	<b>Conclusión</b> .....	70
11.	<b>Siglas y abreviaturas</b> .....	71
12.	<b>Anexo I</b> .....	72
13.	<b>Bibliografía</b> .....	84

## 1. Resumen

Los estudios demuestran que las proteínas de los alimentos pueden ser reservorio natural de elementos con actividad biológica llamados «críptidos», secuencias cortas de aminoácidos que permanecen ocultas e inactivas en las proteínas hasta que son liberadas con la digestión de los alimentos y se vuelven fragmentos biológicamente activos. Una vez absorbidos realizan diferentes funciones en el organismo incluyendo bioactividades como la antihipertensiva, antioxidante, antimicrobiana, opioide, antitrombótica, hipocolesterolémica, hipoglucemiante, de unión a minerales, entre otras. Su interés está entonces relacionado con los beneficios para la salud humana y posibles aplicaciones en campo terapéutico, en alimentos funcionales o en la conservación de alimentos.

El objetivo de esta revisión es explorar el estado actual de conocimientos sobre críptidos de los alimentos en la literatura del último decenio con énfasis en su distribución, función, tipos de estudio y la relación estructura-actividad.

De acuerdo con esta revisión los resultados indican que los críptidos son bastantes ubicuitarios con presencia en matrices alimentarias tanto vegetales como animales. Entre los alimentos, la leche resulta ser especialmente rica de críptidos con diferentes actividades sobre todo del tipo antihipertensivo. Limitadamente a esta revisión, los estudios *in vitro* son la estrategia de estudio más empleada para determinar su efectividad, siendo escasos los estudios *in vivo* e *in sílico* y ausentes los estudios clínicos.

La abundancia de los críptidos en las matrices alimentarias y el increíble número de bioactividades, más allá de las específicas funcionalidades, deja abierto por aclarar o especular sobre la importante cuestión biológica que está debajo de esta estrategia de la naturaleza.

**Palabras clave:** críptidos; péptidos encriptados; péptidos bioactivos; alimentos; salud.

## 2. Abstract

Studies show that food proteins can be a natural reservoir of elements with biological activity called «cryptides», short sequences of amino acids that remain hidden and inactive in proteins until they are released with digestion and become biologically active fragments. Once absorbed, they perform different functions in the body including bioactivities such as antihypertensive, antioxidant, antimicrobial, opioid, antithrombotic, hypocholesterolemic, hypoglycemic, binding to minerals, among others.

The interest in its study is due to the benefits for human health and possible applications in the therapeutic field, in functional foods or in food preservation. The objective of this review is to explore the current state of knowledge on food cryptides in the literature of the last decade. To know their distribution, functions, study models used in the investigations and information about the structure-activity relationship.

According to this review, the results show that cryptides are quite ubiquitous elements with a surprising presence in different food matrices, both plant and animal origin. Among foods, milk turns out to be a particularly rich source of cryptides with different activities, especially of the antihypertensive type. Limited to this review, *in vitro* studies are the most used strategy to determine the functionality of cryptides, *in vivo* and *in silico* studies are scarce and clinical studies absent.

The abundance of cryptides in food matrices and the incredible number of bioactivities found, beyond the specific functionalities, leaves open to clarify or speculate on the important biological question underlying this strategy of nature.

**Keywords:** cryptides; encrypted peptides; bioactive peptides; food; health.

### 3. Introducción

Los estudios epidemiológicos demuestran que hay una relación estrecha entre la dieta, los hábitos alimentarios, el estilo de vida y la incidencia de enfermedades. Una dieta sana, variada y equilibrada suministra al organismo los nutrientes necesarios para las necesidades básicas, previene de algunas enfermedades y contribuye a mantener un buen estado de salud físico y mental [WHO, 2017, 2018, 2021].

A este respecto, se deben tener en cuenta y conocer que alimentos mejoran nuestra salud, proporcionan bienestar y reducen el riesgo de padecer estas enfermedades. De forma general se considera que los alimentos compuestos, sean naturales o procesados, proporcionan al organismo dos categorías de nutrientes: macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas y agua) necesarios en cantidades mayores y micronutrientes necesarios en cantidades pequeñas como minerales (calcio, fósforo, sodio, potasio, etc.), trazas de minerales (yodo, zinc, hierro, flúor etc.) y vitaminas (vit.D, vit. C, vit. A, etc). La variabilidad de los alimentos viene dada por las diferentes proporciones entre los macronutrientes, sobre todo en el contenido de carbohidratos, proteínas y grasas, la cantidad de agua y el de los micronutrientes. Esto hace que el perfil nutricional de cada alimento sea diferente [UNED, 2021].

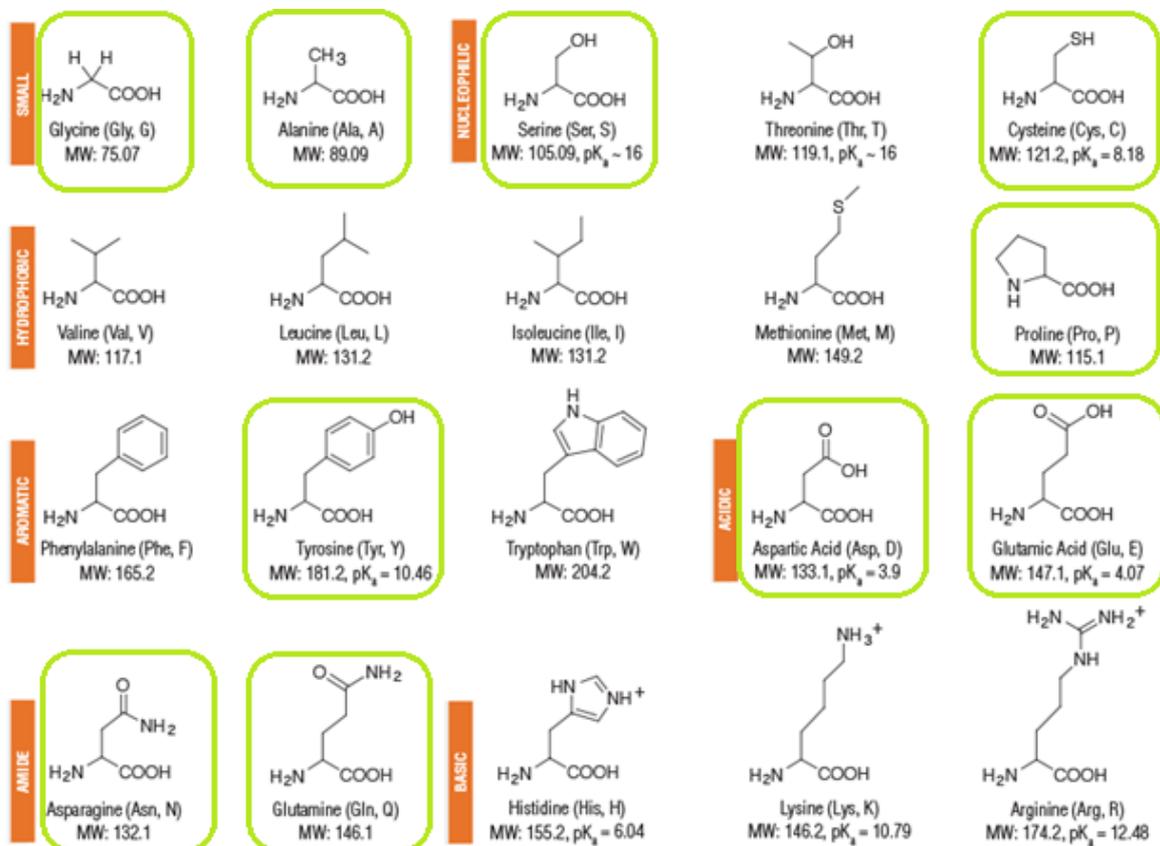
Para el mantenimiento de un buen estado de salud y para prevenir enfermedades es muy importante que haya una dieta sana, variada contando con todos los grupos de alimentos necesarios sin excesos o privaciones de algunos de ellos. También que la aportación calórica en términos de hidratos de carbono, proteínas y lípidos de los alimentos sea equilibrada y con ingestas a la medida del gasto energético [WHO, 2018].

Las proteínas son elementos fundamentales de cada organismo y actúan como elementos estructurales y funcionales [O'Connor, 2010]. A nivel molecular, muchas de las características nutritivas, organolépticas y reológicas de los alimentos son reconducibles a características propias de las proteínas que los componen [Martins, 2018]. Sobre los alimentos de origen animal (carne, pescado, huevos y lácteos) son alimentos en los que predominan las proteínas. No obstante, también existen alimentos de origen vegetal ricos en proteínas (legumbres como la soja, cacahuetes, judías, algunos cereales). Conocer la diversidad y el patrón de proteínas que componen un alimento, el proteoma, en un momento determinado, nos permite estudiar y cuestionar

sobre su funcionalidad. A veces las propiedades de los componentes de un alimento, especialmente de las proteínas, pueden verse alteradas por los tratamientos que recibe el alimento. Se sabe que el procesado, especialmente procesados térmicos, puede modificar el proteoma e interferir en su funcionalidad [Serra, 2019].

El proceso digestivo se encarga de descomponer los macronutrientes, proteínas, grasas, carbohidratos en elementos más pequeños asimilables por el intestino. Las proteínas alimentarias son la fuente principal de aminoácidos para la construcción de nuevas proteínas. Son sujetas a procesos de hidrólisis química en el estómago y a la acción proteolítica de las enzimas gastrointestinales que producen fragmentos pequeños, péptidos, e incluso aminoácidos simples, que pueden pasar de la luz intestinal hacia el interior de la célula intestinal por medio de sistemas de transportes específicos [Minner, 2014]. Los productos absorbidos pueden llegar con el sistema de la vena porta al hígado y a nivel sistémico [Ten Have, 2007].

Desde un punto de vista bioquímico, a las moléculas formadas por aminoácidos unidos con enlace covalente (enlace peptídico) entre el carboxilo (-COOH) de un aminoácido y el grupo amino (-NH<sub>2</sub>) de otro aminoácido, se les conoce como proteínas y péptidos. Se diferencian por el número de aminoácidos que componen su secuencia basada en la combinación y proporción de veinte aminoácidos diferentes (Figura 1).



**Figura 1.** Conjunto de los 20 aminoácidos presentes en proteínas y péptidos. Se definen como **No Esenciales** (en verde) los que son sintetizados por el organismo, el resto son **Esenciales** en cuanto provienen de la dieta. Fuente: <https://international.neb.com/tools-and-resources/usage-guidelines/amino-acid-structures>

Las proteínas son estructuras grandes, con más de 50 aminoácidos, pueden presentar uno o más polipéptidos y llegar a organizarse en estructuras complejas o gigantescas, como en el caso de la titina, una proteína de los tejidos musculares con un peso molecular de que ronda los 3 MDa\* (2.993 kDa) y 26.926 residuos aminoacídicos [Giganti, 2018, Maruyama, 1997]. En cambio, los péptidos son estructuras más pequeñas, de bajo peso molecular (10-12kDa máximo) y con un numero de 2 a 50 aminoácidos.

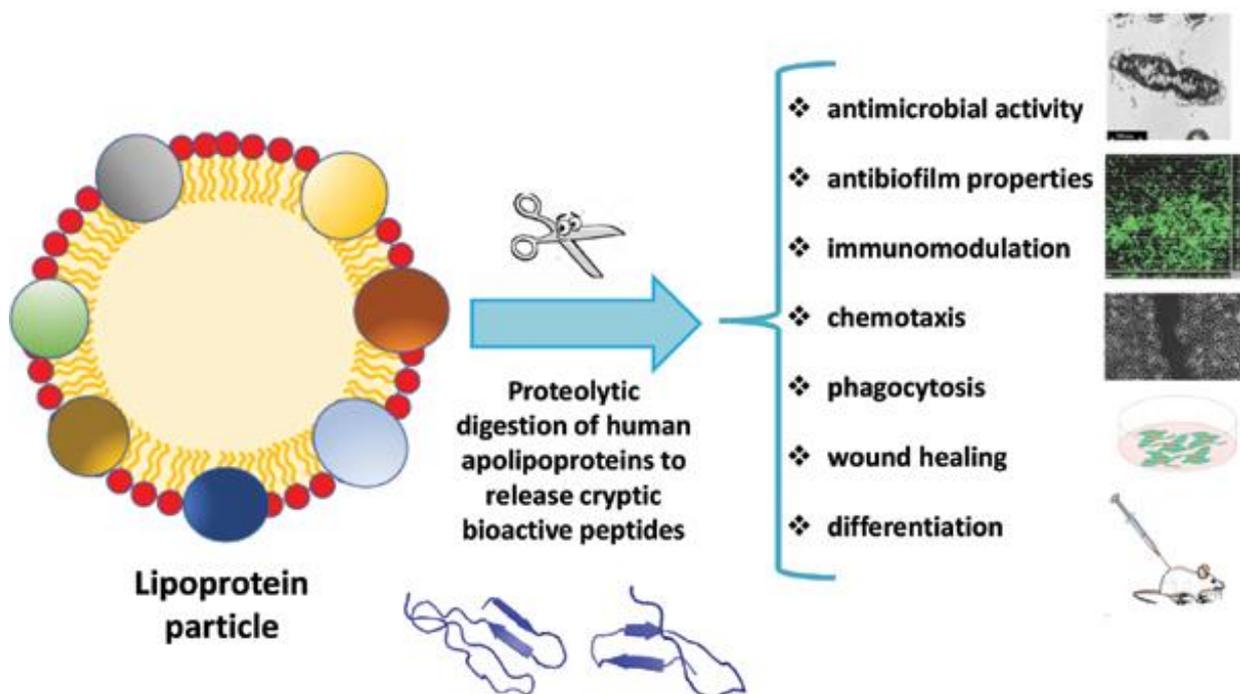
Este tipo de biomoléculas ejercen funciones muy diversas en el organismo que están ligadas al tipo de aminoácidos que componen su estructura primaria, tipo de interacciones moleculares entre aminoácidos, tipo de plegamiento (*foldi*ng) de la cadena aminoacídica y a modificaciones postraduccionales que, en el conjunto acaban determinando su estructura final y función. Algunas proteínas tienen carácter *estructural* como las que componen el cartílago, la piel, el pelo, uñas o las proteínas musculoesqueléticas de los vertebrados; otras tienen carácter *funcional* y llevan a cabo reacciones enzimáticas (enzimas), transportan otras moléculas o iones (globinas), desencadenan reacciones biológicas (anticuerpos), transmiten señales, regulan la señales (receptores) o sirven como proteínas de reserva [Alberts, 2004].

Por otro lado, aunque de menor tamaño, los péptidos también pueden desempeñar funciones fundamentales en los procesos fisiológicos. Algunos de estos péptidos ejercen actividad mensajera como las hormonas (ejemplo bien conocido de ello son: la vasopresina, oxitocina, somatostatina, glucagón, insulina etc otros actúan como agentes de regulación de la presión (sistema renina-angiotensina actuando como vasoconstrictores o vasodilatadores); como neurotransmisores en el sistema nervioso (endorfinas, encefalinas); como antibióticos para citar algunos. Está bien documentada la existencia de péptidos bioactivos presentes en muchas especies de la naturaleza y de su importancia en el campo de la neurociencia, la inmunología, la farmacología y la biología celular tal y como reporta el Manual de Péptidos Biológicamente Activos [ABBA, 2013].

No obstante, existen otro tipo de péptidos bioactivos que corresponden a fragmentos de proteínas liberados tras proteólisis de una proteína precursora [Autelitano, 2006; Kitts, 3003; Katrin, 2017]. Inicialmente su secuencia se encuentra oculta en el interior de la secuencia de una proteína y los péptidos permanecen inactivos hasta su liberación.

Estos péptidos con actividad escondida y función diferente a la de la proteína madre, se han definido como *críptidos* (cryptides) [Mukai, 2008], y su estudio viene definido como *criptoma* [Mukai,2006; Pimenta, 2007; Ueki, 2007]. Los péptidos crípticos se

convierten en especies biológicamente activas tras la proteólisis de las proteínas funcionales que los contiene (Figura 2), y generalmente muestran una actividad diferente, o algo relacionada a la de su progenitor [Iavarone, 2018]. La presencia de este tipo de péptidos, frecuentemente indicados como *Biopéptidos (BP)* o *Péptidos Bioactivos Ocultos* o *BP Encriptados*, es bastante ubicuitaria, ya que están presentes prácticamente en todos los proteomas de los seres vivos. En el ser humano, por ejemplo, se han identificado también biopéptidos endógenos encriptados liberados de sus proteínas precursoras por hidrólisis enzimática que actúan como mensajeros e interactúan regulando las comunicaciones intra o extracelular [Ricard-Blum 2016, Ferro, 2014]. Ejemplos bien conocidos son los péptidos derivados de la escisión de proteínas mitocondriales, *mitocriptidos*, o los fragmentos de *matricriptinas* de la matriz extracelular, los *críptidos* de la hemoglobina, de citocromos, apolipoproteína, lamininas, colágeno, albúmina sérica, inmunoglobulinas y proteínas salivales. Todos estos péptidos poseen actividades biológicas distintas a la de la proteína madre [Pimenta 2007; Ueki, 2007; Saitoh, 2017, Ricard-Blum, 2016].



**Figura 2:** Péptidos bioactivos liberados de la proteína Apolipoproteína humana. El “criptoma” es la parte del “proteoma” que contiene proteínas con la capacidad de generar péptidos bioactivos (*críptidos*) y proteínas (*cripteínas*) tras escisión proteolítica (Gaglione, 2020).

No obstante, los críptidos no solo son endógenos del propio proteoma, ya que estos pueden originarse de proteínas provenientes de la dieta [Hartmann, 2007;

Chakrabarti, 2018]. El cuerpo humano ingiere una gran diversidad de proteínas de múltiples organismos con la dieta, generalmente, tanto vegetales como animales. Dichas proteínas exógenas son digeridas durante la digestión de los alimentos y algunas de ellas pueden generar péptidos crípticos durante el proceso de proteólisis. El caso de los *críptidos* de los alimentos se trata generalmente de péptidos funcionales con secuencias cortas de (2-20 aminoácidos) y peso molecular inferior a unos 3000 Da [Rodríguez, 2012; Herrera 2019].

En los últimos años se han descrito *péptidos encriptados* de carácter exógeno provenientes de alimentos comunes como lácteos, vegetales, fuentes animales y de origen marino que muestran actividad de tipo antiinflamatorio, antioxidantes, antimicrobiano, antihipertensivos, opioides, hipocolesterolemiantes, hipoglucemiantes, anticancerígeno, antitrombóticos e inmunomoduladores entre otras [Sánchez, 2017; Chatterjee, 2018]. Por sus beneficios para la salud en la actualidad también se estudian los aislados e hidrolizados de proteínas alimentarias para su aplicación en productos alimenticios y farmacéuticos [Beltrán, 2016; Manzoor, 2022].

El objetivo general de este trabajo es explorar el estado actual de conocimientos sobre los *críptidos* escondidos en alimentos, liberados de sus proteínas durante la digestión y que demuestran actividades beneficiosas para la salud, a través de la realización de una búsqueda de bibliografía.

## 4. Objetivos

### 4.1 Objetivos generales

El objetivo general de este trabajo es explorar el estado actual de conocimientos sobre los *péptidos crípticos bioactivos* escondidos en alimentos, liberados de sus proteínas durante la digestión y que demuestran actividades beneficiosas para la salud a través de la realización de una búsqueda de bibliografía.

### 4.2 Objetivos específicos

- Revisar la literatura científica de los últimos 10 años para conocer los *críptidos* que se han descubierto.
- Identificar la distribución de este tipo de péptidos en la naturaleza (vegetal, animal, u otros organismos) con especial énfasis a las fuentes alimentarias.
- Comprender el mecanismo de acción o el papel de la digestión sobre la biodisponibilidad de péptidos encriptados.
- Conocer las evidencias que demuestran su efecto local, en vivo en el tracto gastrointestinal y sobre la flora microbiana, así como a nivel sistémico.
- Listar ejemplos de la actividad de los críptidos en relación con la actividad de su proteína precursora.
- Conocer eventuales hipótesis sobre el posible significado biológico de estas secuencias encriptadas dentro de estructuras proteicas: funcional o evolutivo.

## 5. Preguntas investigables

Se incluirá la pregunta o preguntas investigables a las que se quiere dar respuesta con el estudio.

A continuación, en la siguiente tabla, se detallan las preguntas investigables basadas en el formato PICO [Landa, 2014].

<b>Tipo de pregunta investigable</b>	<b>P</b> <b>Paciente, Población o Problema</b> (que problema de salud)	<b>I</b> <b>Intervención o exposición</b> (que tipo de estudio)	<b>C</b> <b>Comparación o control</b> (placebo, tratamiento o ninguno)	<b>O</b> <b>Outcomes, Resultados</b> (efecto medido)
¿Para la hipertensión o en caso de riesgo cardiovasculares que efectividad han demostrado los péptidos críptidos en el control de la presión arterial, de los lípidos o en general de las ECV?	Hipertensión  Enfermedades Cardiovasculares (ECV)	- clínico - in vivo - in vitro - in sílico		Antihipertensivo  Hipocolesterolémico  Antitrombótico
¿En el caso de sobrepeso u obesidad cuál es el efecto de estos péptidos sobre la pérdida de peso?	Obesidad	- clínico - in vivo - in vitro - in sílico		Perdida peso
¿Para diabéticos, cuál es el efecto de estos péptidos en el control glucémico?	Diabetes	- clínico - in vivo - in vitro - in sílico		Hipoglucémico
¿Para el cáncer, que efectos beneficiosos de los péptidos encriptados se han demostrado?	Cáncer	- clínico - in vivo - in vitro - in sílico		Anticancerígeno
¿Qué otros efectos beneficiosos o contraindicaciones de los péptidos críptidos se han demostrado para la salud?	Otra enfermedad u otro efecto en la salud	- clínico - in vivo - in vitro - in sílico		Antimicrobiano Antioxidante Antiinflamatorio Inmunomodulador Opioide Binding de minerales

## 6. Metodología

Para llevar a cabo los objetivos planteados en este trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica a principios de noviembre de 2021 orientada a localizar los registros más idóneos para los objetivos planteados.

Como herramienta de búsqueda se recurrió a la base de datos de acceso público **PubMed** en inglés. La identificación de los documentos de interés para esta revisión se realizó en 2 búsquedas introduciendo en el buscador unos términos en combinación con palabras claves combinadas con el conector Boléano AND.

- En el primer caso se incluyeron los términos de: “*Cryptic peptides*” o “*Cryptides*” como se indica en la **Tabla 1**.
- En una segunda búsqueda se utilizó el término “*Encrypted peptides*” como se indica en la **Tabla 2**.

<b>Términos</b>	<b>Combinaciones</b>
<b>Cryptic</b>	cryptic AND peptides AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND peptides AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	Cryptides AND human AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND animal AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND bacteria AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND fungus AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND mould AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND yeast AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND plants AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND protozoan AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND reptile AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND reptile AND food AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND animal AND assay AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND animal AND study AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND animal AND in vivo AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND animal AND in vitro AND bioactive
<b>Cryptides</b>	cryptides AND animal AND in silico AND bioactive

<b>Tabla 2.</b>	
<b>MAPA DE BÚSQUEDA EN PUBMED MEDIANTE COMBINACIÓN DE DESCRIPTORES</b>	
<b>Términos</b>	<b>Combinaciones</b>
<b>Encrypted</b>	encrypted AND bioactive AND peptide AND food AND protein AND study
<b>Encrypted</b>	encrypted AND bioactive AND peptide AND food AND protein AND assay
<b>Encrypted</b>	encrypted AND bioactive AND peptide AND food AND protein AND in vitro
<b>Encrypted</b>	encrypted AND bioactive AND peptide AND food AND protein AND in vivo
<b>Encrypted</b>	encrypted AND bioactive AND peptide AND food AND protein AND in sílico

Una vez realizadas las búsquedas se filtraron los estudios duplicados, después se realizó un cribado basado en la lectura del título, después un segundo cribado en base a la lectura del resumen y finalmente se leyeron los estudios que pasaron estos dos cribados.

Los datos cuantitativos (números de artículos obtenidos) de estas búsquedas se fueron recogiendo en una tabla (Anexo 1). Sobre el tipo de artículo y su contenido se hizo una recopilación de los datos indicando: **Título / Autor / Año / Tipo de estudio / Conclusiones** y se incluyó en los anexos como una tabla de resultados.

## 6.1 Criterios de inclusión y exclusión

Para evitar obtener estudios muy antiguos se limitó la búsqueda aplicando un filtro de selección para incluir solo los últimos 10 años excluyéndose así todos los estudios anteriores al año 2011. En algún caso se ha tenido que añadir a mano algún estudio que no venía incluido en la búsqueda.

En la **Tabla 3** se indican los criterios utilizados para la inclusión o la exclusión de los artículos encontrados.

<b>Tabla 3. GUÍA DE CRITERIOS A SEGUIR PARA LA ELEGIBILIDAD DE LOS ARTÍCULOS</b>		
<b>Tipo de criterio</b>	<b>Inclusión</b>	<b>Exclusión</b>
Año de publicación	De 2011 a 2021	Anteriores a 2011
Idioma	En español e inglés	Otros idiomas
Acceso a artículos	Libre acceso y completos	Artículos de pago
Tipo artículos	Artículos científicos	Artículos de opinión, blog
	Metaanálisis	
	Ensayos clínicos	
	Revisiones sistemáticas	
Muestra estudiada	Proteoma de alimentos	
	Otros Proteomas	Proteoma humano
Tipo estudio	Estudio <i>in silico</i>	
	Estudio <i>in vitro</i>	
	Estudio <i>in vivo</i>	
	Estudio en humanos	

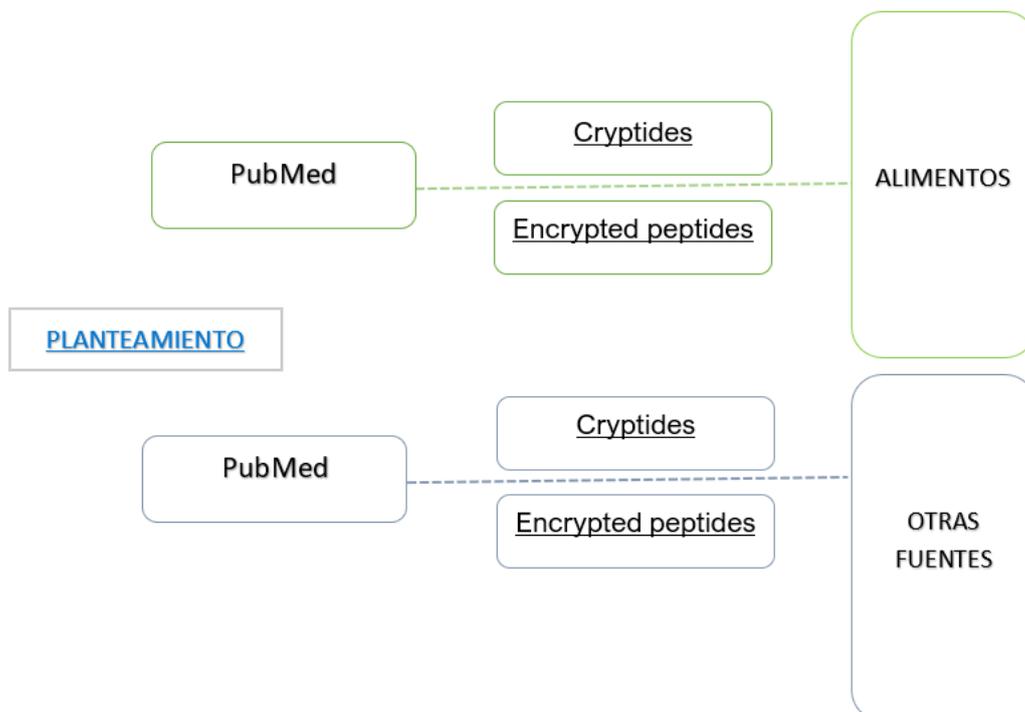
## 6.2 Estrategia de búsqueda

El objetivo de este trabajo es revisar el tipo de evidencias actualmente existentes en literatura (experimentos *in vitro* o *in vivo* con animales o en humanos o de simulación por ordenador) sobre péptidos provenientes de alimentos con actividad beneficiosa para la salud.

La palabra CRYPTIDE es un término específico que tiene el significado de PÉPTIDO ENCRIPTADO. Muchos autores omiten el uso de la palabra críptido (péptido) o criptina (proteína) nombres derivados de la ciencia ómica “criptoma” y simplemente hablan de “*péptidos bioactivos*” describiéndolos como *fragmentos que viene liberados de las proteínas por proteólisis enzimática durante la digestión gastrointestinal*”.

La cuestión es que hablar de “péptido bioactivo” pueden ser demasiado genérico en una búsqueda de literatura y de hecho existe un *mare magnum* de “*péptidos bioactivos*” con origen vegetal o animal y de otros reinos que poseen efectividad en el ser humano y en la salud tal como consta en el *Handbook of Biologically Active Peptides* [Kastin, 2006, 2013].

Para esta revisión se ha querido identificar la literatura científica existente con el término de “críptidos” y el termino equivalente de “péptidos encriptados” para conseguir un mayor grado de selectividad y especificidad. El planteamiento de búsqueda se ha centrado en la detección de evidencias limitadamente a los alimentos, aunque se ha llevado a cabo una búsqueda inicial en otras fuentes no-alimentarias con el objetivo de disponer de una visión general de los trabajos en curso que, pero finalmente no han sido tratados en esta revisión. Ver detalles en el esquema que sigue.



### 6.3 Selección del buscador y criterios de búsqueda

En una búsqueda inicial de palabras en inglés, realizada en noviembre de 2021 con tres buscadores, PubMed, biblioteca de la UOC y Google Scholar, limitadamente al periodo de tiempo 2011-2021, se observa que el termino de “críptidos” o CRYPTIDES en inglés, es el menos representado o por lo menos es poco utilizado por la comunidad científica (Tabla 4). Por el contrario, el termino equivalente de “péptidos encriptados” o ENCRYPTED PEPTIDES obtiene un mayor número de registros (hits).

Las búsquedas con los términos de CRYPTIC PEPTIDES, tras una evaluación rápida de los títulos y de los *abstracts*, no está relacionado con el argumento de este trabajo.

Por consiguiente, se ha decidido centrar la búsqueda alrededor de los dos grupos de palabras: CRYPTIDES y ENCRYPTED PEPTIDES por su especificidad.

Respecto a los términos “péptidos bioactivos” o BIOACTIVE PEPTIDE, son términos de búsqueda que dan muchos aciertos (hits) pero también representan un grupo bastante heterogéneo de resultados en cuanto engloban cualquier tipo de péptido que tenga bioactividad, sea críptico o no, de origen endógena, o de fuentes externas como los de los alimentos o de cualquier otra fuente.

Las coincidencias encontradas con CRYPTIDES y ENCRYPTED PEPTIDES en los buscadores de Google Scholar y de la UOC igualmente han revelado un elevado número de registros de forma que no permitirían realizar su evaluación. Se ha decidido por tanto limitar la revisión al uso de PubMed como buscador principal para las búsquedas (Tabla 4).

Tabla 4. Búsqueda inicial: coincidencias encontradas			
	UOC	PubMed	Google Scholar
Bioactive peptides	= 94.100	= 19.015	= 1.340.000
Cryptic peptides	= 12.668	= 813	= 20.900
Encrypted peptides	= 1.394	= <b>113</b>	= 9.820
Cryptides	= 124	= <b>36</b>	= 447

El termino específico de **cryptides** en PubMed originó a 36 publicaciones. Pero para el objetivo de este trabajo se han incluido solo las publicaciones que contenían la palabra "food" reduciendo los resultados a un total de 5 artículos que pasaron a ser examinados (Tabla 5).

Tabla 5. - Cryptides - registros encontrados	Pub Med
<u>Cryptides</u>	<b>36</b>
<u>cryptides</u> AND <b>food</b>	<b>5</b>
<u>cryptides</u> AND <b>food</b> AND <b>peptide</b> AND <b>bioactive</b>	2

Nota: Se conseguía el mismo resultado de búsqueda si se omitía la palabra "péptido".

Los términos **encrypted peptides** identificaron 113 publicaciones. De ellas solo solo 62 contenían la palabra "food". Finalmente, un total de 43 publicaciones contenían la palabra "bioactivo" y pasaron al proceso de revisión (Tabla 6).

Tabla 6. - Encrypted peptide - registros encontrados	Pub Med
<u>Encrypted peptides</u>	<b>113</b>
<u>encrypted</u> AND <b>food</b> AND <b>peptide</b>	<b>62</b>
<u>encrypted</u> AND <b>food</b> AND <b>peptide</b> AND <b>bioactive</b>	<b>43</b>

Nota: Se conseguía el mismo resultado de búsqueda (42 referencias) si se omitía la palabra "péptido". peptide o peptides daba el mismo resultado

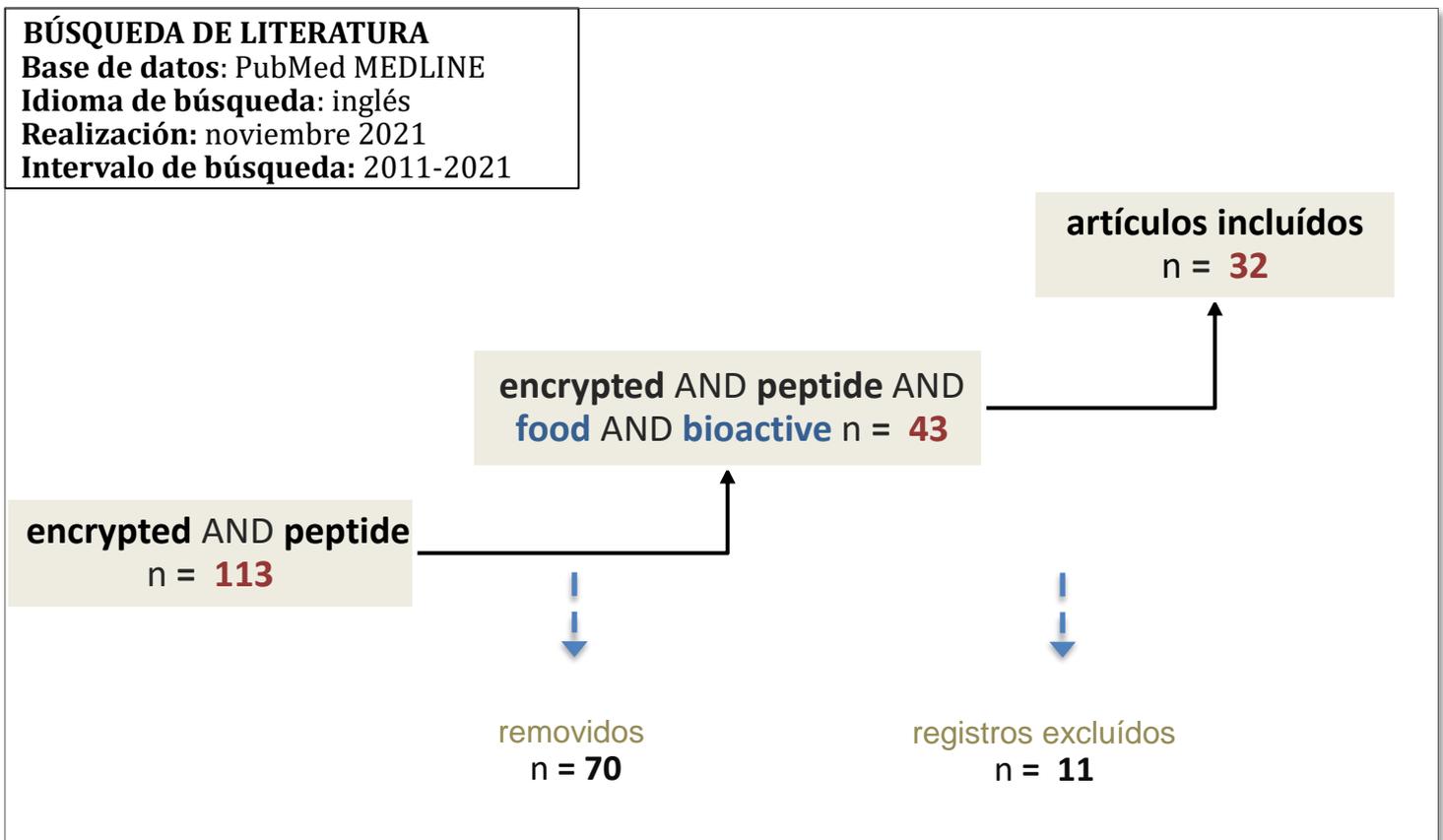
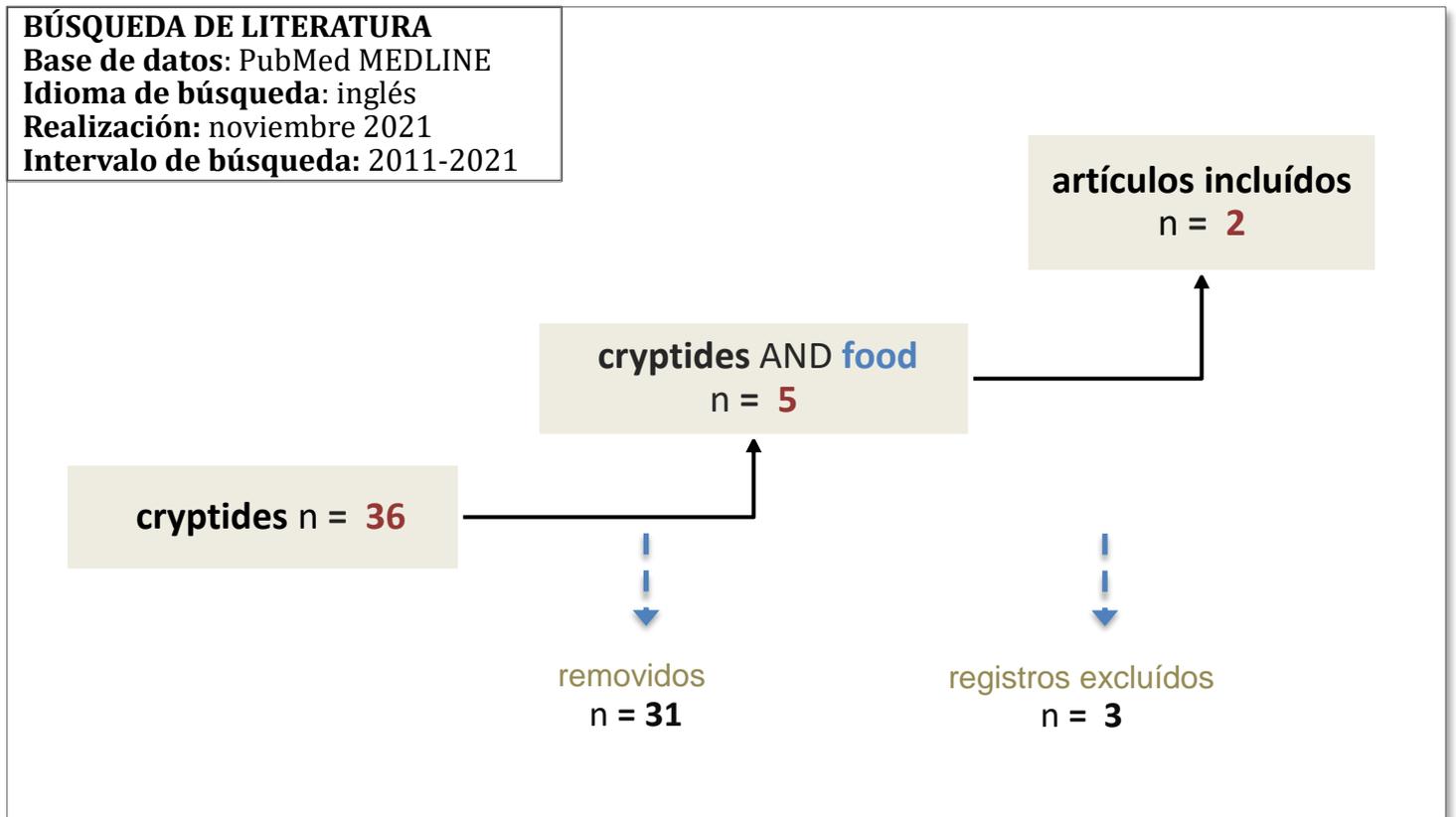
El término "diet" en el contexto de esta revisión no proporcionó resultados en las búsquedas y se decidió excluirlo de los términos de descripción.

El término "bioactivo" se ha utilizado por 2 razones. Por un lado, al hacer un sondeo previo de palabras en el buscador, resultó ser un término muy representado. En segundo lugar, el término de "bioactivo" viene utilizado para indicar la influencia de una sustancia (en interferir o reducir) en aspectos metabólicos de la salud o de enfermedades. Por lo tanto, la palabra "bioactivo" puede servir como criterio para identificar ensayos *in vivo* (en animales o humanos) [Aluko, 2015].

#### 6.4 Identificación y selección de artículos de fuentes alimentarias

Representación gráfica del proceso de cribado que se ha utilizado para seleccionar los artículos idóneos de ser evaluados. Tras filtrar las búsquedas en PubMed, se hizo lectura de los títulos y de *abstracts*, se eliminaron los dobles y se excluyeron los que no incluyan datos empíricos de eficacia biológica (Figura 3).

Figura 3. Flujo del Proceso de Selección



## 6.5 Identificación de artículos de fuentes No-alimentarias

También se ha querido informar de una búsqueda preliminar de estos mismos términos en seres vivos de varios reinos y no solo a los de la cadena alimentaria humana. Se indican a continuación el número de registros encontrados en los buscadores con las palabras “críptidos” y “péptidos encriptados”. Finalmente, estos datos no han sido objeto de revisión (Tabla 7, 8).

Tabla 7. - cryptides - Otras Fuentes (2011-2021)	UOC	Pub Med	Google Scholar
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>bacteria</b>	29	15	193
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>yeast</b>	14	3	126
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>mould</b>	5	37	2850
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>plants</b>	31	7	190
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>protozoan</b>	2	0	25
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>fish</b>	25	3	132
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>reptile</b>	2	0	16
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>animal</b>	53	23	235
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>amphibious</b>	4	0	22
cryptides AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>human</b>	59	28	279

Tabla 8. - Encrypted peptide - Otras Fuentes (2011-2021)	UOC	Pub Med	Google Scholar
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>bacteria</b>	333	15	2180
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>yeast</b>	143	3	4700
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>mould</b>	45	5	2850
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>plants</b>	337	7	1940
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>protozoan</b>	1	0	721
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>fish</b>	200	3	1200
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>reptile</b>	5	0	33
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>animal</b>	440	23	2380
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>amphibious</b>	0	13	320
encrypted AND <b>bioactive</b> AND <b>peptides</b> AND <b>human</b>	549	28	2930

## 7. Resultados

### 7.1 Consideraciones iniciales

Antes de describir los resultados es conveniente hacer una breve introducción para mencionar el tipo de estudios experimentales usados para demostrar la actividad biológica de péptidos encriptados reportados en la bibliografía de esta revisión. Se

clasifican en base al modelo de estudio empleado a nivel experimental y vienen definidos como estudios *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* e *in silico*.

Los estudios *in vivo* se realizan en seres vivos, pueden utilizar especies animales o humanos.

Los estudios *in vitro* son pruebas de laboratorio en condiciones controladas, realizadas en tubos de ensayos o placas y no usan seres vivos. Entre los métodos utilizados en esta revisión se encuentran - las digestiones *in vitro* de proteínas con enzimas proteolíticas; - los modelos simulados de digestión gastro-intestinal (SGID); - la digestión *in vitro* con enzimas gástricos: pepsina, tripsina, quimotripsina y pancreatina [Ul-Haq, 2015];

- estudios de bioactividad *in vitro* para determinar la capacidad antioxidante, antimicrobiana, u otra, etc. Una de las estrategias comunes que se usa para identificar péptidos antihipertensivos en los alimentos se basa en medir *in vitro* la actividad inhibidora de la ECA y entonces se pueden comprobar los efectos *in vivo* en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) otro modelo este generalmente aceptado en el caso de los estudios sobre hipertensión humana [Zambrowicz, 2014].

Ex vivo: son pruebas de laboratorio con tejidos biológicos o células de un ser vivo donante animal o humano (en el texto se describe el uso de los “anillos aórticos”).

Estudios in silico: se realizan por simulaciones con el ordenador y permiten hacer análisis de bioactividad de tipo teórico.

## 7.2 Resultados obtenidos

La evidencia científica encontrada en los artículos se ha organizado y catalogado en una tabla reportando el tipo de estudio indicado en el artículo (*in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*, o *in silico*), registrado el tipo de actividad de los péptidos encriptados en relación con la salud (*efecto antihipertensivo*, *antioxidantes*, *anticancerígeno*, etc), la fuentes de alimento (especificando la proteína precursora del péptido) y el autor tal como se muestra al final del documento en el **ANEXO 1**.

Los datos y la información recogida se han utilizado para recopilar la tabla que se indica a continuación (**Tabla 9**) y posteriormente han sido tratados para permitir unas visualizaciones gráficas de los resultados (**Figuras: 4- 5- 6-7**).

Tabla 9. Péptidos encriptados: tipo de evidencias, bioactividad y fuentes precursoras				
Origen	Proteína precursora	Actividad del péptido	Evidencia	Referencia
Amaranto	Proteína de semillas de Amaranto	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibición de la ECA (antihipertensivo)</li> </ul>	<i>in silico</i> <i>in vitro</i> <i>in vivo</i> (ratas SHR)	2020, <a href="#">Nardo</a> 2008, <a href="#">Silva</a>
Huevo	Proteínas de la yema de huevo - Fosvitina - Lipoproteínas - Livetina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo</li> <li>• antioxidante</li> <li>• antimicrobiano</li> <li>• crecimiento óseo</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2014, <a href="#">Zambrowicz</a>
Carne, Carne fermentada	Proteínas del musculo - Bovino - Porcino - Aves	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antioxidante</li> <li>• inhibición de la ECA (antihipertensivo)</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2015, <a href="#">Stadnik</a>
Leche	Proteínas del calostro Leche precoz de búfalo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibición de la ECA (antihipertensivo)</li> <li>• inhibición de DDP-IV</li> </ul>	<i>in vitro</i> <i>in silico</i>	2019, <a href="#">Ashok</a>
Leche fermentada	Proteínas de leche	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibición de la ECA (antihipertensivo)</li> </ul>	<i>in vivo</i> (ratas) <i>in vivo</i> (humanos)	2014, <a href="#">Domínguez</a>
Leche humana	$\beta$ -caseína humana	<ul style="list-style-type: none"> <li>• salud del bebe</li> <li>• opioide</li> </ul>	<i>in vivo</i> (humanos)	2019, <a href="#">Enjapoori</a>
Leche fermentada	Proteínas de leche	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo</li> </ul>	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i> (ratas)	2016, <a href="#">Beltrán</a>
Semillas vegetales	Plantas medicinales ( <i>Momordica charantia</i> ) ( <i>Jatropha curcas</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antitrombótico</li> <li>• hipolipemiante</li> <li>• hipoglucemiante</li> <li>• hipocolesterolémico</li> </ul>	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i> (ratas) <i>in vivo</i> (ratones)	2014, <a href="#">Herrera</a>
Semillas de lino	Proteínas de linaza ( <i>Linum usitatissimum</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo</li> </ul>	<i>in silico</i>	2013, <a href="#">Ji</a>
Plantas	Plantas medicinales ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) ( <i>Ziziphora clinopodioides</i> ) ( <i>Cressa cretica</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• citotóxica cel. cáncer</li> <li>• antioxidante</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2020, <a href="#">Taghizadeh</a>
Soja	Proteínas de la clara de huevo Proteínas de soja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antidiabético</li> <li>• antiobesidad</li> </ul>	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i> (ratas)	2021, <a href="#">Chelliah</a>
Insectos comestibles	Proteína del escarabajo ( <i>Tenebrio molitor</i> ) ( <i>Ulomoides dermestoides</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antioxidante</li> <li>• antimicrobiano</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2020, <a href="#">Flores</a>
Leche	Proteínas del suero	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo (poder vasodilatador)</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2020, <a href="#">Ozorío</a>
Leche fermentada bovina	$\beta$ -caseína	<ul style="list-style-type: none"> <li>• estimula mucosidad</li> <li>• opioide</li> <li>• antioxidante</li> <li>• inhibición de la ECA</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2014, <a href="#">Plaisancié</a>

<b>Tabla 9. Péptidos encriptados: tipo de evidencias, bioactividad y fuentes precursoras</b>				
<b>Origen</b>	<b>Proteína precursora</b>	<b>Actividad del péptido</b>	<b>Evidencia</b>	<b>Referencia</b>
Leche de vaca	$\beta$ -caseína	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antiinflamatorio</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2014, <a href="#">Malinowski</a>
Leche de vaca ( <i>Karan Fries</i> )	$\beta$ -caseína	<ul style="list-style-type: none"> <li>• opioide</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2015, <a href="#">Ul Haq</a>
Leche de cabra	caseína proteína del suero	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antiproliferativo (carcinoma colorrectal)</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2021, <a href="#">Cakir</a>
Leche de camello	caseína	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antibacteriano</li> <li>• antihipertensiv0</li> </ul>	<i>in silico</i>	2021, <a href="#">Ryskaliyeva</a>
Leche bovina Leche de cabra	K-caseína	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antimicrobiano</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2012, <a href="#">Robitaille</a>
Cebada	proteínas de "grano gastado" en cervecería	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antioxidante</li> <li>• inmunomodulador</li> <li>• inhibidor de DPP-IV</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2019, <a href="#">Connolly</a>
Leche de vaca	fórmulas para leches infantiles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo hipocolesterolémico (ratas)</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2015, <a href="#">Wada</a>
Leche y Lácteos	$\alpha$ -lactoalbúmina $\beta$ -lactoglobulina caseína	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo</li> <li>• antioxidante</li> <li>• binding de minerales</li> <li>• antitrombótico</li> <li>• opioide</li> <li>• hipocolesterolémico</li> <li>• antimicrobiano</li> <li>• Supresor apetito</li> <li>• factores de crecimiento</li> <li>• células cancerosas antiproliferativo</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2015, <a href="#">Park</a>
Queso "Scamorza" de leche de oveja	proteínas del queso	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibición de la ECA (antihipertensivo)</li> <li>• inmunomodulador</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2015, <a href="#">Albenzio</a>
Suero de leche	$\alpha$ -lactoalbúmina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antioxidante</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2021, <a href="#">Báez</a>
Salmón	extracto proteico de víscera de salmón	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antioxidante</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2021, <a href="#">De la Fuente</a>
Amaranto	proteínas de semillas ( <i>Amaranthus hypochondriacu</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibidor de la ECA</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2021, <a href="#">Sánchez</a>
Leche de ciervo rojo	lactoferrina de ciervo ( <i>Cervus elaphus</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antimicrobiano</li> </ul>	<i>in vitro</i>	2021, <a href="#">Wang</a>
Terciopelo de los cuernos del ciervo	análisis peptidómico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibición de la ECA (antihipertensivo)</li> </ul>	<i>in silico</i> <i>in vitro</i>	2019, <a href="#">Haines</a>
Semillas vegetales	proteínas de alubia alga arroz	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo</li> </ul>	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i>	2015, <a href="#">Aluko</a>

Tabla 9. Péptidos encriptados: tipo de evidencias, bioactividad y fuentes precursoras				
Origen	Proteína precursora	Actividad del péptido	Evidencia	Referencia
	cáñamo cereza ciruela guisante lentejas patata dulce soja trigo			
Tejido conectivo	colágeno bovino colágeno marino	<ul style="list-style-type: none"> <li>• inhibidora de ECA</li> <li>• antioxidante</li> <li>• cicatrizante</li> <li>• adhesión celular</li> </ul>	-	2016, <a href="#">Banerjee</a>
Lácteos	caseína y suero	<ul style="list-style-type: none"> <li>• antihipertensivo</li> <li>• inhibición de DPP-IV</li> </ul>	<i>in silico</i> <i>in vitro</i>	2021, <a href="#">Auestad</a>
Leche humana	$\alpha$ -lactoalbúmina $\beta$ -caseína (leche materna)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coincidencia para</li> <li>• opioides</li> <li>• antihipertensivo</li> <li>• antioxidante</li> <li>• antitrombótica</li> <li>• inhibidora de DPP4i</li> <li>• inmunomoduladora</li> <li>• inhibidora de prolil endopeptidasa</li> </ul>	<i>in vivo</i> (ratas)	2017, <a href="#">Wada</a>
Formulas infantiles	$\beta$ -lactoglobulina $\beta$ -caseína (origen bovino)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coincidencia para</li> <li>• analgésica</li> <li>• antibacteriana</li> <li>• antihipertensiva</li> <li>• antioxidante</li> <li>• antitrombótica</li> <li>• inhibición DPP-IV</li> <li>• hipocolestergolémica</li> <li>• inmunomoduladora</li> <li>• opioide</li> <li>• inhibidora de prolil-endopeptidasa vasoactiva</li> </ul>		

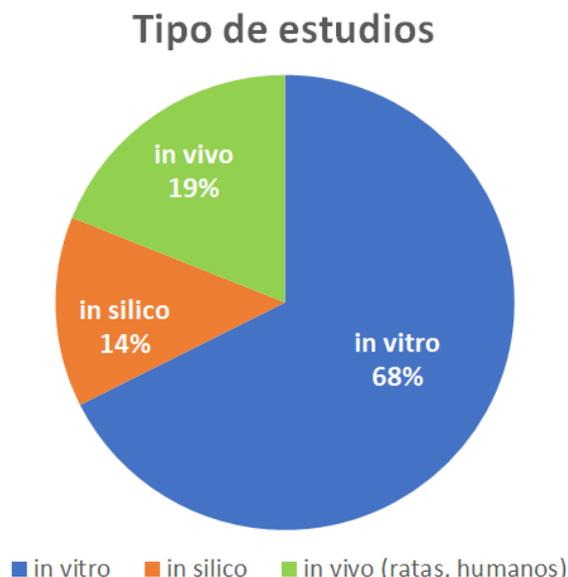
(Fuente: elaboración propia)

### 7.3 Consideraciones sobre los resultados

En línea general las publicaciones científicas sobre “péptidos encriptados en los alimentos”, en base a los registros encontrados en PubMed, han crecido aproximadamente de un 50% en los últimos 10 años comparado con la década anterior indicando que hay un interés creciente para su estudio.

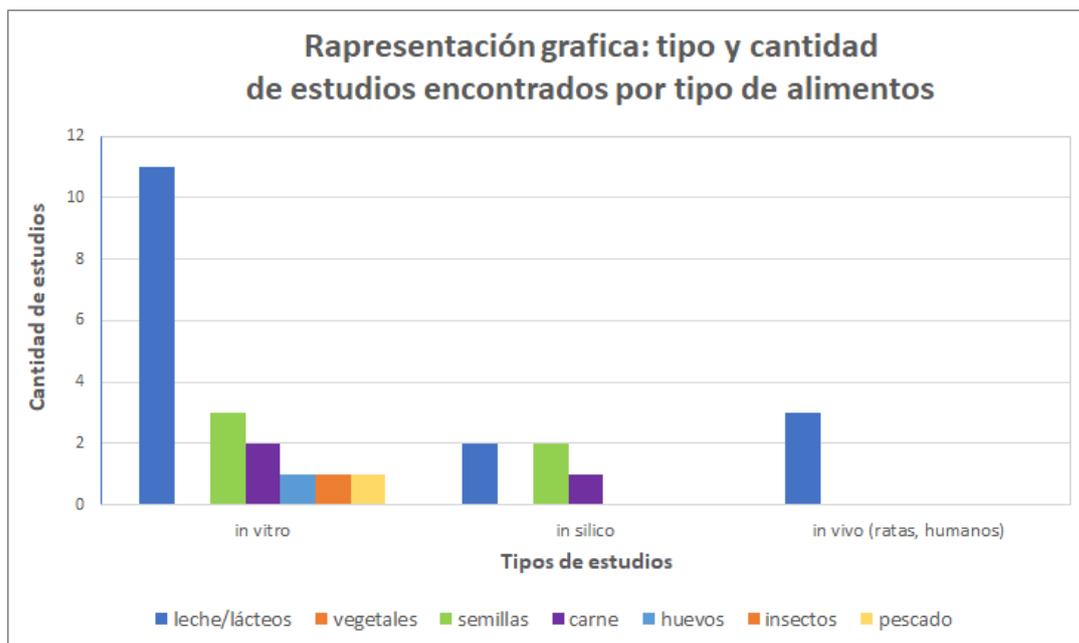
<b>encrypted AND peptide AND food</b>	29 resultados	1999 - 2011
	62 resultados	2011- 2021

Acerca de los artículos científicos de esta revisión, se ha observado que la actividad biológica de los críptidos de origen alimentario, en su gran mayoría viene comprobada con métodos de estudios *in vitro*; no existen estudios recientes de importancia clínica y los estudios *in vivo* tanto con animales que en ser humano son limitados así como los estudios *in silico* (Figura 4).



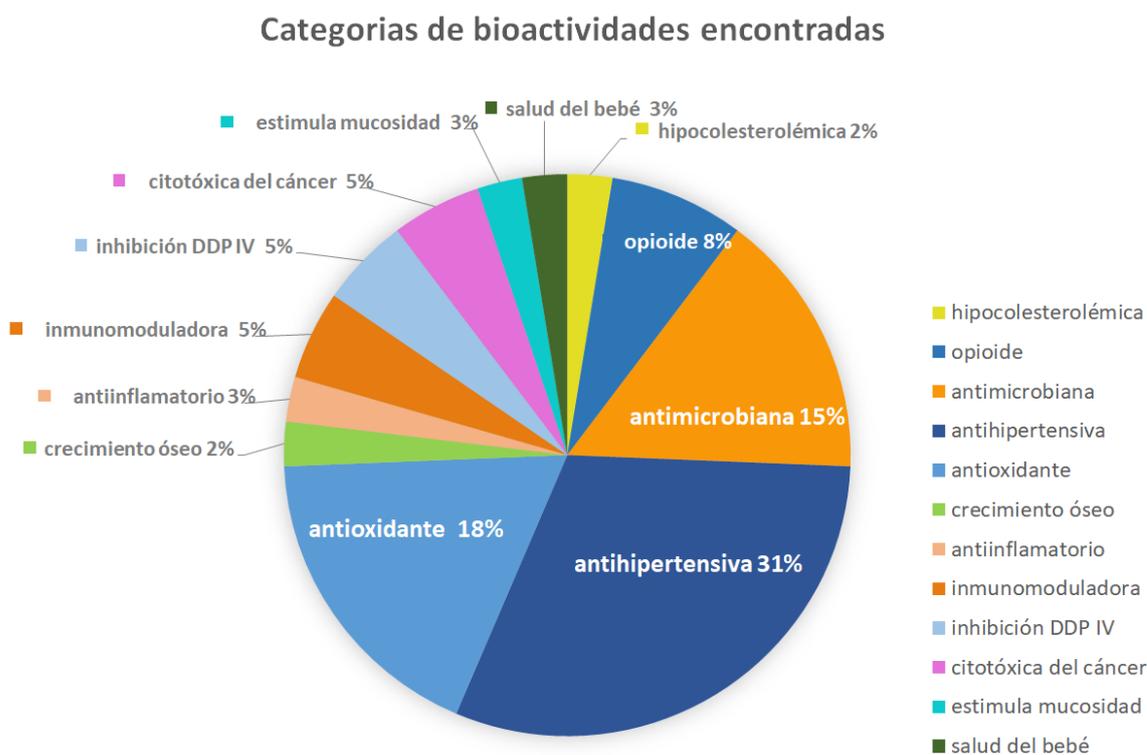
**Figura 4.** El método de estudio *in vitro* es la estrategia más utilizada (Fuente: elaboración propia)

Respecto a las principales fuentes alimentarias investigadas, la leche y los derivados lácteos son la fuente de péptidos encriptados más estudiada, asimismo son la única en la que se investiga la bioactividad con métodos *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* e *in silico* (Figura 5).



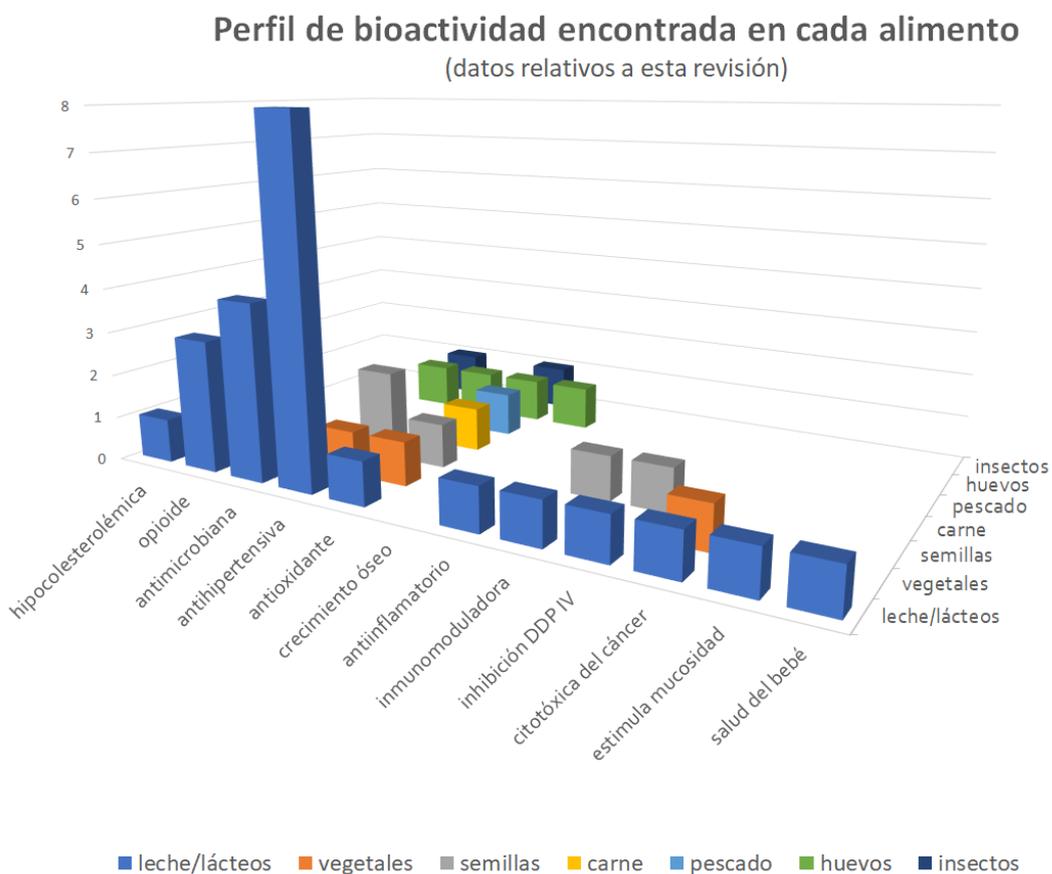
**Figura 5.** Los lácteos son los alimentos con más estudios (Fuente: elaboración propia)

En cuanto al tipo de bioactividad estudiada, el gráfico circular siguiente muestra un ranking de las actividades biológicas más investigadas sobre péptidos encriptados en este último decenio. La función antihipertensiva y la antioxidante (con más estudios), seguidas de la antimicrobiana y opioide, resultan ser las que más puntuaciones tienen (Figura 6).



**Figura 6.** El efecto antihipertensivo es el más estudiado (Fuente: elaboración propia)

Basada en los estudios de esta revisión, la leche se presenta como una fuente «plurifuncional» en cuanto contiene péptidos de diferentes funciones. La abundancia de péptidos con función antihipertensivos es indicativa de la abundancia de estudios encontrados en literatura y no de la cantidad de péptidos (**Figura 7**).



**Figura 7.** Distribución de bioactividades estudiadas por alimento (Fuente: elaboración propia)

#### 7.4 Evaluación de los estudios

La literatura encontrada en esta revisión ha sido agrupada según el tipo de actividad biológica principal estudiada en las distintas fuentes alimentarias. Tres estudios de los cuales uno sobre humanos, no han sido de libre acceso y no se han podido incluir en esta revisión [Bouglé, 2017; Robinson, 2021; Mora 2015].

## 7.5 Criptidos antihipertensivos

### 7.5.1 En la leche

Las proteínas de la leche encriptan una gran variedad de péptidos bioactivos. El efecto antihipertensivo se está estudiando principalmente en las proteínas de la leche. Proteínas como las caseínas y las proteínas del suero resultan ser las proteínas alimentarias con más estudios reportados en esta revisión.

En general las proteínas lácteas como las caseínas, las proteínas del suero y las mucinas (proteínas de los glóbulos de grasa de la leche) encriptan una gran variedad de péptidos bioactivos, como los péptidos inhibidores de la *enzima convertidora de la angiotensina* (ECA), péptidos con *efecto antimicrobiano, antioxidante opioide, antitrombótico* entre otras funciones [Park, 2015]. Los criptidos pueden exhibir sus actividades una vez liberados por acción de las enzimas digestivas, por acción de proteasas presentes en la membrana de las bacterias intestinales o por obra de peptidasas en circulación [Wada, 2014; Wada, 2017]. También pueden ser liberados *in vitro* con el uso de enzimas específicas o producirse durante el proceso de elaboración de ciertos alimentos.

Los principales criptidos inhibidores de la enzima ECA y con efecto fundamentalmente antihipertensivo provienen de proteínas de la leche. Son conocidos en literatura péptidos denominados casoquininas, originarios de caseína, ( $\alpha$  y  $\beta$ -caseína) y lactoquininas ( $\alpha$ -LA y  $\beta$ -lactoglobulina) del suero de leche con efecto antihipertensivo [Meisel y Schlimme, 1994; FitzGerald y Meisel, 2000; Hernández-Ledesma, 2009]

El efecto antihipertensivo, se mide *in vitro* con métodos que evalúan la inhibición de la *enzima convertidora de angiotensina* (ECA). De hecho, en los trabajos evaluados, esta resulta ser la estrategia que más viene utilizada en la identificación de péptidos antihipertensivos de los alimentos. El potencial inhibitorio viene expresado mediante el valor IC<sub>50</sub> que representa la concentración de péptido que inhibe al 50% de actividad de la enzima ECA.

La angiotensina II es una hormona conocida por ser un potente agente vasoconstrictor tanto a nivel local como sistémico. En caso de hipotensión permite restablecer y mantener la presión arterial (PA) a unos valores adecuados.

Se forma por acción de las enzimas: Renina [Inagami,1981] y la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) [Corvol, 2004; Zhuo, 2013] que pertenecen a lo que se conoce como sistema renina-angiotensina (SRA) que convierte el precursor inactivo, el angiotensinógeno, en angiotensina I y esta a su vez viene convertida rápidamente en

angiotensina II [Daien, 2012; Hernández-Ledesma, 2009]. Básicamente la enzima convierte la forma inactiva de angiotensina I en la forma activa angiotensina II que ejerce la vasoconstricción y es responsable de elevar la PA. Cuando se inhibe la enzima con fármacos se genera vasodilatación y reducción de la presión.

Los péptidos de proteínas lácteas inhibidores de la ECA, una vez liberados y absorbidos a nivel intestinal, inhiben en circulo la *enzima bloqueando la conversión del vasoconstrictor*, impidiendo el aumento de la PA y actuando como agentes hipotensores. Esta es la razón del gran interés en el estudio de este tipo de péptidos por su posible uso en el tratamiento y prevención de la hipertensión tanto a nivel nutricional y farmacéutico [Udenigwe, 2014].

### 7.5.2 En leches fermentadas

Algunos trabajos han examinado el efecto antihipertensivo en las “leches fermentadas” con estudios *in vitro* y *en vivo* [Domínguez, 2014; Beltrán, 2016].

Los lácteos fermentados se obtienen procesando la leche en presencia de fermentos lácticos (*bacterias ácido-lácticas, BAL, fermentan azúcares como glucosa y lactosa para producir ácido láctico*) o levaduras que generan productos como el yogur, el kéfir o el queso. Las bacterias lácticas son del género *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* y *Bifidobacterium*. El género *Lactobacillus* ha sido el más empleado en algunos estudios clínicos sobre el efecto antihipertensivo de leches fermentadas y para producir péptidos inhibidores de la ECA [Beltrán, 2016].

Se trata de microorganismos que, por medio del propio sistema proteolítico, de proteasas y peptidasas específicas, son capaces de hidrolizar las proteínas de la leche y generar péptidos bioactivos siendo la caseína una de las proteínas lácteas con mayor cantidad de péptidos bioactivos generados, especialmente la  $\beta$ -caseína [Domínguez 2014].

Dos péptidos muy estudiados son unos “lacto-tripéptidos” de secuencia *valina-prolina-valina* (VPP) e *isoleucina-prolina-prolina* (IPP) que han demostrado poseer capacidad inhibitoria de la ECA a una concentración inhibitoria del 50 % (IC<sub>50</sub>) de 9,0 y 5,0  $\mu$ mol [Domínguez, 2014]. Estos péptidos cuentan en su secuencia con la presencia del aminoácido prolina que les hace resistentes a la acción hidrolítica completa por parte de las proteasas digestivas [Domínguez, 2014; Tzakos, 2003].

En algunos estudios de leches fermentadas con cepas de *Lactobacillus* se ha visto que algunas de las cepas que exhiben actividad inhibitoria de la ECA *in vitro* no

reducen la presión arterial *in vivo* con ratas. Esto indica que las pruebas *in vitro* solo pueden reproducir una parte de las interacciones moleculares y que el sistema *in vivo* es mucho más complejo. Estudios *in vivo* y ensayos clínicos son imprescindible para demostrar realmente un efecto fisiológico [Beltrán, 2016; Hernández-Ledesma, 2011].

Estudios *in vivo* con ratas espontáneamente hipertensas (SHR) han demostrado la capacidad hipotensora de los péptidos de leche fermentada. La administración de leche fermentada inclusiva de los “lacto-tripéptidos” VPP e IPP en ratas hipertensa (SHR) produce una disminución de la presión arterial sistólica (PAS) de 8,3 mmHg después de 9 semanas.

Se ha establecido que el efecto hipotensor está vinculado al tipo de cepa ácido-láctica usada en la fermentación y a la actividad enzimática específica de cada [Domínguez, 2014]. En ratas SHR jóvenes que aún no habían desarrollado hipertensión, se les suministró leche fermentada con *L. helveticus* enriquecida con los lacto-tripéptidos VPP e IPP. La presión arterial fue aumentando semanalmente como era previsto para este tipo de ratas hasta que no aumentó más y se estabilizó en comparación con ratas SHR no tratadas, indicando que la leche fermentada y los tripéptidos pueden atenuar y controlar el desarrollo de la hipertensión. Además, en un ensayo a largo plazo se observó que las ratas llegaron incluso al mismo nivel de presión que el grupo control indicando un posible uso como tratamiento no-farmacológico de la hipertensión para humanos [Beltrán, 2016; Sipola, 2001].

Múltiples estudios han demostrado que los lácteos fermentados con *L. helveticus* son los que demuestran el mayor efecto de reducción de presión arterial sistólica. Tras 4 horas de suministro de leche fermentada en ratas (5 mL/kg de peso corporal) con cepas de *L. helveticus* se conseguían los siguientes valores: CP790 (-27,4 ± 13,3 mmHg), CP611 (-20 ± 9,6 mmHg), CP615 (-23 ± 13,4 mmHg) o JCM1004 (-29,3 ± 13,6 mmHg) [Beltran, 2016; Yamamoto, 1994].

Otros autores han indicado que leche fermentada con *Enterococcus faecalis*, generan el mejor resultado tras 20 semanas de consumo con una disminución de la presión sistólica (PAS) y de la presión diastólica (PAD) de 36,11 y 3,67 mmHg, respectivamente [Beltrán, 2016; Miguel, 2005].

Péptidos aislados de leche de vaca fermentada con cepas de *Enterococcus faecalis*, disminuyen la presión arterial sistólica y la diastólica en ratas SHR 4h después de su administración en comparación con el control (Captopril, a 50 mg / kg de peso corporal) un fármaco inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina y que muestra una disminución máxima 6h después de la administración. Sobre este estudio, otros autores han identificado y aislado uno de los péptidos obtenidos con *Enterococcus faecalis*, LHLPLP, que disminuye la PAS y la PAD incluso más que los tripéptidos IPP y

la VPP [Beltrán, 2016; Quirós, 2007]. Un dato particularmente interesante ha sido que la administración de leche fermentada o de los lacto-tripéptidos reduce de forma significativa la presión en ratas hipertensas, pero en cambio no tiene efecto en ratas normotensas indicando que el efecto de las leches fermentadas es un efecto específico del estado hipertensivo [Beltrán, 2016; Nakamura, 1995].

En otros estudios se ha evaluado la absorción de los lacto-tripéptidos en ratas hipertensas comparadas con ratas normotensas y se ha podido comprobar que los péptidos se encuentran a nivel de la aorta abdominal indicando un efecto hipotensor y una absorción directa de los péptidos sin más hidrólisis y [Beltrán, 2016; Masuda, 1996].

Otro péptido antihipertensivo estudiado en ratas SHS, la  $\alpha$ -lactorfinase (Tyr-Gly-Leu-Phe), demostró reducir la presión con una relación dosis / respuesta. La administración de 100  $\mu$ g / kg de peso corporal de este péptido pudo reducir la PAS de 23,4 mmHg y la PAD de 17,4 mmHg pero no modificó la presión de ratas normales y además los autores sugieren una posible actividad opioide presente para este péptido además de modular la PA [Beltrán, 2016; Nurminen, 2000].

Otros autores han evaluado el efecto del “suero de leche fermentado” con un mix de “bacterias ácido-lácticas” (BAL) (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium*). A las 8 semanas de administración, la presión sistólica y diastólica fueron 22 y 21,5 mmHg más bajas que el control atribuyendo el efecto a los tripéptidos Gly-Thr-Trp y Gly-Val-Trp y demostrando un efecto antihipertensivo también con el suero de leche fermentada [Beltrán, 2016; Chen, 2007]. Aunque la mayoría de los autores atribuyen el efecto hipotensor de la leche fermentada a los péptidos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, IPP y VPP, como se ha visto existen péptidos distintos (**Tabla 10.a**) que pueden estar implicados en mecanismos antihipertensivos [Beltrán, 2016].

Muchos estudios *in vivo* han utilizado leche fermentada con *L. helveticus* en cuanto producen los lacto-tripéptidos VPP e IPP y se llegaron a lanzar en el mercado algunas propuestas de leche fermentada con efecto antihipertensivo de marcas como «Calpis» (Calpis, Japón), «Evolus» (Valio, Finlandia), Kaiku Vitabrand (Kaiku, España) [Dominquez, 2014]. Pero no obstante se hayan conseguido un importante número de estudios sobre el efecto de las leches fermentadas en la hipertensión, la EFSA en el 2011 ha considerado insuficientes las evidencias de los lacto-tripéptidos alegando que existe una diferencia muy pequeña entre el tratamiento con estos tripéptidos y el placebo en humanos recomendando para ello estudios de mayores dimensiones.

En humanos se han hechos ensayos clínicos controlados aleatorizados que han estudiado el efecto antihipertensivo de leches fermentadas (**Figura 9**). La mayoría de los ensayos clínicos se han llevado a cabo con leche fermentada sobre todo *L.*

*helveticus* y *S. cerevisiae* y con los tripéptidos IPP y VPP. En muchos de los casos se ha demostrado un efecto de mejora respecto al placebo, pero a veces las muestras de la población no eran lo suficientemente grandes para satisfacer la relevancia estadística, en otros casos no se especificaba correctamente si había existencia de medicación entre los hipertensos del estudio, así como otros errores metodológicos. No obstante, muchos de los estudios clínicos (**Tabla 10.b**) han demostrado que las leches fermentadas tienen efecto hipotensor en comparación con el grupo control y han concluido que los lacto-tripéptidos tienen efecto hipotensor en pacientes prehipertensos e hipertensos [Domínguez, 2014]. Pero como ya se ha comentado, pesa sobre ello el informe de la opinión científica del panel de la EFSA publicado en 2011, en particular sobre las declaraciones de propiedades saludables relacionada con IPP y VPP y la presión arterial, la EFSA concluyó que no se había determinado una causa y efecto sobre el consumo de IPP y VPP en el mantenimiento de la presión arterial normal (EFSA 2011).

**Tabla 10.a.** Diversidad de péptidos antihipertensivos obtenidos de las  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\kappa$ -caseínas

Secuencias de péptidos inhibidores de la ACE encontrados en leche de vaca fermentada				
Caseína	Fracción	Secuencia	IC <sub>50</sub> (μmol)	Referencia
$\alpha_1$	146-147	YP	720,00	10
	194-199	TTMPLW	51,00	10
	142-147	LAYFYP	65,00	10
	157-164	DAYPSGAW	98,00	10
$\alpha_2$	19-23	TYKEE	12,41*	6
$\beta$	114-115	YP	720,00	10
	74-76	IPP	5,00	6,11
	84-86	VPP	9,00	6,11
	25-29	RINKK	12,05*	6
	69-73	SLPQI	5,29*	6
	193-198	YQEPVL	280,00	6
	108-113	EMPFK	423,00	10
	177-183	AVPYPQR	274,00	10
	73-82	HIPPLTQTPV	179,98*	15,19
	11-20	LVYFPGPIH	89,00	40
	11-26	LVYFPGPIHSLPQI	71,00	40
$\kappa$	58-59	YP	720,00	10
	108-110	IPP	5,00	10
	96-100	ARHPH	9,64*	6

\* μg/ml.

(Fuente: Domínguez et al, 2014)

**Tabla 10.b.** Ejemplo de estudios clínicos controlados aleatorios sobre leches fermentadas en humanos

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® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )	95 ml/d	Estudio controlado con placebo, en 30 sujetos hipertensos	-14,1 PAS -6,9 PAD	8	18
Leche fermentada ( <i>L. casei</i> TMC0409 y <i>S. thermophilus</i> TMC1543)	2 x 200 ml/d	Estudio simple ciego y paralelo con la leche fermentada y el placebo, en 20 voluntarios	-7,0 PAS	8	27
Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )	95 ml/d	Estudio en 18 sujetos con hipertensión.	-7,6 PAS (NS) -2,0 PAD (NS)	8	22
Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )	160 g/d	2,53 mg VPP y 1,52 mg IPP; estudio placebo controlado, doble ciego, en personas que tenían hipertensión L o M no tratada con medicamentos	-13,7 PAS -7,4 PAD	8	27
Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. 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® ( <i>L. 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 ( <i>L. casei</i> Shirota y <i>Lc. lactis</i> YIT 2027) con GABA	100 ml/d	Estudio aleatorizado, controlado con placebo, simple ciego, en 39 sujetos con hipertensión L	-17,4 PAS -7,2 PAD	12	21
Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)	150 ml/d	Estudio aleatorizado controlado con placebo en 39 sujetos hipertensos	-6,7 PAS -3,6 PAD	21	44
Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. 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® ( <i>L. 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 1.ª fase 8-10 En la 2.ª fase 5-7	47
Tabletas de leche fermentada en polvo ( <i>L. 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 hipertensión arterial NA o L	-3,2 PAS (NA) -11,2 PAS (L)	4	2
Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)	2 x 150 ml/d	22,5 mg IPP + 30 mg VPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 94 sujetos con hipertensión L	-4,1 PAS -1,8 PAD	10	24

PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; NS: No significativo; VPP: lactotripéptido Val-Pro-Pro; IPP: lactotripéptido Ile-Pro-Pro; L: leve; M: moderada; GABA: ácido  $\gamma$ -aminobutírico.

(Fuente: Domínguez, 2014)

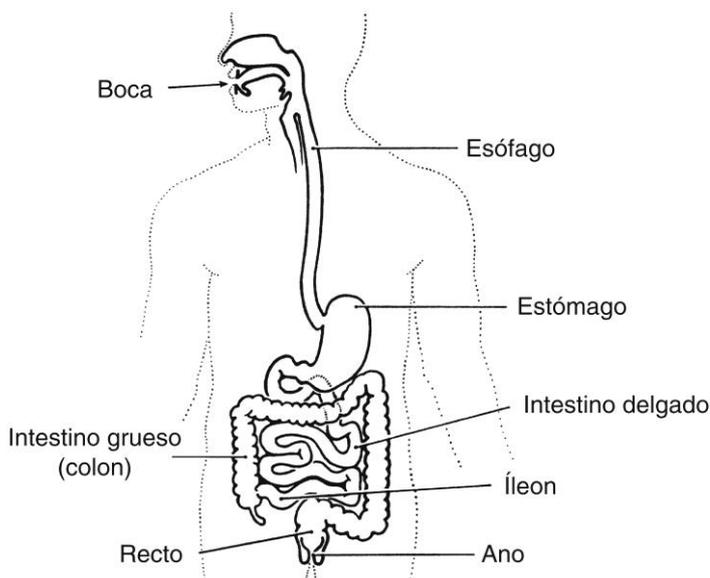
### 7.5.3 En leches infantiles

Se ha descrito presencia de péptidos encriptados también en fórmulas infantiles que pueden ser liberados por digestión *in vitro*. Las fórmulas infantiles preparadas industrialmente, contienen proteínas hidrolizadas y representan una alternativa a la leche materna. Los autores han estudiado *in vitro* si la hidrólisis industrial puede cambiar el perfil de los péptidos bioactivos o su cantidad [Wada, 2015]. Resultados de digestiones *in vitro* han revelado que fórmulas infantiles de leche estándar liberan una mayor cantidad de péptidos bioactivos que las fórmulas infantiles hidrolizadas. Es posible que la hidrólisis industrial de las proteínas de la leche pueda reducir o atenuar la bioactividad "encriptada" de los péptidos. Estas características tienen que ser tenidas en cuenta a nivel de alimentación del bebé en cuanto puede haber un diferente aporte de bioactividades que podrían tener relevancia biológica para su salud [Wada, 2015].

En cuanto a la localización y transformación de los péptidos en el tracto digestivo un estudio ha aportado conocimientos sobre cómo se digieren *in vivo* las proteínas de la leche y cómo podrían liberarse los péptidos bioactivos en los bebés [Wada, 2017].

Los resultados de pruebas *in vivo* con crías de ratas (usadas como modelo de bebés humanos) alimentadas algunas con leche materna y otras con fórmulas infantiles, parecen indicar que las proteínas de la leche se digieren sobre todo en el estómago y la parte proximal del intestino delgado y que los péptidos difícilmente

pueden llegar a la parte distal del intestino delgado. No obstante, los péptidos de la  $\beta$ -caseína contienen regiones que pueden sobrevivir a una digestión completa en el intestino delgado e incluso llegan a la parte distal parcialmente digeridos. Esta resistencia a la digestión puede ser debida a la presencia de residuos de prolina (Pro) en las secuencias peptídicas. Esto explicaría la presencia de un gran número de péptidos de dimensiones más grandes (sobre todo péptidos de  $\beta$ -caseína) que se pueden encontrar en el intestino delgado de crías



**Figura 10.** Intestino Delgado y Grueso

(Fuente: <https://www.niddk.nih.gov/news/media-library/8340>)

alimentadas tanto con leche materna que con leches infantiles [Wada, 2017].

Las evaluaciones llevaron a identificar 8 péptidos que coincidían completamente en bases de datos con secuencias conocidas de péptidos bioactivos. La cantidad de péptido fue mayor en el caso de las fórmulas de leches infantiles respecto a la leche materna y con algunas diferencias en el perfil de bioactividades siendo en general identificables en ambos casos funciones como la antihipertensivas, antioxidantes, antitrombóticas, inhibidoras de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV), inmunorreguladoras, opioides, inhibidoras de prolilendopeptidasa [Wada, 2017]. Curiosamente este estudio reveló *in vivo* bastante menos péptidos bioactivos comparados con resultados de estudios previos *in vitro* cosa que hace cuestionar sobre la funcionalidad *in vivo* [Wada, 2017]. En el estudio se ha informado también sobre presencia de péptidos opioides derivados de la  $\beta$ -caseína (llamados  $\beta$ -casomorfina) y unos fragmentos que contienen un péptido antihipertensivo, HLPLP, derivado de la  $\beta$ -caseína. En los humanos, tanto los lactantes amamantados con leche materna que los alimentados con fórmula infantiles pueden verse influenciados por las  $\beta$ -casomorfina derivadas de la leche en el desarrollo y control del tracto gastrointestinal y en cuestiones de aprendizaje y memoria. No está claro hasta la fecha la posible función de péptidos antihipertensivos en la fisiología del neonato [Wada, 2017].

#### 7.5.4 En suero de leche

Otro estudio ha investigado el efecto “vasodilatador” de hidrolizados de proteína de suero mediante **estudio de digestión simulada** [Ozorio, 2020]. El suero de leche es la parte líquida de la leche (constituido por agua, proteínas, lactosa, grasa y minerales) que se separa de la parte cuajada de la leche (caseína y grasa) durante la preparación del queso [Parra, 2009]. Las **proteínas del suero** (principalmente de  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina) inmunoglobulinas y proteínas menores [Fernández-Fernández et al., 2017], contienen péptidos bioactivos encriptados que pueden disminuir la presión arterial (PA) a través de diferentes mecanismos [Udenigwe, 2014]:

- por inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA)
- bloqueo de canales iónicos de calcio
- por estimulación de la producción de óxido nítrico

El óxido nítrico ha sido reconocido como una molécula reguladora de la presión arterial y se ha descrito como vasodilatador principal producido por las células endoteliales de las arterias [Konukoglu, 2016; Centelles, 2004].

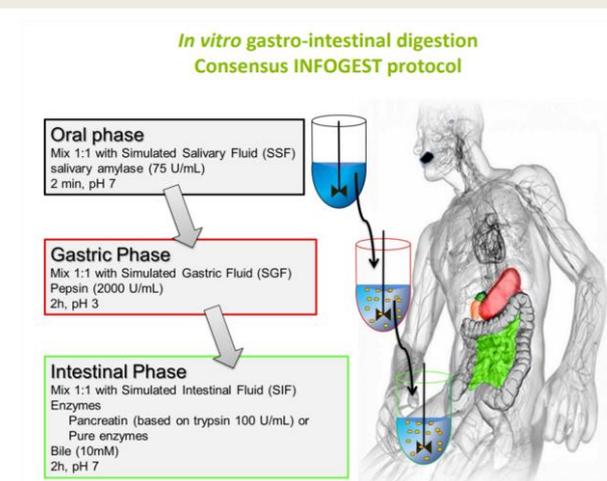
Para estudiar el efecto a nivel vascular de hidrolizados de proteínas del suero, se han sometido las proteínas del suero a **digestión gastrointestinal simulada** *in vitro*

(Nota 1) con un protocolo estándar (INFOGEST). Tras digestión se han identificaron 198 péptidos por cromatografía y espectrometría de masas. Finalmente, para conocer el potencial de actividad a nivel vascular, los hidrolizados de proteína han sido testados sobre secciones de aorta de ratas (*anillos aórticos*) para evaluar la respuesta contráctil y los cambios del tono vascular. Se obtuvieron unas curvas de vasorelajación del endotelio y los datos fueron expresados como porcentaje de relajación máxima y consiguiente análisis estadístico de los resultados. En conclusión, la digestión gastrointestinal del hidrolizado de proteínas del suero generó péptidos bioactivos que mostraban poder vasodilatador induciendo relajación vascular *in vitro*. Con estos resultados se hay añadido un nuevo conocimiento en lo que es el complejo mecanismo que regula la presión arterial y el papel de los péptidos encriptados que no se limita solo a la inhibición de la ECA y que involucra muchas otras vías [Ozorio, 2020].

**Nota 1: Digestión simulada *in vitro*: Método estático y dinámico**

Un método estándar de digestión estática *in vitro*, de consenso internacional, es el protocolo INFOGEST [Minekus, 2014] que utiliza cantidades constantes de comida y fluidos digestivos (se realizan en un contenedor con una disolución en agitación constante, parámetros controlados de comida, fluidos digestivos y pH para cada paso de la digestión) y que puede dar información sobre las modificaciones que ocurren a los péptidos durante la digestión pero no puede reproducir las condiciones fisiológicas reales de la digestión [Donis, 2020].

Por el contrario, en los **modelos dinámicos** se incluyen típicamente la fase oral, la gástrica, el intestino delgado y a veces la fermentación del intestino grueso. Los métodos dinámicos quieren imitar las condiciones fisiológicas *in vivo* del lumen gástrico, prevén compartimentos, la motilidad gástrica, control de las contracciones, pueden reproducir condiciones fisiológicas como las secreciones gástricas, así como el sistema de vaciado que permiten entender la digestión y la absorción de los compuestos, pero aún no existe un protocolo estándar para los modelos dinámicos [Donis, 2020].



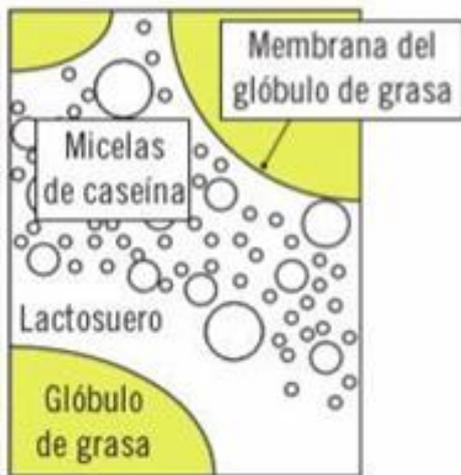
Ejemplo de: **Protocolo de digestibilidad *in vitro*** usado en **estudios estáticos**. Tres fases componen el proceso de digestión *in vitro*: oral, gástrica e intestinal [Minekus, 2014]



Ejemplo de: **Modelos de digestión simulada** [Dupont D., 2004]

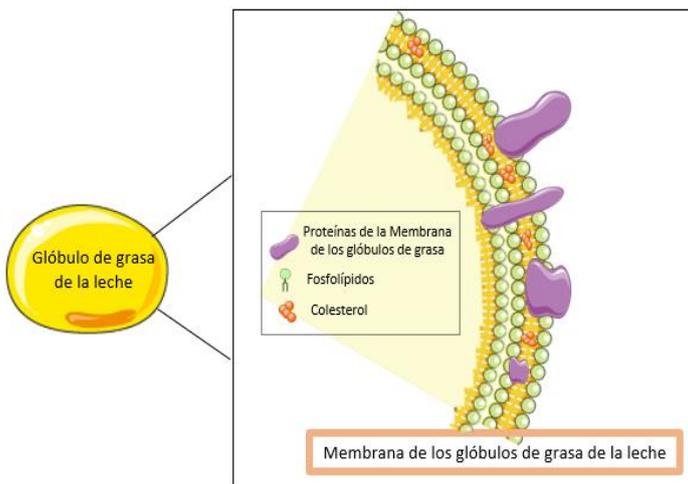
### 7.5.5 En los glóbulos de grasa de la leche

La mayoría de los estudios visto hasta ahora se centran en péptidos encriptados derivados de proteínas de la leche como las caseínas o las proteínas del suero. Otro estudio [Ashok, 2019] ha evaluado el potencial bioactivo de **proteínas de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche** en estudios *in sílico* e *in vitro* (Figura 11).



Para ello se ha utilizado leche precoz de búfalo, más comúnmente conocida como “calostro” que en términos nutricionales comparte similitudes con el calostro humano.

Tras digestión gástrica *in vitro* con pepsina de muestras de calostro y de glóbulos de grasa, los autores identificaron 89 péptidos, de menos de 3 kDa, extraídos de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche con potencial bioactividad. Los hidrolizados se analizaron por cromatografía y espectrometría de masas en tándem (nLC-ESI-MS / MS) para conocer el perfil de las secuencias. Por último, con un análisis computacional se observó que el perfil de actividad más común era el potencial inhibidor de la ECA y de la DPP-IV. A partir de los datos *in sílico* se sintetizó un heptapéptido, GIPLPLI, para testar su capacidad de inhibición *in vitro* sobre la ECA y el DPP-IV.



**Figura 11.** Componentes principales de la leche: caseínas organizadas en estructuras micelares, lactosuero y glóbulos de grasa (García, 2014)

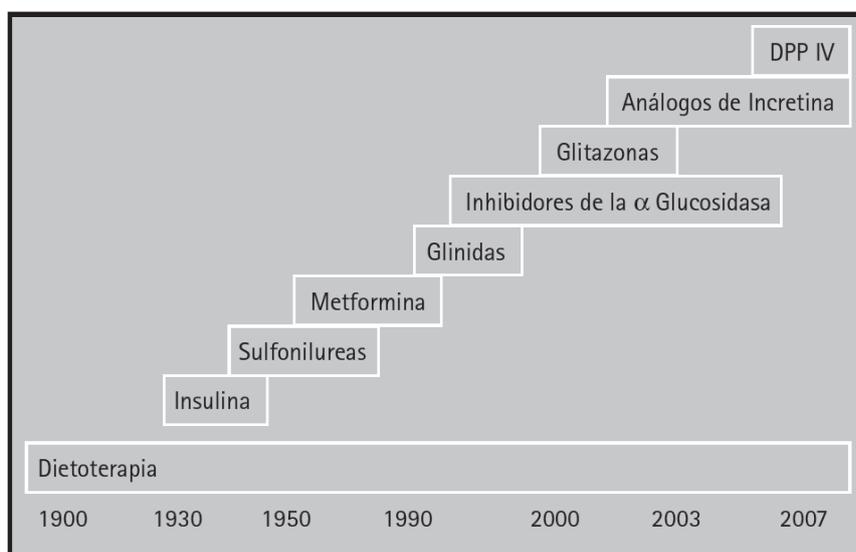
Se encontró que el heptapéptido mostraba ser mejor inhibidor de la ECA (74  $\mu$ M) que de la DPP-IV (3,83 mM). La leche se sabe que es una fuente abundante de péptidos antihipertensivos pero lo novedoso de este trabajo reside en haber identificado un «**péptido bioactivo multifuncional**» con actividad inhibidora de la ECA y de la DPP-IV. Se sabe que los péptidos de la leche tienen un potencial antidiabético por ser inhibidores de enzimas como la  $\alpha$ -glucosidasa y la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV). En el intestino delgado enzimas como la  $\alpha$ -glucosidasa se encargan de liberar la glucosa de los carbohidratos (por hidrolisis del enlace glicosídico de polisacáridos y oligosacáridos). Por tanto, cuando se inhibe las  $\alpha$ -

glucosidasa se inhibe la absorción de glucosa [Patil, 2015]. La inhibición del enzima DPP-4, se traduce en un aumento de la vida media de las hormonas incretinas (un tipo de péptido similar al glucagón tipo 1 o Glucagon-Like Peptide-1) que sirven de estímulo en la secreción de insulina y en consecuencia se genera una menor acumulación de glucosa en sangre [Girolamo, 2008; Auestad 2021].

Estas enzimas tienen un papel importante en la diabetes tipo 2. La reducción o inhibición de su actividad puede ser una estrategia en el tratamiento de la diabetes (Figura 12). Hay mucho interés para identificar péptidos encriptados bioactivos multifuncionales que puedan servir para paliar las patologías del síndrome metabólico. El síndrome metabólico es un conjunto de alteraciones clínicas (predisposición o presencia) a la hipertensión, diabetes tipo II, enfermedades inflamatorias intestinales. Por tanto, los hidrolizados de péptidos dietéticos generados durante la digestión y su potencial papel en el síndrome metabólico atrae la atención de los investigadores y de la ciencia de los alimentos.

Figura 12. Ejemplo de tratamientos usados en la diabetes tipo 2

*EVOLUCIÓN DEL TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2*



Fuente: FEPREVA [http://www.fepreva.org/curso/5to\\_curso/bibliografia/volumen2/ut3\\_vol2.pdf](http://www.fepreva.org/curso/5to_curso/bibliografia/volumen2/ut3_vol2.pdf)

### 7.5.6 En el queso

El queso representa otra fuente de péptidos encriptados en estructuras proteicas. El queso manchego de oveja de 8 meses de maduración posee varios péptidos inhibidores de la *enzima convertidora de angiotensina I* (ECA) [Gómez, 2004] y en queso

de oveja denominado “Pecorino Romano” se han identificado péptidos antibacterianos [Rizzello, 2005]. La formación de péptidos es algo que ocurre naturalmente en el proceso de maduración del queso y resultan ser componentes propios y naturales en estos alimentos [Gómez, 2002].

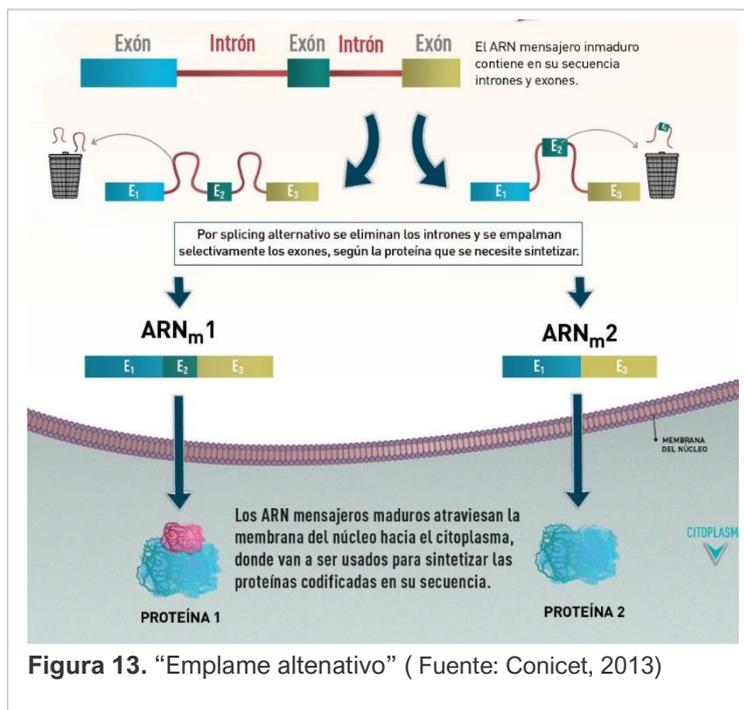
Un estudio ha evaluado el perfil de péptidos del queso ovino denominado “Scamorza” al cual se han añadido una mezcla de probióticos, una con *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium longum* o *Bifidobacterium lactis*) y otra con *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*) y un control de queso scamorza sin probióticos.

A los 15 días de maduración se ha hecho la extracción de las fracciones de péptidos y análisis por cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC / MS) de las muestras de quesos. Las que contenían probióticos presentaban un efecto proteolítico acentuado respecto al control, en especial se encontró una mayor cantidad de péptidos en los quesos inoculados con bifidobacterias que confirman la capacidad proteolítica de estas cepas. Algunos de los fragmentos correspondían a péptidos de  $\beta$ -caseína y  $\alpha$ -caseína y tenían homología de secuencia algunos con conocidos inhibidores de la ECA, otros con actividad antimicrobiana y inmunomoduladora. Hay que señalar que solo los fragmentos provenientes del queso inoculado con *Bifidobacterium* produjo péptidos bioactivos.

En conclusión, algunas cepas del queso son las responsables de controlar el proceso proteolítico y de generar péptidos encriptados con bioactividad en la matriz del queso.

### 7.5.7 En otras fuentes

La leche de camello viene descrita como otra fuente de péptidos bioactivos encriptados. En un estudio se han encontrado 2 isoformas de  $\alpha$ -caseína que se generan a partir de un mismo mRNA por empalme alternativo (*alternative splicing*). El empalme alternativo es un proceso mediante el cual se eliminan los intrones y se van empalmando los exones dependiendo del mRNA y la proteína que se tenga que generar (**Figura 13**). Tras el *splicing*, la misma transcripción permite obtener varias especies proteicas (isoformas de la misma proteína). Representa entonces un medio para aumentar la diversidad de proteínas y aumentar el número de especies moleculares partiendo de un único transcrito. Con sistemas de predicción *in silico*, los autores han reportado presencia de diferentes péptidos encriptados en la parte C-terminal de las 2 isoformas de  $\alpha$ -caseína que exhibían funciones antihipertensiva y antibacteriana.



**Péptidos derivados de semillas de amaranto** son objeto de estudio por sus propiedades antihipertensivas. Proteínas de *Amaranthus hypochondriacus* hidrolizadas con bacterias lácticas de la especie de *Lactobacillus* producen hidrolizados de proteínas con actividad inhibidora de la ECA. Dependiendo de la especie de bacteria y de enzimas bacterianos, así como de la duración de la hidrólisis, es posible obtener diferentes grados de inhibición. En el caso de este estudio se consiguió determinar *in vitro* un 45,9% de inhibición de la *enzima convertidora de angiotensina* (ECA) en presencia de proteasas de bacterias del ácido láctico [Sánchez, 2021]. Este estudio además se propuso determinar la actividad inhibidora de la ECA en hidrolizados que presentaban también actividad antioxidante, esto resulta interesante en cuanto la hipertensión suele estar asociada con el estrés oxidativo [Sánchez, 2021; Girgih, 2014].

**El huevo** es una fuente rica en proteínas y péptidos bioactivos [Zambrowicz, 2014; Abdou, 2013; You2011; Xu, 2007]. Son conocidas las propiedades antihipertensivas en la albumina de huevo, pero se sabe menos de los péptidos derivados de la yema. Con medición *in vitro* de la actividad inhibidora de la ECA y comprobación *in vivo* de los efectos de los péptidos en ratas espontáneamente hipertensas (SHR) [López, 2006], se ha comprobado que los péptidos de la yema de huevo tienen un papel de inhibición de la ECA y que ejercen un control de la hipertensión [Zambrowicz, 2014].

En particular, fosfopéptidos liberados con tripsina de la principal proteína de la yema, la fosvitina, tienen capacidad de inhibir la formación de complejos insolubles de

fosfatos cálcico y fosfato de hierro mejorando así la absorción intestinal del calcio y del hierro; inhiben la oxidación del ac. linoleico, eliminan los radicales libres DPPH y tiene capacidad quelante de los iones hierro. Presentan capacidades antioxidantes investigadas mediante varios métodos y protegen del daño oxidativo [Sakanaka, 2009], [Zambrowicz, 2012]. Otra bioactividad descrita en este alimento concierne las lipoproteínas de la yema de huevo (la de alta y de baja densidad) que resultan tener actividad antimicrobiana y se ha descrito que inhiben el crecimiento de microorganismos como *Streptococcus mutans in vitro* [Mine, 2006].

En el plasma de la yema de huevo además de las lipoproteínas se encuentra las *livetinas*, un grupo de proteínas que en ensayos *in vitro* e *in vivo* parece actuar en la prevención de la osteoporosis en cuanto los péptidos derivados aumentan la fijación del calcio en los huesos y evitan la formación del fosfato cálcico insoluble [Kim, 2011] y [Eckert, 2013]. Otro aspecto reportado en literatura es que el consumo de hidrolizados de proteínas de la yema inhibe la proliferación tumoral [Ishikawa, 2013] y pueden ser útiles en la prevención del cáncer colorectal. Esto se debe a que los fosfopéptidos liberados de la fosvitina actúan modulando a enzimas antioxidantes (catalasa y glutatión reductasa) Por último por su capacidad de ligar metales (quelante de metales) tiene también actividad antimicrobiana contra *E. coli* [Choi, 2004].

#### **Péptidos de las semillas de linaza con actividad antihipertensiva (Ji)**

Un estudio *in silico* ha evaluado péptidos de semillas de linaza con capacidad antihipertensiva [Ji, 2013; Ji, 2020]. Secuencias de proteína de linaza fueron sometidas a una hidrólisis enzimática *in silico* con enzimas vegetales (papaína, ficina, bromelina) en lugar de las típicas proteasas microbianas o digestivas, para generar una liberación simulada de péptidos hipotensores, ósea péptidos inhibidores de la ECA, o de la renina o de ambas (dual). Sucesivamente se realizaron estudios de simulaciones moleculares de acoplamiento (*molecular docking*) para obtener información sobre la estructura y la interacción de 7 péptidos con potencial inhibidor con las enzimas de la ECA y de la renina. Los resultados mostraron propiedades de unión/disociación estables y similares a las de conocidos fármacos inhibidores de la ECA (Captopril) y de la renina (Aliskiren). Los péptidos inhibidores de la renina y la ECA mostraban propiedades fisicoquímicas similares a la de los fármacos inhibidores. Tras este descubrimiento *in silico* y con la información obtenida, para dar validez a estos resultados de predicción, es necesaria una verificación empírica con síntesis de péptidos inhibidores de la ECA y de la renina para estudios de farmacocinética *in vivo* [Ji, 2020].

### **Péptidos en terciopelo de ciervo inhibidores de la ECA y otras actividades**

Existen en literatura muchos estudios que han demostrado diversas actividades biológicas encontradas en el terciopelo que recubre la cornamenta del ciervo [Gao, 2010; Sui, 2013] como un efecto antienvjecimiento [Wang, 1988], antiinfecciosos [Dai, 2011], antiinflamatorios [Zhang,1994], protección contra daño hepático [Hemmings,2004], actividad hematopoyética [Kim, 1982], aceleración de la cicatrización de heridas [Weng, 2001] y reducción del cáncer de colon inducido con sustancia cancerígena (azoximetano) [Fraser, 2010]. La cornamenta del ciervo está presente en la medicina oriental y es también utilizado como ingrediente funcional en ciertos alimentos [Haines, 2019].

Un nuevo estudio con análisis *in vitro e in silico*, ha revelado que en el terciopelo de ciervo se encuentra una gran cantidad de secuencias encriptadas con potenciales péptidos bioactivos. En extractos procedentes de cornamenta del ciervo se evaluaron e identificaron fragmentos por LC-MS. Se realizó luego un análisis *in silico* (digestión gástrica simulada *in silico* con pepsina) y se compararon las coincidencias de secuencia encontradas con las secuencias bioactivas presentes en bases de datos (como BIOPEP).

Se encontraron un gran número de secuencias cortas de péptidos encriptadas (de 5 a 13 aminoácidos) que coincidían con partes de conocidas de secuencias bioactivas (las zonas de emparejamiento eran inferior a tres aminoácidos). Las actividades identificadas fueron de inhibidor de ECA (la más común), de inhibición de otra enzima como la dipeptidil-aminopeptidasa IV (DPP-4) implicada en el metabolismo de la glucosa, antitrombótica (una actividad común de los péptidos derivados de la K-caseína de la leche), actividad «antiamnésica», actividad «quimiotáctica» fenómeno que estimula la atracción de los neutrófilos en sangre, bioactividad «anoréxica», actividad «antioxidante», actividad «estimulante» del tipo opioide por péptidos hemorfinicos (las hemorfinas son péptidos opioides producidos por la escisión de la cadena beta de la hemoglobina, mejoran la memoria, la regulación sanguínea y tienen función analgésica [Ali, 2019].

### **Péptidos derivados de la carne y de la carne fermentada con efecto antihipertensivo y antioxidante**

Este artículo revisa el conocimiento actual sobre péptidos derivados de la carne en especial de carne fermentada. Son conocidos componentes de las carnes con propiedades biológicas cómo la carnosina, anserina, L-carnitina, ácido linoleico conjugado, glutatión, taurina y creatina [Arihara, 2004], además se encuentran también

péptidos con bioactividades latentes y encriptados en proteínas que son activos una vez liberados por digestión. Los péptidos de proteínas cárnicas más estudiado son los péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA) [Iwaniak et al., 2014; Korhonen, 2006]. Se conoce de péptidos identificados *in vitro*, miopentapéptidos de proteínas musculares porcinas [Arihara, 2001] cuya actividad ha sido estudiada también *in vivo* [Nakashima, 2002] con una inhibición de la ECA, IC<sub>50</sub> de 66,6 µM [Arihara, 2001]. Otra proteína muscular, la miosina, ha resultado ser otra fuente de péptido bioactivos de la que se genera un octapéptido inhibidor de la ECA con valor de IC<sub>50</sub> 6,1 µM [Muguruma, 2009]. Otros autores han observado que estos péptidos no son exclusivos de la miosina y se pueden originar también en otras proteínas musculares como las troponina y tropomiosina donde se han encontrado péptidos resistentes a la acción de proteasas digestivas y por lo tanto se espera que puedan funcionar *in vivo* como agente antihipertensivo [Katayama, 2008].

También unos pentapéptidos derivados de otra proteína muscular, la titina (también conocida como conectina), KAPVA y PTPVP mostraron actividad inhibidora de la ECA con valores IC<sub>50</sub> de 46,56 µM y 256,41 µM, respectivamente [Escudero, 2012, a, b]. A parte de péptidos de origen porcino, se han descrito hidrolizados obtenidos de músculo de pollo con actividad inhibidora de la ECA. En ensayos *in vitro* la actividad inhibidora encontrada era de valores de IC<sub>50</sub> de entre 0,21 y 14 µM. [Fujita, 2000]. Otros estudios sobre el colágeno de pollo ponían en evidencia dos péptidos, GPL y GPV con valores calculados de IC<sub>50</sub> respectivamente de 2.55 y 4.67 µM. A partir de proteínas de músculo de pollo tratadas con termolisina se aislaron siete péptidos (LKA, LKP, LAP, IKW, FQKPKR, FKGRYYP y IVGRPRHQQ) con actividad inhibidora en los ensayos *in vitro* de valores de IC<sub>50</sub> que oscilan entre 0,21 y 14 µM [Kim,2001]. La carne bovina, también ha sido estudiada como fuente de péptidos inhibidores de la ECA [Jang, 2005]. En hidrolizados de carne de vacuno se ha identificado un hexapéptido (VLAQYK) con un valor de IC<sub>50</sub> de 32,06 µM de inhibición de la ECA. Pruebas *in vivo* en ratas SHR alimentadas con este péptido han resultado dar una supresión significativa de la presión arterial sistólica (PAS) además de concentraciones sanguíneas de colesterol total y LDL más bajas [Jang, 2004]. Otro autor identificó péptidos (GFHI, DFHING, FHG y GLSDGEWQ) con actividad antimicrobianos y efectos citotóxicos sobre células del cáncer [Jang, 2008].

Respecto al efecto antioxidante, según explicado en literatura, no se conoce bien el exacto mecanismo antioxidante de los péptidos, pero se supone que tiene que ver con la captación de radicales libres y especies reactivas del oxígeno (ROS), inhibición de la peroxidación lipídica y quelación de iones metálicos de transición. Los mejores antioxidantes conocidos se encuentran solo en la carne, aves de corral y algunos peces

y se trata de unos dipéptidos que contienen histidina, carnosina ( $\beta$ -alanil-L-histidina) y anserina (N- $\beta$ -alanil-1-metil-L-histidina) [Nagasawa, 2001; Sarmadil, 2010; Young et al., 2013].

Existen muchos péptidos antioxidantes aislados de fuentes de carne. Saiga y col. (2003) testaron hidrolizados de proteínas de miofibrilla porcina (obtenidos con papaína y actinasa E) como fuente de péptidos antioxidantes. Estos hidrolizados presentaban inhibición contra la peroxidación del ácido linoleico y poseían actividad captadora de radicales libres (frente al 1,1-difenil-2-picrylhidrazil, DPPH, usado para determinar la capacidad antioxidante) y actividad quelante de iones metales.

La carne de cerdo resulta ser fuente de péptidos antioxidantes. Park y Chin (2011) evaluaron la actividad antioxidante de digeridos con pepsina de proteína extraída de jamón de cerdo. Se encontraron péptidos de bajo peso molecular (<7 kDa) con actividades antioxidantes, tal como la capacidad de eliminación de radicales libres y poder reductor. Di Bernardini y col. (2012) investigaron la actividad antioxidante de proteínas sarcoplásmicas aisladas de falda de músculo bovino. Las fracciones peptídicas de 3 kDa y de 10 kDa demostraron actividades antioxidantes en ensayos *in vitro*. De la hidrólisis de colágeno de piel porcina con una mezcla de proteasas, se liberaron cuatro péptidos (QGAR, LQG M, LQGMH y HC) con fuerte actividad antioxidante [Li et al., 2007].

Kim et al. (2009) obtuvieron péptidos antioxidantes de hidrolizados de proteína de carne de ciervo (MQIFVKTLTG y DLSDGEQGVV) con actividad captadora de radicales libres mayor que la de la vitamina C.

### **En carne fermentada**

Péptidos inhibidores de la ECA y péptidos antioxidantes se generarían durante el proceso de curación de la carne en el jamón curado o en los embutidos fermentados [Arihara, 2006]. La degradación proteolítica de las proteínas es un fenómeno que ocurre en estos productos inducida por las fases del proceso (*secado curado*, *envejecimiento*, *fermentación*) [Ferranti, 2014]. Los péptidos bioactivos se generarían durante el proceso de conversión de la carne en jamón curado o salchichas fermentadas [Arihara, 2006]. Los péptidos antihipertensivos y antioxidantes identificados en los últimos años en productos cárnicos curados se resumen en la (**Tabla 11**). Resultan sobre todo de interés los péptidos antihipertensivos que pueden contrarrestar el efecto adverso de la sal en este tipo de producto.

En carne porcina el dipéptido Arg-Pro suprime más del 60% de la actividad enzimática de la ECA a una concentración de 25  $\mu$ M [Sentandreu, 2007]. También los

dipéptidos KA (IC<sub>50</sub> valor de 31,5 µM), AA (IC<sub>50</sub> valor de 51,4 µM) y GP (IC<sub>50</sub> valor de 66.0 µM) son inhibidores eficaces de la ECA, aunque en menor medida.

**Tabla 11.** Péptidos bioactivos de la carne y carne fermentada

Stadnik, J., Keška, P. (2015). Meat and fermented meat products as a source of bioactive peptides. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 14(3), 181–190. DOI: 10.17306/J.AFS.2015.3.19

**Table 1.** Bioactive peptides generated from dry-cured meat products (Spanish dry-cured ham)

Bioactivity	Sequence*	MW Da**	Reference
Antioxidative	SAGNPN	558.55	Escudero et al. (2013b)
Antioxidative	GLAGA	387.44	Escudero et al. (2013b)
Antihypertensive	AAATP	429.47	Escudero et al. (2013a)
Antihypertensive	KAAAAP	527.62	Escudero et al. (2014)
Antihypertensive	AAPLAP	538.64	Escudero et al. (2014)
Antihypertensive	KPVAAP	581.71	Escudero et al. (2014)
Antihypertensive	IAGRP	512.61	Escudero et al. (2014)
Antihypertensive	KAAAATP	628.72	Escudero et al. (2014)

\*Source – porcine muscle.

\*\*Search was carried out by interrogation of the Pepstats informatics database.

En los estudios de Escudero y col, a partir de jamón curado español se identificaron péptidos con actividad de captación de radicales libres y un potente péptido antihipertensivo que indican el potencial del jamón curado español como fuente natural de péptidos con posibles beneficios para la salud [Escudero, 2013b; 2013a].

La actividades antioxidante y inhibidora de la ECA en los embutidos fermentados como las salchichas, chorizos, resultaron mayores en el producto final que en la fase inicial. Indicando que aumenta con el progreso del tiempo de maduración [Vašttag, 2010].

**El colágeno**, proteína del tejido conectivo de los animales, es otra fuente de péptidos funcionales estudiados por sus aplicaciones en la salud, especialmente en el tejido óseo y la regeneración de tejidos [Banerjee, 2016].

Se conocen péptidos inhibidores de la ECA, constituidos por unos 10 -12 aminoácidos y una región C-terminal hidrofóbica como en el caso de muchos otros péptidos con esta bioactividad [Banerjee, 2016; Chalamaiah, 2012]. Diferentes péptidos se han aislados de hidrolizados de animales marinos como el calamar, el bacalao del pacífico, la raya, etc., donde se ha demostrado que poseen actividad inhibidora de la ECA.

Otras de las bioactividades estudiadas sobre los péptidos del colágeno son la capacidad de modular procesos como la adhesión celular y la cicatrización de heridas esta última estudiada en péptidos liberados del tendón de Aquiles bovino. Por último, estudio de hidrolizados obtenidos de los desechos del procesamiento del pescado o de los residuos cárnicos de los mataderos, han permitido identificar péptidos con actividad antioxidante en los varios tipos de colágeno [Banerjee, 2015].

### **En las semillas del amaranto**

Desde hace una década se han demostrado péptidos bioactivos encriptados en las proteínas de amaranto [Nardo, 2020]. Las secuencias una vez liberadas exhiben diferentes efectos fisiológicos como: el antihipertensivo, antioxidante, antiproliferativo / antitumoral, antitrombótico, antihemolítico, antimicrobiano, hipocolesterolémico, hipoglucémico e inmunomodulador [Barrio, 2010; Orona, 2019; Martínez, 2020; Nardo, 2020; Suárez, 2020]. Uno de los efectos más estudiados es la actividad antihipertensiva. La enzima ECA es una enzima, una carboxipeptidasa, unida a la membrana del endotelio de los vasos y que requiere Zn y Cl como cofactores. La ECA cataliza la conversión del decapeptido de Angiotensina I (DRVYIHPFHL) en el potente vasoconstrictor, la Angiotensina II, eliminando dos aminoácidos en el C-terminal. La actividad hidrolítica de los dominios de la ECA tiene especificidad de sustrato, por lo tanto, si se desea inhibir la ECA, se deben buscar péptidos capaces de interactuar de forma específica con la enzima [Nardo, 2020].

Estudios *in silico* llevados a cabo en semillas de amaranto han demostrado existencia de numerosos di y tripéptidos con actividad antihipertensiva [Silva-Sánchez, 2008] y dos tetrapéptidos como potenciales inhibidores competitivos de la ECA [Nardo, 2020].

Estudios *in vitro* demostraron que los hidrolizados obtenidos con diferentes proteasas tenían capacidad inhibidora de la ECA diferentes. De forma especial se pudo ver que con la enzima alcalasa era posible liberar péptidos bioactivos de las proteínas de almacenamiento del amaranto [Ayala-Niño, 2019] con un grado de hidrólisis del 74,77% y con un 93,5% de inhibición de la ECA [Nardo, 2020].

También se evaluaron péptidos obtenidos por la vía de la fermentación con cepas de *Lactobacillus casei* y *Streptococcus thermophilus* [Ayala-Niño, 2019b] demostrando que se pueden usar proteasas de microorganismos para liberar péptidos bioactivos del amaranto. Pero estas evidencias, no aclaran si la liberación de los péptidos ocurre realmente *in vivo* y en caso de ser liberados, cuál es su biodisponibilidad para realizar su función biológica.

Algunos estudios han hecho uso del proceso de *digestión gastrointestinal simulado* para conocer la accesibilidad de los péptidos inhibidores de la ECA de amaranto. El estudio de Vilcacundo y col. (2019) ha demostrado con este método que durante la digestión se liberan péptidos con mayor capacidad inhibitoria, que estos péptidos son sensibles a las enzimas pancreáticas y que los valores de inhibición dependen del tipo de enzima usada y de las condiciones experimentales. De los péptidos obtenidos, ocho contenían leucina, prolina, valina, histidina o fenilalanina que podrían ser cruciales para ejercer el efecto inhibidor de la ECA, pero no se llegó a conocer más datos sobre su secuencia.

El efecto antihipertensivo de hidrolizados de Amaranto se ha demostrado *in vivo* en ratas hipertensas (SHR) en las que la administración intragástrica de los hidrolizados peptídicos conseguía bajar los valores de la presión arterial de 140 a 100 mmHg de una manera dependiente de la dosis [Fritz, 2011] confirmando así los datos *in vitro*. Otros resultados *in vivo* demostraron que la alimentación de aislados de proteínas de amaranto con caseína podía bajar la PA de 27mmHg en 4 semana en comparación con ratas alimentadas solo con caseína [Lado, 2015].

Otros estudios indican que la administración de una emulsión a base de amaranto, con o sin la adición de VIKP (un potente péptido con actividad antihipertensiva) provoca una reducción de la PA sistólica de aproximadamente 42 y 35 mmHg y que la reducción de PA resultante es igual o mayor a la inducida por Captopril (35 mmHg), un conocido fármaco inhibidor de la ECA. Los mismos autores también verificaron en estudio *ex vivo* usando anillos de aorta torácica que los péptidos de amaranto tienen un efecto vasodilatador no solo local sino a nivel de tejidos sobre la actividad contráctil [Fritz, 2011].

Quiroga et al. (2017) estudiaron por primera vez la capacidad de los péptidos de amaranto para inhibir la renina, esta es la primera de las enzimas del sistema RAS que interviene y su inhibición por tanto es clave en la regulación de la PA. A diferencia de la ECA, los estudios relacionados con la inhibición de la renina son escasos, tanto en el amaranto como en otros sistemas alimentarios. Finalmente, la inhibición de la renina ha demostrado ser otro mecanismo de acción de los péptidos de amaranto [Quiroga, 2017].

## 7.6 Críptidos antioxidantes

### **Péptidos antioxidantes en: suero leche**

Otra función atribuida a los críptidos provenientes de la leche a parte de la antihipertensiva descrita hasta ahora, es la actividad antioxidante que consiste en

eliminar los radicales libres y quelar o inhibir las especies reactivas del oxígeno (como iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos) [Baez, 2021; Rodriguez, 2014].

Estudios anteriores habían indicado presencia de criptidos en la  $\alpha$ -caseína de la leche que tras hidrolisis mostraban actividad anti-radicales libres e inhibían la peroxidación de los lípidos [Rival, 2001; Suetsuna, 2000]. Péptidos antioxidantes se habían encontrado también en hidrolizados de proteínas de pescado (*Brachionus rotundiformis*) que presentaban capacidad antioxidante con el método de eliminación de radicales DPPH [Byun, 2009].

Existen también estudios en el suero de leche que han evaluado la presencia de criptidos bioactivos [Baez, 2021]. El suero de leche representa la fracción líquida de la leche que se obtiene de la elaboración del queso y es una fuente importante de proteínas. Trabajos anteriores sobre proteínas de suero procesadas mostraban contenidos altos de glutamincisteína, dipéptidos con papel antioxidante que pueden promover la síntesis de glutatión, tripéptido endocelular importante protector celular del daño oxidativo [Parker, 2015; Bounous, 1991]. La  $\alpha$ -lactoalbúmina, así como otras proteínas del suero, contiene péptidos encriptados con diferentes propiedades y además del efecto antioxidante demuestran también efecto antihipertensivo, antidiabético, inmunomodulación, antimicrobiano, opioide, antiviral, entre otros [Corrochano, 2018; Kamau, 2010; Mann, 2018; Villadóniga, 2019; Worsztynowicz, 2020]. Estudios sobre péptidos de  $\alpha$ -lactoalbúmina obtenidos por hidrolisis enzimática con alcalasa y en ensayo de digestión gastrointestinal simulada, demuestran un aumento de la actividad antioxidante [Fernández-Fernández, 2017 y 2018].

Recientemente Baez y col, 2021, han identificado, analizado, secuenciado y estudiado los péptidos responsables de la capacidad antioxidante del hidrolizado de  $\alpha$ -lactoalbúmina [Baez, 2021]. Para determinar la capacidad antioxidante *in vitro*, los métodos químicos utilizados han sido ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno), HORAC (Capacidad de Inhibición de Radicales Hidroxilo) y ABTS (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). Los péptidos de la  $\alpha$ -lactoalbúmina obtenidos por hidrolisis con la enzima alcalasa tras separación por HPLC, fueron caracterizados bioquímicamente y analizados por espectrometría de masa y, las secuencias resultantes comparadas con las contenidas en bases de datos (software Mascot).

Tres nuevos péptidos han sido identificados, IWCKDDQNPH, KFLDDDLTDDIM y DKFLDDDLTDDIM que se han sintetizado para testar la actividad antioxidante con los métodos ABTS, ORAC y HORAC. De los 3 péptidos, el que ha mostrado la mayor capacidad antioxidante por ABTS, ORAC y HORAC ha sido el **IWCKDDQNPH** con valores de IC<sub>50</sub> (IC 0,015  $\pm$  0,002, 0,45  $\pm$  0,02 y 1,30  $\pm$  0,05 mg / ml) posiblemente

relacionada con el tipo de aminoácidos de su secuencia. En la parte N-terminal de esta se encuentra uno de los aminoácidos más hidrófobos, la isoleucina (Ile) y una prolina (Pro) en otra parte de la secuencia [Baez, 2021]. Se ha informado que la presencia de aminoácidos hidrófobos en un péptido está relacionada con una fuerte capacidad antioxidante [Cheng, 2010; Hernández-Ledesma, 2008] o una mayor capacidad antioxidante [Ayala-Niño, 2019]. Estudios inherentes la relación estructura / actividad han demostrado que la presencia de ciertos aminoácidos, así como su posición dentro de la secuencia peptídica, son los factores más importantes sobre la actividad antioxidante de un péptido [Hernández-Ledesma, 2008].

Además de aminoácidos hidrófobos, se ha también descubierto que los péptidos que contienen aminoácidos azufrados (Cys o Met), o con grupos aromáticos (Phe, Trp y Tyr) y la (His) son péptidos con fuertes propiedades antioxidantes. El grupo tiol en Cys, el tioéter de la Met, el grupo indol en Trp, el grupo hidroxilo fenólico en Tyr y el grupo imidazol en His, se oxidan con bastante facilidad [Matsui et al., 2018; Nwachukwu & Aluko, 2019]. El grupo -SH de la Cys presente en el péptido antes mencionado, **IWCKDDQNPH**, tiene potencial antioxidante (la Cys es un donante de hidrógeno a través del grupo SH o puede perder un electrón de su átomo de azufre) [Sarmadi & Ismail, 2010]. Por último, el residuo de His de la región C-terminal del péptido, tiene actividad antirradical en las reacciones oxidativas por su anillo imidazólico que actúa como donante de protón [Jakubczyk, 2020].

Se cree que el mecanismo antioxidante de péptidos que contiene His pueda estar asociado con la captura de radicales lípidos peroxilo y la quelación de iones metálicos por parte del grupo imidazol de His [Nwachukwu & Aluko, 2019].

### **Péptidos antioxidantes en: insectos comestibles**

Un estudio ha analizado la actividad antioxidante y antimicrobiana de dos insectos adultos comestibles: *Tenebrio molitor* y *Ulomoides dermestoides*. Aunque el consumo de insectos es una nueva tendencia alimentaria en la sociedad actual, en ciertas culturas latinoamericanas, como en México, su consumo (saltamontes, hormigas y gusanos) es muy arraigado [Veldkamp, 2019]. Los escarabajos *Tenebrio molitor* y *Ulomoides dermestoides* de la familia *Tenebrionidae* tienen un interesante perfil nutricional, alto porcentaje de proteína y / o alto contenido de ácidos grasos (mono y poliinsaturados), también son ricos en minerales como: cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, selenio, zinc, vitaminas como: riboflavina, ácido pantoténico, biotina y ácido fólico [Siemianowska, 2013].

El extracto proteico de los insectos digerido con proteasas de *Aspergillus oryzae* se utilizó para evaluar la actividad captadora de radicales ABTS y para evaluar la actividad antimicrobiana.

En la prueba de inhibición de radicales ABTS se alcanzó un 100% de inhibición del radical ABTS con aproximadamente 0,4 mg / mL de proteína en el extracto digerido de *T. molitor* y con 0,8 mg / mL de proteína para el extracto digerido de *U. dermestoides*.

Respecto a la actividad antimicrobiana se pudo comprobar que los hidrolizados del extracto proteico de *U. dermestoides* y *T. molitor* eran capaces de inhibir el crecimiento de algunas cepas de bacterias: *P. vulgaris*, *S. flexnerii* y *Bacillus spp.*

### **Péptidos antioxidantes en: residuos de la industria cervecera**

El grano gastado cervecero (bagazos de cerveza) un residuo de la industria de la cerveza (BSG) es fuente de nutrientes como carbohidratos, proteínas, lípidos, fenólicos y minerales [Lynch, 2016] y se compone principalmente de la capa de cáscara pericarpio-semilla que cubre el grano de la cebada. El tipo de proteínas es representado por albúminas, globulinas, hordeínas y glutelinas representando las hordeínas un 50% de las proteínas del grano gastado. Debido a que las proteínas están atrapadas en una estructura de carbohidratos es necesario recurrir a procedimientos especiales para la extracción de proteínas. Los autores han demostrado que la generación de los péptidos se puede obtener por hidrólisis directa con carbohidrasas y alcalasas sin necesidad de pasar por una extracción alcalina. En los ensayos *in vitro* se ha demostrado la bioactividad de muestras del grano gastado por hidrólisis directa y por extracción alcalina. En líneas generales, la actividad antioxidante (ORAC, FRAP y ABTS) de los hidrolizado fue bastante similar en los dos tipos de extracciones, aunque había diferencias según el ensayo y las enzimas proteolíticas utilizadas.

Se demostró también actividad inhibidora *in vitro* de la enzima DPP-IV que fue significativamente mayor en los hidrolizados con el método alcalino en comparación con los hidrolizados del método directo. Por último, se observó una reducción importante en la liberación de interleucina-6 (mediador de la respuesta inmunitaria) [Connolly, 2019].

Nota: la enzima dipeptidil peptidasa IV (DPPIV), es responsable de degradar las incretinas, unas hormonas intestinales secretadas tras la ingesta de comida y que estimulan la secreción de insulina.

### **Péptidos antioxidantes en: plantas medicinales**

Unos autores, Taghizadeh y col, 2020, han estudiado las propiedades antioxidantes y citotóxicas de críptidos derivados de plantas medicinales. Las plantas

medicinales contienen compuestos terapéuticos para tratar muchas enfermedades entre ellas el cáncer [ Shoeb, 2006; Tang, 2018].

Tres plantas medicinales, *Matricaria chamomilla* (la manzanilla) *Ziziphora clinopodioides* y *Cressa cretica*, fueron investigadas y los resultados mostraron que todos los hidrolizados tenían actividades tanto citotóxicas como antioxidantes.

Se investigó el efecto citotóxico de hidrolizados tratados con pepsina y pancreatina en condiciones de digestión gastrointestinal simulada *in vitro*. Se produjeron péptidos que en todos los hidrolizados tenían actividades tanto citotóxicas como antioxidantes. De forma específica los hidrolizados de *C. cretica* poseían actividad citotóxica contra la línea celular MCF-7 (una línea de células del cáncer de mama) con el IC<sub>50</sub> de 135,21 g / ml, y en el caso de los hidrolizados de *M. chamomilla* se encontró que presentaban 10 veces más efecto de destrucción de células cancerosas bajo condiciones de digestión gastrointestinal.

Respecto a la actividad antioxidante los resultados indicaron que los hidrolizados de *Z. clinopodioides* y *M. chamomilla* mostraron propiedades antioxidantes a diferencia de *C. cretica*.

## 7.7 Críptidos antimicrobianos y citotóxicos

En un trabajo realizado en leche de cabra se ha encontrado que péptidos derivados de fracciones de caseína tenían efecto anticarcinogénico *in vitro*. La leche de cabra resulta ser una leche con propiedades interesantes por ser de fácil digestión por sus glóbulos de grasa de pequeño tamaño, sus ácidos grasos de cadena corta y por mejorar el perfil colesterolémico [Haenlein, 1984; Ahmed, 2015]. Además, se reporta en literatura que hidrolizados de las proteínas del suero de leche de cabra tienen actividad inhibidora de la ECA, en particular la  $\beta$ -lactoglobulina [Hernandez, 2002] y otro trabajo ha evidenciado propiedades antimicrobianas en péptidos de caseína [Park, 2009]. En este trabajo se ha estudiado el efecto de péptidos encriptados de la leche de cabra con bioactividad sobre células del cáncer colorrectal (HCT 116).

Según los resultados del estudio, los hidrolizado de caseína de leche de cabra tratada con pepsina provocaba muerte celular apoptótica en las líneas celulares HCT 116 y que la tasa de muerte celular más alta (80,92% de muerte celular) se encontraba en la fracción de caseína tratada con pepsina, aunque también se ha encontrado muerte apoptótica en células tratadas con tripsina y papaína. El estudio informa de diferentes péptidos y señala las bioactividades encontradas *in sílico* sobre 5 de los péptidos

bioactivos. Se ha descubierto que un péptido, CDELGIMIWQDF, tiene un inhibidor de la ECA, antioxidante y con actividad inhibidora de la dipeptidil peptidasa IV. La secuencia DYRWIAL tiene un inhibidor de la ECA, un antioxidante, un regulador del flujo de iones, un inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV y una actividad neuropéptida. La secuencia QYPYQGPIVL tiene un inhibidor de la ECA, la dipeptidil peptidasa IV y la alfa-glucosidasa, un antioxidante, un antitrombótico, un estimulante de la captación de glucosa y reguladora de la actividad de la membrana de la mucosa del estómago. Se ha descubierto que las secuencias QIMSSPWGEMYNIF y SSGLGNVPRPYQL tienen actividad antioxidante y inhibidora de la dipeptidil peptidasa III y la dipeptidil peptidasa IV. La actividad anticancerígena de la caseína indica que se puede atribuir a estos 5 péptidos que, según los autores, estaría ligada a cuestiones de metabolismo energético de las células HCT 116 relacionadas al uso de la glucosa y la síntesis de ATP celular.

En general existen en literatura otras evidencias alrededor de los efectos de péptidos derivados de la leche y de productos lácteos sobre el cáncer colorrectal, sobre inhibición de la proliferación celular o que el alto consumo de lácteos se asocia a la reducción de cáncer colorrectal [Sharma, 2010; Aune, 2012; Norat, 2003; Cho, 2004; Roy, 1999].

La leche es una fuente de defensas naturales contra los microorganismos patógenos gracias a compuestos como lisozima, lactoperoxidasa y lactoferrina y a la presencia de péptidos antimicrobianos. Estos últimos vienen producidos por el propio organismo (p.ej., las defensinas) o se pueden liberar de proteínas de los alimentos por acción de enzimas digestivas (p. ej., de proteínas de la leche). Se cree que los péptidos antimicrobianos se insertan en la superficie bacteriana o de la membrana citoplasmática creando poros o alterando su composición y función o que puedan tener “*objetivos intracelulares*” donde inhiben vías metabólicas dañando y llevando a destrucción la célula microbiana [Brogden, 2005].

Un estudio ha analizado el efecto de un caseínomacropéptido (CMP) en la sobrevivencia de células bacterianas (*Escherichia coli*) y de un probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*) en condiciones de ambiente ácido y tratamiento con pepsina [Robitaille, 2012]. El macropéptido era un fosfoglicopolipéptido (7 kDa) que se libera de la K-caseína durante la digestión de la leche y en la elaboración del queso.

La acidez del estómago es la primera barrera contra los patógenos y está en función del tipo y cantidad de alimentos ingerido y del tiempo pasado tras la última comida [Martinsen, 2005]. El pH gástrico en ayunas es de 2 [Dressman, 1990] pero puede aumentar hasta un pH de 5 después de la ingestión de comida [Holzapfel, 1998].

A pH 2, *E. coli* muere rápidamente, pero a pH 3,5 se puede llegar a observar una viabilidad de *E. coli* superior al 50% [Zhu, 2006]. Se ha calculado que entre un 20 y un 80% de *E. coli* podría sobrevivir sin ser inactivada por el pH bajo [Takumi, 2000].

El objetivo de este trabajo fue validar la eficacia *in vitro* del hidrolizado del macropéptidos (bovino y caprinos) en la supervivencia de *E. coli* y de un probiótico, *Lactobacillus rhamnosus* en condiciones acidas de ambiente gastrointestinal. Se ha visto que el macropéptido (CMP) tras digestión con pepsina muestra actividad bactericida en *E. coli* a pH 3,5 y de manera dependiente de la dosis reduciendo la supervivencia del 90% en 15 min a 0,25 mg /mL. Por el contrario, a subidas de pH > 4,5 la actividad bactericida desaparee. Esto indica que los péptidos bioactivos encriptados liberados del macropéptido con la pepsina tienen efecto antibacteriano en *E. coli* en medio ácido. El fragmento responsable de esta actividad bactericida se situaría en la región N-terminal de K-caseína (106-124).

Sobre el *L. rhamnosus*, se vio que el estrés ácido del ambiente gástrico afectaba a la supervivencia del probiótico *L. rhamnosus* pero que su supervivencia mejoraba en presencia del CMP hidrolizado con pepsina que por lo visto mejoraba la resistencia del probiótico al estrés ácido.

Otros autores han estudiado la actividad antimicrobiana de péptidos derivados de una proteína del suero, la lactoferrina de leche de ciervo [ref]. Desde un punto de vista de la salud los conocimientos derivados del estudio de péptidos antimicrobianos tienen valor como posibles alternativas a los antibióticos que debido al excesivo uso han creado un serio problema de resistencia [Wang, 2021].

En la lactoferrina se ha investigado la actividad antimicrobiana de dos péptidos encriptados, la lactoferricina y lactoferrampina y su eficacia comparada con sus homólogos bovinos. Se comparó la actividad antimicrobiana de hidrolizados de lactoferrina de ciervo y de hidrolizados de lactoferrina bovina *in vitro* sobre *E. coli* y sobre *L. acidophilus* (como representante de bacterias probióticas). No obstante, la lactoferrina de ciervo tenga una homología de secuencia del 92% con la lactoferrina bovina, con pocos aminoácidos diferentes, se observó que los péptidos obtenidos tenían actividades diferentes.

El péptido de ciervo, lactoferricina, mostraba una fuerte actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *L. acidophilus* e inhibía mucho más a *L. acidophilus* que la lactoferricina bovina. En cambio, la lactoferricina y la lactoferrampina bovinas fueron más eficaces contra *E. coli* [Wang, 2021]. En este trabajo, los hidrolizados peptídicos de ciervos y bovinos no solo inhibieron las bacterias patógenas de los alimentos (por ejemplo, *E. coli*), sino también las bacterias probióticas. Aunque ralentizaron el crecimiento de *S.*

aureus ninguno de los cuatro péptidos, lactoferricina y la lactoferrampina de ciervo y bovino, fueron efectivos contra *S. aureus* [Wang, 2021].

La secuencia con motivo RRWQWR (Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg) con actividad antibacteriana de la lactoferricina bovina tiene un motivo anfipático, con una parte hidrófila cargada positivamente por la presencia de Arg (carga positiva) y otra parte hidrófoba tiene cadenas de Trp (hidrofóbicos) [Chaparro, 2018]. Otra secuencia más corta RWQWR [Mendez, 2017] se ha encontrado encriptada tanto en lactoferricina de ciervo como bovina. Se informa que los aminoácidos hidrófobos y cargados positivamente son importantes para la asociación y penetración de la membrana bacteriana.

La diferente actividad antibacteriana de los péptidos encontrada en ciervo respecto a la bovina probablemente es debida a un número diferente de los residuos hidrófobos y los cargados positivamente, que son los que intervienen en la penetración de las células bacterianas [Wang, 2021].

## 7.8 Críptidos con actividad opioide

Son conocidos en literatura críptidos derivados de proteínas lácteas que pueden actuar como péptidos opioides ósea ligandos que tiene afinidad para los receptores opioides que se encuentran en las células del sistemas nervioso, endocrino, inmunológico y a nivel intestinal [UI Haq, 2015; Park, 2015]. Los ligandos de los receptores opioides pueden tener estructura peptídica o alcaloide. Los opioides de tipo peptídicos pueden ser de origen endógena y son derivados de encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Los de origen exógena encontrados son derivados de proteínas de la leche y tienen actividad agonista o antagonista. Se han identificado muchos péptidos opioides de las proteínas de la leche tal como se muestra en la **Tabla 12** [Park, 2015].

**Tabla. 12**

Major biologically active milk components and their functions		
Milk precursors or components	Bioactive compounds	Bioactivities observed
$\alpha$ -, $\beta$ -caseins	Casomorphins	Opioid agonist (Decrease gut mobility, gastric emptying rate; increase amino acids and electrolytes uptake)
$\kappa$ -casein	Casoxins	Opioid antagonist
$\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -La)	Lactorphins	Opioid agonist
$\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -La)		
Serum albumin	Serorphin	Opioid agonist
Lactoferrin	Lactoferroxins	Opioid antagonist

Tabla adaptada. Fuente: Park Y y col., 2015

Los péptidos opioides originarios de la  $\beta$ -caseína son llamados  **$\beta$ -casomorfina**s y son opioides agonistas [Oliva, 2004] igual que los péptidos opioides  **$\alpha$ -caseína-exorfina** y **lactorfinas**, mientras que las **casoxinas** actúan como opioides antagonistas [Gobbetti, 2007; Meisel y FitzGerald, 2000].

Todos los péptidos opioides (endógenos y exógenos) tienen un aspecto común en sus secuencias, cuentan con un residuo Tyr en el extremo amino terminal (excepto la  $\alpha$ -CN-exorfina, casoxina 6 y lactoferroxina B y C) y de un residuo aromático, Phe o Tyr, en la 3ª o 4ª posición [Gobbetti, 2007].

De la  $\beta$ -caseína existen al menos 12 variantes genéticas que hace que tengan aminoácidos diferentes. Es una proteína que al ser digerida libera péptidos bioactivos conocidos como  $\beta$ -casomorfina (BCM) capaz de unirse a receptores opioide del sistema nervioso central y que un exceso de consumo se asocia con incidencia de mucosidad asma, alergia y diversos problemas fisiológicos y de salud. Un estudio ha investigado los hidrolizados de  $\beta$ -caseína *in vitro* de vacas cruzadas *Karan Fries* (KF). El objetivo fue investigar *in vitro* la liberación de  $\beta$ -casomorfina a partir de variantes de  $\beta$ -caseína de KF mediante digestión gastrointestinal simulada (SGID) con enzimas proteolíticas.

Un estudio sobre leche bovina ha demostrado que existen diferentes péptidos encriptados en la secuencia de  $\beta$ -caseína que son responsables de interactuar con las células caliciformes del intestino y modular la expresión de la mucina intestinales. En este estudio se buscó la secuencia de distintos péptidos derivado de la  $\beta$ -caseína y como estos modulan la producción de mucina intestinal. El gel del moco intestinal debe sus propiedades a las mucinas secretadas, que son glicoproteínas de alto peso molecular producidas por las células caliciformes del epitelio. Hasta la fecha, se han identificado hasta 20 mucinas diferentes (MUC) en seres humanos y se han dividido en dos clases principales: mucinas secretadas y asociadas a la superficie celular [Corfield, 2014].

Según el artículo de Enjapoori y col. 2019, la leche materna proporciona importantes nutrientes para el recién nacido, pero también sustancias de tipo funcionales. Se sabe que la  $\beta$ -caseína, proteína de la leche materna que contiene péptidos, es sujeta a proteólisis endógena en la glándula mamaria que genera los péptidos de  $\beta$ -casomorfina con efecto opioide en el recién nacido [Dallas, 2013] y otras funciones para la salud del bebé [Dallas, 2014; Jarmolowska, 2007].

Datos en literatura indican una multitud de péptidos de 200 hasta alrededor de 600 péptidos derivados de la caseína y los resultados apuntan que el proceso

proteolítico comienza en el seno materno y continúa después con la digestión en el estómago del bebé [Dallas, 2014].

Se han descrito diferentes proteasas de leche humana que incluyen: la plasmina, elastasa, catepsina D, trombina, calicreína, citosol aminopeptidasa y carboxipeptidasa B2 [Dallas, 2015; Guerrero, 2014; Khaldi, 2014; Holton, 2014; Demers, 2017] y es conocido que hay diferencias de expresión de proteasas entre la leche a término y la del prematuro [20]. Los péptidos de beta-casomorfina tendrían origen en la región mediana de la beta-caseína [Ferranti, 2004]. En particular la región de los aminoácidos de 51 a 62 (Tyr-Pro-Phe-Val-Glu-Pro-Ile-Pro-Tyr-Gly-Phe-Leu) es la zona que ha demostrado ser responsables de las funciones fisiológicas y la actividad opioide con el receptor opioide  $\mu$  [Koch, 1985; Kostyra, 2004].

A pesar de los numerosos estudios en la literatura, de datos *in vitro* y sobre animales, según los autores [Enjapoori, 2019], faltan estudios de caracterización de la liberación de estos péptidos durante la lactancia materna, necesarios además por tratarse de “nutropioides”, ósea péptidos opioides derivados de los alimentos” importantes en la fisiología de la nutrición y la salud del recién nacido [Duraffourd, 2021]. Además, muchos de los péptidos biológicamente activos de la  $\beta$ -caseína de leche humana están ausentes en las fórmulas comerciales para lactantes a base de leche de vaca [Wada, 2015].

En el estudio realizado por Enjapoori y col, se han identificados péptidos de  $\beta$ -casomorfina obtenidos de muestras de leche materna de donantes, analizados mediante técnicas cromatográficas y de espectrofotometría de masas y, se han evaluado las proteasas responsables de la hidrólisis con métodos *in silico* de predicción (EnzymePredictor). El análisis peptidómico de las muestras de leche materna han confirmado que existen proteasas naturales responsables de generar los péptidos de  $\beta$ -casomorfina a nivel de glándulas mamarias. En el estudio se han descrito presencia de  $\beta$ -casomorfina-8, -9, -10 y -11 de leche materna humana y con características funcionales del tipo opioides, inmunomoduladoras, antioxidantes y de saciedad importantes para los recién nacidos. En particular se ha demostrado por primera vez que los péptidos -10 y -11 están naturalmente presentes en la leche materna humana confirmando que la proteólisis es un proceso que comienza dentro de la glándula mamaria.

Human beta-casomorphin peptides detected in human breast milk		
	Lactation day	Beta-casomorphin peptides
Preterm baby Mothers <37 weeks	Day 10	BCM-9, BCM-11
	Day 20	BCM-8, BCM-11
Full term baby Mothers >37 weeks	Day 37	BCM-11
	Day 55	BCM-11
	Day 68	BCM-10, BCM-11, Truncated
	Day 90	BCM-8, BCM-9, BCM-11, Precursors, Truncated
	Day 163	BCM-8, BCM-10, BCM-11, Truncated
	Day 190	BCM-8, BCM-11, Truncated
	Day 254	BCM-9, BCM-10
	Day 459	BCM-10, BCM-11

### Péptidos de $\beta$ -casomorfina humanos de leche materna (Enjapoori, 2019)

Los péptidos de  $\beta$ -casomorfina humanos encontrados son similares, aunque no idénticos a los de origen bovinos razón por la cual se cree que tengan funciones bioactivas similares y que entonces tras su absorción, una vez en sangre pueden llegar a receptores en el cerebro y los tejidos periféricos donde pueden tener acciones calmantes y del sueño así como regular la gluconeogénesis intestinal y la saciedad al unirse a los receptores  $\mu$ -opioides del cerebro del lactante [Enjapoori, 2019; Chabance, 1998; Duraffourd, 2012; Ermisch, 1983].

## 7.9 Críptidos con actividad antiinflamatoria

Entre los varios estudios encontrados hay un trabajo, Malinowski y col, 2014, que reporta la identificación de actividad antiinflamatoria en hidrolizados de  $\beta$ -caseína. Para la identificación de los péptidos responsables de la actividad antiinflamatoria se utilizó  $\beta$ -caseína bovina que fue sometida a proteólisis con tripsina y los péptidos resultantes analizados e identificados por HPLC espectrometría de masa y análisis de simulación *in silico*. En los procesos inflamatorios interviene un factor llamado factor de transcripción NF- $\kappa$ B que actúa como un mediador molecular del proceso inflamatorio. El factor de transcripción NF- $\kappa$ B una vez activado, puede inducir la transcripción de varios genes y así regular el proceso inflamatorio.

Se generó por transfección una línea celular NF $\kappa$ B sobre las cuales se probó el potencial antiinflamatorio de los críptidos de  $\beta$ -caseína. En particular se identificó un péptido de  $\beta$ -caseína (f184-202) y secuencia DMPIQAFLLYQEPVLPVLR como responsable de las propiedades antiinflamatorias. Este péptido se encuentra en una región de la proteína que contiene más secuencias que se superponen y que ejercen otros efectos biológicos [Meisel, 2004]. A estas regiones multifuncionales de la caseína

o de otra proteína se les llaman «regiones estratégicas», unas zonas que además resultan protegidas por presentar una degradación proteolítica parcial [Meisel, 1997].

### 7.10 Críptidos con actividad en la diabetes y la obesidad

El artículo de Chelliah y col., 2021, proporciona algunos conocimientos sobre el papel de los péptidos bioactivos en la diabetes y la obesidad.

La obesidad es una condición que a menudo puede estar asociada con un aumento del riesgo de tener diabetes tipo 2, de padecer enfermedades cardiovasculares (ECV), apnea del sueño, osteoartritis y depresión [Luppino, 2010] un conjunto de desórdenes conocidos como síndrome metabólico.

Se conoce de péptidos de diversas fuentes alimentarias tienen propiedades contra la obesidad y la diabetes de tipo 2 [Chelliah, 2021; de Zani, 2018].

A nivel metabólico se deben mencionar 2 hormonas que intervienen en el proceso digestivo y que tienen un papel importante en el desarrollo de la diabetes tipo 2:  $\alpha$ -glucosidasa y dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) y que tienen interés terapéutico [Moore, 2010].

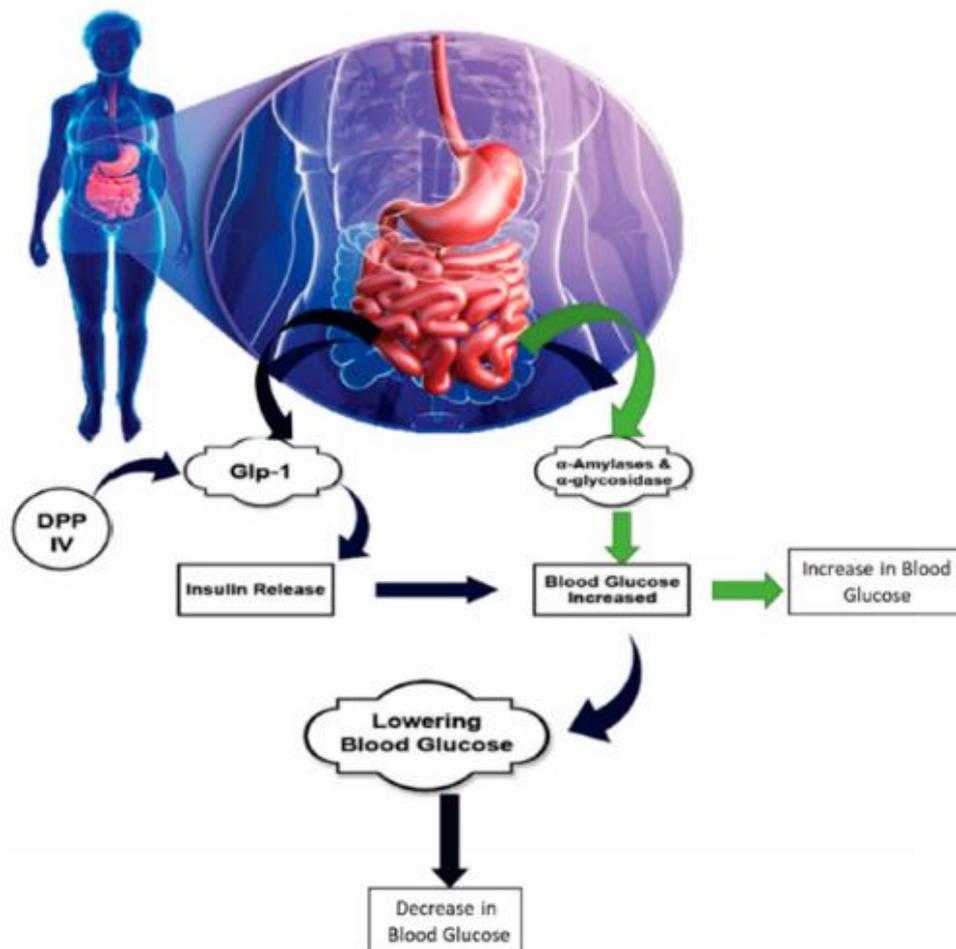
La  $\alpha$ -glucosidasa, enzima presente en las células epiteliales de la pared del intestino delgado, permite la absorción de la glucosa después de las comidas por tanto su inhibición reduce la absorción de glucosa y la hiperglucemia post-prandial.

La dipeptidil-peptidasa IV (DPP-IV) es una enzima que actúa sobre unas hormonas producidas después de las comidas, las incretinas (Glp-1), que son las que se encargan de mantener baja la glicemia en cuanto estimulan la secreción de insulina.

Por tanto, la inhibición de la actividad de estas 2 enzimas podría ser una importante estrategia en el control de la diabetes tipo 2.

Estudios en la leche y otros alimentos han demostrado ser fuente natural de críptidos antidiabéticos por tener actividad inhibidora de la  $\alpha$ -glucosidasa y de la DPP-IV [ Marquart 2010], [ Lia, 2011] [Auestad, 2021], regulando los niveles de glucosa en sangre como se muestra en la **Figura 14**.

Figura. 14.



Bioactive peptides, inhibit key enzymes involved in diabetes—DPP IV,  $\alpha$ -amylase, and  $\alpha$ -glucosidase, which results in the antidiabetic activity mainly by promoting insulin signaling and the AMPK signaling pathway (Chelliah et al, 2021)

**El huevo** es otro alimento donde se han descrito péptidos encriptados con efectos antidiabéticos y antiobesidad.

Un estudio in vitro de hidrolizado de la clara de huevo suministrado en roedores ha encontrado que reduce la grasa, disminuye la concentración de glucosa en sangre, reduce el fenómeno de la resistencia a la insulina sin alterar las concentraciones en sangre de leptina y los niveles de adiponectina [Garcés, 2016].

La leptina es una hormona producida en el tejido adiposo que comunica al cerebro (a receptores del hipotálamo) que existe tejido adiposo suficiente y provoca entonces una reducción en las ingestas de alimentos y aumento del gasto energético; la adiponectina es también una hormona sintetizada por el tejido adiposo que participa en el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos [Anaia, 2004].

**Preparados de clara de huevo** con proteasa y pepsina reducen en las ratas el nivel de grasa corporal cuya acumulación puede provocar el fenómeno de resistencia a la insulina y en consecuencia diabetes de tipo 2 [Chelliah, 2021].

También que la suplementación de clara de huevo tratada con proteasa en la dieta reduce el índice de actividad de la SCD en el suero, en músculo y en hígado de los roedores. La esteroil-CoenzimaA-desaturasa (SCD) es una enzima que regula el contenido de ácidos grasos y algunos autores indican que la enzima SCD tienen un rol principal en el desarrollo del síndrome metabólico [Ochiai, 2017]. En resumen, la clara de huevo ha demostrado propiedades antidiabéticas *in vivo* por la reducción de acumulación de grasa ectópica en el hígado y el músculo, conducir a la pérdida de peso y mejorar la sensibilidad a la insulina [Requena, 2017].

**La soja** también presenta péptidos beneficiosos para la salud. En estudios *in vitro* se han evaluado los efectos de hidrolizados de proteínas de la soja contra diabetes y obesidad. Hidrolizados de soja con pepsina aumentan la secreción de adiponectina (hormona del tejido adiposo que activa la quema de grasa) de forma dependiente de la dosis y se observa una mejora en la captación de glucosa [Aoyama, 2000].

Células embrionarias tratadas con hidrolizado de soja presentan una mayor lipólisis. El hidrolizado obtenido con la enzima alcalasa, reduce la acumulación de la grasa y regula de forma negativa a enzimas involucradas en la captación de los lípidos y síntesis de nuevo ácidos grasos. Un hidrolizado de soja obtenidos solo con enzimas naturales (pepsina + pancreatina) produce efectos similares, aunque en menor medida [Kwak, 2012].

Otra actividad indicada en la soja es la de inhibición de DPP-IV con valor de CI50 de 106  $\mu\text{M}$  relacionable a uno de los péptidos de secuencia IAVPTGVA. La dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV) es enzima humana encargada de degradar de forma muy rápida las incretinas (hormonas gastrointestinales liberadas tras la ingesta de alimentos). La inhibición de la DPP IV determina un aumento del nivel de incretinas que son las que ejercen la acción antihiper glucemiante en la sangre [Bhathena, 2002].

Estudios *in vivo* han evaluado el efecto de péptidos de proteínas de soja en la diabetes y obesidad en particular han demostrado que el hidrolizado de soja puede modular el metabolismo de la glucosa y reducir el peso corporal [Chelliah, 2021].

Estudios previos han informado que la aglicina, un péptido bioactivo natural aislado de la soja con 37 aminoácidos y resistente a la acción de las enzimática digestivas, tiene potencial antidiabético. El péptido aglicina regula la homeostasis de la glucosa. La administración oral de la aglicina (a dosis de 50 mg/kg/día durante 4 semanas) a ratones diabéticos expuestos a dietas alta en grasas, mejora la captación

de glucosa muscular debido al aumento de la fosforilación de receptores de la insulina. El hecho de haber encontrado aglicina intacta (37 aminoácidos) en muestras de sangre de ratones, hace suponer que el péptido probablemente se absorbe prácticamente intacto [Lu, 2012].

### 7.11 Críptidos con actividad antitrombótica

En un trabajo publicado por Parker y col. (2015) se indican péptidos que reducen o inhiben la formación de coágulos sanguíneos. El caseinomacropéptido o caseinoglicopéptido (CMP), un glicopéptido que se produciría de la k-caseína después de cuajar la leche para hacer el queso, inhibe la agregación de las cadenas de fibrinógeno y de las plaquetas en la sangre [Fiat, 1993]. Se han encontrado péptidos antitrombóticos derivados del caseinoglicopéptido humano y bovino en el plasma de los recién nacidos de 5 días de edad después de la lactancia [Cabance, 1998]. Los péptidos llamados Casoplatelinas (algunos son fragmentos de la k-caseína) o el fragmento de lactoferrina (Lys-Arg-Asp-Ser-Glu-Arg-Lys-Arg-Asp-Ser) [Rodríguez 2014] influyen en la función de la coagulación, inhibiendo tanto la agregación de plaquetas como la unión de la cadena de fibrinógeno a la superficie de las plaquetas [Jolles, 1986]. El caseinoglicopéptido derivado de caseínas de oveja reducía la agregación de plaquetas inducida por trombina y colágeno de forma dependiente de la dosis [Qian, 1995].

### 7.12 Críptidos con otras actividades

**Binding de minerales.** En literatura se reportan péptidos con capacidad de unión a minerales, unos fosfopéptidos o caseíno-fosfopéptidos (CCP) derivados de  $\alpha$  - y  $\beta$ -CN. Estos péptidos, que pueden ligar diferentes minerales, forman compuestos solubles estables especialmente con los iones Ca de alrededor de 1 mol de CPP puede unir 40 mol de Ca [Meisel y Olieman, 1998; Schlimme y Meisel, 1995] de esta forma permiten aumentar la absorción de este mineral y limitar su precipitación en el íleon [Korhonen y Pihlanto, 2007b; Park, 2015]. Característica común de todos los CCP son: presencia de regiones fosforiladas y de un motivo conservado en su secuencia, 3 fosfo-serinas seguidas de 2 glutámicos (Ser(P)-Ser(P)-Sr(P)-Glu-Glu). Las cargas negativas de los fosfatos representarían el sitio de binding con los minerales [Gobbetti, 2007; Parker, 2015].

**Péptidos hipocolesterolémicos.** Se ha informado de péptidos obtenido por hidrólisis de  $\beta$ -lactoglobulina capaces de inhibir la reabsorción de los ácidos biliares en el íleon y que de esta forma pueden disminuir el nivel de colesterol en sangre. Un péptido de secuencia, Ile-Ile-Ala-Glu-Lys, mostró un efecto hipocolesterolémico [Iwami, 1986].

Nagoaka, 2001, Parker, 2015]. Otros péptidos bioactivos que han sido descritos son algunos factores de crecimiento y péptidos supresores del apetito [Parker, 2015].

## 8. Discusión

Uno de los objetivos de esta revisión era explorar la literatura científica publicada en los últimos 10 años sobre péptidos encriptados en los alimentos. Tras la revisión de la bibliografía se ha podido comprobar que es una línea de investigación muy activa con constantes aportaciones sobre el tema, y que ha permitido conocer los nuevos avances.

Los péptidos encriptados de los alimentos, no obstante, tienen algunas características comunes en la variedad de secuencias y de funciones. Vienen descritos como péptidos cortos, en muchos casos de 2 - 3 y hasta 20 residuos y con un peso molecular de menos de 6000 Da [Sarmadi, 2010]. Son capaces de ejercer una o varias funciones biológicas tras su liberación *in vitro* por fermentación (hidrólisis catalizada por proteasas), tratamiento químico [Yang, 2019] o *in vivo* durante la digestión gastrointestinal [Hernández-Ledesma, 2014]. Pueden ofrecer resistencia a la digestión proteolítica si en su secuencia presentan aminoácidos de prolina [Domínguez, 2014; Tzakos, 2003; Wada, 2017].

En esta revisión se ha informado sobre la presencia de estos péptidos en diferentes fuentes y se puede decir que son elementos con una amplia distribución en los alimentos encontrándose naturalmente presentes tanto en las proteínas vegetales como en las proteínas animales. Los péptidos encriptados más estudiados y objeto de esta revisión provienen de las proteínas de la leche y lácteos, huevo, semillas, vegetales, carne, plantas medicinales. Una gran parte de los estudios revisados son inherentes a productos de origen lácteo, pero se constata el interés para estudiar propiedades funcionales de alimentos de otras fuentes como la vegetal y la animal tanto de cárnica como de pescado.

Su característica principal es que su funcionalidad se mantiene inactiva mientras está su secuencia encriptada en la secuencia de la proteína nativa. En condiciones fisiológicas es por tanto necesaria la acción proteolítica de las enzimas digestivas o de las enzimas microbianas para que puedan convertirse en forma activas y ejercer las propiedades beneficiosas para la salud.

A lo largo de esta revisión se han descrito funciones como la antihipertensiva, la antioxidante, antimicrobiana, hipocolesterolémica, inhibición de DDP IV,

inmunomoduladora, antiinflamatoria, opioide, citotóxica, estimulante de la mucosidad intestinal, crecimiento óseo, salud del recién nacido. En algunos casos estos péptidos demuestran un carácter «multifuncional» en cuanto un mismo péptido engloba en su estructura secuencias de aminoácidos con diversas funciones [Ashok, 2019; Cakir, 2021]. Son péptidos que presentan varios aminoácidos hidrófobos que en ocasiones tienen relación con su capacidad antioxidante [Baez, 2021]. Pueden presentar un motivo de *secuencia anfipático*, con una parte hidrófila positiva y otra parte hidrófoba y que los residuos hidrófobos cargado positivamente sirven para el anclaje en la membrana de los microorganismos y provocar su muerte.

Sobre la metodología empleada en las investigaciones, los estudios *in vitro* son la estrategia más utilizada seguida por los estudios *in silico* y los estudios *in vivo*, aunque se desconoce si en una revisión a escala mayor estos datos seguirían siendo representativos. Los estudios *in vivo* son realizados en ratas y ratones y la bibliografía referente a estudios en humanos es escas. Se sabe que otras bases de datos reportan publicaciones de estudios clínicos, así como de alguna revisión sistemática, como por ejemplo un trabajo sobre los “lactotripéptidos” de leches fermentadas en sujetos hipertensos japoneses [Chanson-Rolle, 2015].

En algunos casos [Ji, 2020] las propiedades funcionales de los péptidos han sido estudiadas *in silico* donde se ha expuesto la secuencia de la proteína a hidrolisis enzimática por ordenador para simular así la liberación de péptidos. De esta forma se han podido estudiar las propiedades moleculares de los péptidos y la afinidad molecular (*molecular docking*) con la enzima (la ECA) y comparar sus similitudes con conocidos fármacos antihipertensivos (Captopril o Aliskiren) [Ji, 2020; Fritz, 2011].

En cuanto al tipo de evidencias biológicas encontradas, la actividad antihipertensiva es la que más frecuencia de estudios tiene en esta revisión seguida por la actividad antioxidante.

El papel de los péptidos encriptados puede ser más complejo de lo que se observa *in vitro*. Se ha demostrado que el papel de los péptidos antihipertensivos no se limita a inhibir la actividad de la ECA y que pueden llegar a modular el tono vascular induciendo vasorelajación en los anillos aórtico *in vitro*. Existe por tanto más mecanismos que subyacen al control de la presión arterial por parte de estos péptidos [Ozorio, 2020], [Fritz, 2011].

Aunque muchos de los péptidos encriptados antihipertensivos provienen de los lácteos (leche vaca, oveja, cabra, camello, ciervo), también son presentes en otras fuentes de alimentos como las proteínas de almacenamiento de las semillas de amaranto, semillas de linaza, en cereales, legumbres, en proteínas cárnicas, huevo, ciervo, etc [Nardo, 2014; Ji, 2020; Stadnik, 2015; Zambrowicz, 2014; Haines, 2019]. Resulta

bastante sorprendente observar que existe un amplio repertorio de péptidos encriptados en proteínas de alimentos muy diversos, resultando ser su presencia bastante ubicuitaria.

Estos péptidos demuestran también una amplia variedad de bioactividades y en ocasiones péptidos de fuentes diferentes pueden llegar a tener unas mismas secuencias peptídicas y unas mismas funciones como también diferentes secuencias para una misma función [Stadnik, 2015; Dominguez, 2014]. Es evidente que cuanto más corta llega a ser la secuencia más probabilidad hay de compartir un mismo tipo de secuencia peptídica y de función.

En cuanto al lugar de transformación de los péptidos en el tracto digestivo, los péptidos de origen lácteo parecen ser preferiblemente digeridos en el estómago y la parte proximal del intestino delgado [Wada, 2017] a excepción de los péptidos que contienen prolina en su secuencia, como los derivados de la  $\beta$ -caseína, que son resistentes a la proteólisis y pueden llegar a la parte distal parcialmente digeridos [Wada, 2017].

Otro aspecto para resaltar son las enzimas proteolíticas (proteasas), que descomponen las proteínas en aminoácidos o péptidos y que tienen un papel muy importante. Además de las proteasas producidas por el sistema digestivo (tripsina, pepsina, etc), las proteínas pueden ser degradadas por proteasas de células bacterianas. En un trabajo sobre queso scamorza se concluyó que solo algunas cepas de *Bifidobacterium* son las responsables de controlar el proceso proteolítico y de generar péptidos encriptados bioactivos con función antihipertensiva [Albenzio, 2015]. En cambio, en las semillas de amaranto se ha demostrado presencia de actividad antihipertensiva utilizando bacterias lácticas de la especie de *Lactobacillus* y se ha concluido que, según la especie de bacteria, de sus enzimas y del tiempo de duración de la hidrólisis, es posible obtener diferentes grados de inhibición de la ECA [Sánchez-López, 2021].

Otra actividad que cabe mencionar es la actividad anticancerígena de hidrolizados de leche de cabra. La bioactividad testada sobre células del cáncer colorrectal (HCT 116) ha demostrado una tasa de muerte celular de un 80,92% inducida por parte de los hidrolizados de caseína de leche de cabra [Cakir,2021]. Existen en “la literatura” más evidencias que indican que un alto consumo de lácteos se asocia a una reducción de cáncer colorrectal y sobre inhibición de la proliferación celular en el cáncer colorrectal [Sharma, 2010; Aune, 2012; Norat, 2003; Cho, 2004; Roy, 1999].

Respecto al efecto antioxidante de péptidos de origen cárnico, aún no se conoce el mecanismo exacto antioxidante realizado por los péptidos. Se supone que tiene que ver con la capacidad de captar radicales libres y especies reactivas del oxígeno (ROS), inhibición de peróxidos y quelación de metales y que estaría relacionado con la

hidrofobicidad y otras características propias de algunos aminoácidos [Baez, 2021]. Péptidos antioxidantes que han sido descrito en suero leche, en insectos comestibles y hasta en la carne fermentadas. En este último caso péptidos bioactivos se generan durante el proceso de conversión de la carne en jamón curado o salchichas fermentadas y su cantidad es mayor en el producto final. [Arihara, 2006].

Otro de los efectos estudiados es el efecto opioide que poseen algunos de los péptidos encriptados, en particular se ha informado que la  $\beta$ -caseína de la leche materna resulta ser hidrolizada en la misma glándula mamaria (antes de ser digerida por el bebé) generando péptidos de  $\beta$ -casomorfina con efecto opioide y péptidos con otras funciones para la salud para el recién nacido con actividades inmunomoduladoras, antioxidantes y de saciedad [Enjapoori, 2019].

## 9. Aplicabilidad y nuevas líneas de investigación

En la literatura existente sobre el tema, se ha comprobado que la terminología utilizada en los distintos estudios no es consistente. En el caso concreto de los *criptidos* de alimentos algunos autores se refieren a ellos como *secuencias encriptadas*, otros como *fragmentos cifrados* o *péptidos ocultos* y a veces son simplemente *péptidos bioactivos*, pero están indicando básicamente los mismo, la cual cosa, en una búsqueda, no permite identificar enseguida toda la literatura existente. Además, en las palabras claves de los artículos tampoco se hace uso de estos términos y solo aparecen palabras como *bioactive peptide* y a veces, ni siquiera estas y solo se menciona algo relacionado con la función del péptido como *opioid peptide* o *ACE inhibitor* por ejemplo, pero, siguen siendo *criptidos* de alimentos.

Esto es algo que puede ser un factor limitante, de hecho, esta revisión trata de forma específica sobre *criptidos* o *péptidos encriptados*, y por ello no incluye a los demás artículos sobre péptidos bioactivos de alimentos que no contiene estos términos. Esta dificultad en la rastreabilidad hace pensar que haría falta un cierto consenso entre los principales actores sobre el tema para que en los trabajos sobre alimentos haya un denominador común incluyendo estos términos por lo menos en las *Keywords*.

Una aplicación que podría ser de utilidad para eventualmente mejorar la trazabilidad de esta gran familia de péptidos bioactivos sería la **creación de una base de datos exclusiva para críptidos de alimentos**. El espectro de actividades y las secuencias que se esconden en los péptidos encriptados de los alimentos es amplio y posiblemente queda mucho recorrido para conocer en el futuro. Tener la oportunidad de dedicar de forma exclusiva un sitio web con una base de datos (BBDD) depositaria de

las secuencias y las referencias bibliográficas de péptidos de alimentos facilitaría la trazabilidad y hasta incluso se podría referenciar en el mismo artículo.

Algunas de las BBDD existentes engloban todos los péptidos bioactivos como es el caso de algunos de los siguientes ejemplos: BIOPEP-UWM, PeptideDB o StraPep (**Tabla 13**) alguna contienen del orden de 4000 y otra hasta más de 20000 registros de péptidos pero, allí están todos, los biopéptidos endógenos producidos por el organismo, mezclados con los biopéptidos exógenos de fuente No-alimentarias y los biopéptidos de alimentos (críptidos de la leche, de la carne, etc). Otra BBDD consultada de reciente creación (2019), FeptideDB parece integrar biopéptidos de fuentes alimentarias, pero no permite comparar o buscar secuencias.

**Tabla. 13:** Listado de algunas BBDD disponibles sobre péptidos bioactivos

<b>Base de datos de secuencias de péptidos biológicamente activos</b>				
<b>Nombre</b>	<b>Tipo</b>	<b>No. péptidos bioactivos</b>	<b>URL</b>	<b>Ref</b>
StraPep	Base de datos de estructuras de péptidos bioactivos	<b>3.791</b>	<a href="http://isyslab.info/StraPep/browse_clas_s.php">http://isyslab.info/StraPep/browse_clas_s.php</a>	Wang, 2018
PeptideDB	Con péptidos de señalización naturales, origen animal, tipo citocinas, fact.crecimiento, hormonas, etc	<b>20.027</b>	<a href="http://www.peptides.be/">http://www.peptides.be/</a>	Liu, 2008
FeptideDB	Péptidos bioactivos a partir de proteínas alimentarias	ND	<a href="http://www4g.biotec.or.th/FeptideDB/">http://www4g.biotec.or.th/FeptideDB/</a>	Panyayai, 2019
BIOPEP	Base de datos de péptidos bioactivos	<b>3.681</b>	<a href="https://biochemia.uwm.edu.pl/metachemibio/amino-acids-and-peptides/">https://biochemia.uwm.edu.pl/metachemibio/amino-acids-and-peptides/</a>	Minkiewicz, 2019

Pero hay más razones, a parte la de permitir una mejor trazabilidad y usabilidad de la información, crear una BBD o quizás algo más complejo como una plataforma para críptidos con sus aplicaciones, es tener controlado uno de los principales factores externos que afecta a nuestro organismo y a nuestra salud. Los críptidos son una brillante estrategia de la naturaleza, unas pequeñas píldoras de beneficios que viajan dentro de las proteínas. No son fármacos, pero son naturales y pueden modificar o intervenir en el funcionamiento del organismo y sobre todo estamos expuestos a su contacto a diario con las comidas.

Para concluir, una línea de investigación interesante a la que se podría aspirar sería cuantificar desde un punto de vista bioquímico y nutricional el perfil de bioactividades que se pueden llegar a generar al ingerir un tipo de alimento o un tipo de dieta, como por ejemplo la dieta mediterránea, la dieta vegetariana, etc.

Llegar a conocer el perfil potencial de los biopéptidos que pueden estar presente cuando comemos una hamburguesa, un vaso de leche, o una comida completa, ayudará a la ciencia de la nutrición y la médica para saber lo que comemos y como nos podemos beneficiar.

## 10. Conclusión

El objetivo de esta revisión era hacer una investigación para conocer los avances científicos sobre péptidos bioactivos encriptados en alimentos en el último decenio y sobre ello se ha informado en este trabajo de fin de máster.

La información consultada ha permitido informar sobre aspectos como la distribución de los péptidos encriptados en la naturaleza en especial su presencia en los alimentos vegetales, lácteos, cárnicos, etc.

Comprender aspectos inherentes a sus posibles mecanismos de acción, informando sobre la «multifuncionalidad» de algunos péptidos antihipertensivos que además de ser inhibidores enzimáticos intervienen en la regulación del tono vascular; conocer el efecto local del aparato digestivo sobre las proteínas y saber que la digestión de las proteínas lácteas ocurre entre el estómago y la parte inicial del intestino delgado dejando parcialmente digeridos los fragmentos que contiene prolina; que la flora microbiana o el uso de alimentos fermentados (leches fermentada como el yogur, queso la carne fermentada, jamón, etc) tiene un papel importante en la generación de péptidos funcionales con beneficios para la salud; que en la lactancia proteínas de la leche materna (caseína) llega al bebé en formado predigerido como péptidos de  $\beta$ -casomorfina que ejercen un efecto opioide entre otras funciones en el recién nacido.

La literatura revisada no ha permitido profundizar en el conocimiento de eventuales hipótesis sobre el posible significado biológico de estas secuencias encriptadas dentro de estructuras proteicas: funcional o evolutivo.

## 11. Siglas y abreviaturas

AA	Aminoácido
ABTS	Ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico
Ang II	Angiotensina II
BAL	Bacterias ácido-lácticas
BBDD	Bases de Datos
BCM	$\beta$ -casomorfina
$\beta$ -CN	$\beta$ -caseína
FRAP	Capacidad de reducción férrica del plasma
Cys	Cisteína
CN	Caseína
CCP	Caseinofosfopéptidos
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
His	Histidina
IC <sub>50</sub>	Concentración (de péptido) que inhibe al 50% de actividad (de la enzima ECA)
Ile	Isoleucina
PA	Presión arterial
PAS	Presión arterial sistólica
PAD	Presión arterial diastólica
DPP-IV	Dipeptidil peptidasa IV
HORAC	Capacidad de Inhibición de Radicales Hidroxilo
ORAC	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno
SGID	Simulación de Digestión Gastrointestinal
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
SHR	Ratas Espontáneamente Hipertensas

## 12. ANEXO I

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
1	Incluido	Meat and fermented meat products as a source of bioactive peptides.	2015	Stadnik	Stadnik J, Kęska P. Acta Sci Pol Technol Aliment. 2015 Jul-Sep;14(3):181-190. doi: 10.17306/J.AFS.2015.3.19. PMID: 28068025 Review	Carne / Carne fermentada	Proteínas cárnicas	Antihipertensivo Antioxidante	<i>in vitro</i>
2	Incluido	Egg yolk proteins and peptides with biological activity.	2014	Zambrowicz	Zambrowicz A, Dąbrowska A, Bobak Ł, Szołtysik M. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2014 Dec 24;68:1524-9. doi: 10.5604/17322693.1133600. PMID: 25834095 Review	Huevo	Proteínas yema de huevo (fosvitina; lipoproteínas; livetina)	Antihipertensivo Antioxidante Antimicrobiana Crecimiento óseo	<i>in vitro</i>
3	Incluido	Amaranth as a Source of Antihypertensive Peptides	2020	Nardo	Nardo AE, Suárez S, Quiroga AV, Añón MC. Front Plant Sci. 2020 Sep 25;11:578631. doi: 10.3389/fpls.2020.578631. eCollection Review	Amaranto	Proteínas de almacenamiento (globina)	Antihipertensivo	<i>in silico</i> <i>in vitro</i> <i>in vivo</i>
4	Incluido	The antihypertensive effect of fermented milks	2014	Domínguez	Domínguez González KN, Cruz Guerrero AE, Márquez HG, Gómez Ruiz LC, García-Garibay M, Rodríguez Serrano GM. Rev Argent Microbiol. 2014 Jan-Mar;46(1):58-65. doi: 10.1016/S0325-7541(14)70050-1. PMID: 24721277 Review	Leche fermentada	Proteínas de la leche	Antihipertensivo	<i>in vivo</i> (ratas) (en humanos)

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
5	Incluido	Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food.	2016	Beltrán-Barrientos	Beltrán-Barrientos LM, Hernández-Mendoza A, Torres-Llanez MJ, González-Córdova AF, Vallejo-Córdoba BJ Dairy Sci. 2016 Jun;99(6):4099-4110. doi: 10.3168/jds.2015-10054. Epub 2016 Feb 28.PMID: 26923047 Review	Leche fermentada	Proteínas de la leche	Antihipertensivo	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i> (ratas SHR)
6	Incluido	Antihypertensive peptides from food proteins.	2015	Aluko	Aluko RE. Annu Rev Food Sci Technol. 2015;6:235-62. doi: 10.1146/annurev-food-022814-015520.PMID: 25884281 Review	Alubia Alga Arroz Cáñamo Cereza Ciruela Guisante Lentejas Patata dulce Soja Trigo	Proteínas de semillas vegetales	Antihipertensivo	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i>
7	Incluido	Dietary bioactive compounds with potential in preventing pathologies related with overweight and obesity; biologically active peptide	2014	Herrera Chalé	Herrera Chalé F, Betancur Ancona D, Segura Campos MR. Nutr Hosp. 2014 Jan 1;29(1):10-20. doi: 10.3305/nh.2014.29.1.6990.PMID: 24483957 Review	Varias fuentes	Varias fuentes	Antihipertensivo, Antitrombótico, Hipoglucemiante, Hipocolesterolémico, Hipolipemiante	<i>in vivo</i> (ratas) <i>in vitro</i> <i>in vivo</i> (ratones) <i>in vitro</i> / <i>in vivo</i> <i>in vivo</i> (ratones)

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
8	Incluido	Discovery, synthesis, and in vitro evaluation of a novel bioactive peptide for ACE and DPP-IV inhibitory activity.	2019	Ashok	Ashok A, Brijesha N, Aparna HS. Eur J Med Chem. 2019 Oct 15;180:99-110. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.07.009. Epub 2019 Jul 3.PMID: 31301567	Leche	Proteínas del calostro o leche precoz de búfalo	Antihipertensivo Inhibición de DPP-IV	<i>in vitro</i>
9	No disponible	Dietary bioactive peptides: Human studies.	2017	Bouglé	Bouglé D, Bouhallab S. Crit Rev Food Sci Nutr. 2017 Jan 22;57(2):335-343. doi: 10.1080/10408398.2013.873766.PMID: 26067872 (Review)	-	-	-	-
10	Incluido	Physicochemical characterisation, molecular docking, and drug-likeness evaluation of hypotensive peptides encrypted in flaxseed proteome.	2020	Ji	Ji D, Xu M, Udenigwe CC, Agyei D. Curr Res Food Sci. 2020 Mar 14;3:41-50. doi: 10.1016/j.crfs.2020.03.001. eCollection 2020 Nov.PMID: 32914119	Lino	Proteínas de semilla de Linaza	Antihipertensivo	<i>in silico</i>
11	NO incluido	Recent advances in dietary proteins and lipid metabolism.	2013	El Khoury	El Khoury D, Anderson GH. Curr Opin Lipidol. 2013 Jun;24(3):207-13. doi: 10.1097/MOL.0b013e3283613bb7.PMID: 23619369 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
12	Incluido	Comparative study of composition, antioxidant and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family.	2020	Flores	Flores DR, Casados LE, Velasco SF, Ramírez AC, Velázquez G. BMC Chem. 2020 Sep 9;14(1):55. doi: 10.1186/s13065-020-00707-0. eCollection 2020 Dec.PMID: 32944716	Insectos comestibles	Proteína de escarabajo	Antioxidante Antimicrobiana	<i>in vitro</i>

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
13	No disponible	Can cheese mites, maggots and molds enhance bioactivity? Péptidomic investigation of functional peptides in four traditional cheeses.	2021	Robinson	Robinson RC , Nielsen SD , Dallas DC , Barile D . Food Funct. 2021 Jan 21;12(2):633-645. doi: 10.1039/d0fo02439b. Epub 2020 Dec 21.PMID: 33346308	-	-	-	-
14	Incluido	Gastrointestinal digestion enhances the endothelium-dependent vasodilation of a whey hydrolysate in rat aortic rings.	2020	Ozorio .	Ozorio L, Matsubara NK, da Silva-Santos JE, Henry G, Le Gouar Y, Jardin J, Mellinger-Silva C, Cabral LMC, Dupont D. Food Res Int. 2020 Jul;133:109188. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109188. Epub 2020 Mar 19.PMID: 32466916	Lácteo	Proteínas del suero de leche	Antihipertensivo	<i>in vitro</i>
15	Incluido	In vivo endogenous proteolysis yielding beta-casein derived bioactive beta-casomorphin peptides in human breast milk for infant nutrition.	2019	Enjapoori	Enjapoori AK, Kukuljan S, Dwyer KM, Sharp JA.Nutrition. 2019 Jan;57:259-267. doi: 10.1016/j.nut.2018.05.011. Epub 2018 Jun 18.PMID: 30199719	Leche materna	β-caseína	Salud del bebé Opioide	<i>in vivo</i> (humanos)
16	Incluido	beta-Casein(94-123)-derived peptides differently modulate production of mucins in intestinal goblet cells.	2015	Plaisancié	Plaisancié P, Boutrou R, Estienne M, Henry G, Jardin J, Paquet A, Léonil J.J Dairy Res. 2015 Feb;82(1):36-46. doi: 10.1017/S0022029914000533. Epub 2014 Oct 22.PMID: 25335546	Leche bovina	β-caseína	Inhibidor de ACE Antioxidante Opioide Estimula mucosidad	<i>in vitro</i>

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
17	NO incluido	Nanostructure, Self-Assembly, Mechanical Properties, and Antioxidant Activity of a Lupin-Derived Peptide Hydrogel.	2021	Pugliese	Pugliese R, Arnoldi A, Lammi C. Biomedicines. 2021 Mar 13;9(3):294. doi: 10.3390/biomedicines9030294.PMID: 33805635	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
18	Incluido	Identification of a NFkappaB inhibitory peptide from tryptic beta-casein hydrolysate.	2014	Malinowski	Malinowski J, Klempt M, Clawin-Rädecker I, Lorenzen PC, Meisel H. Food Chem. 2014 Dec 15;165:129-33. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.075. Epub 2014 May 23. PMID: 25038658	Lácteo	$\beta$ -caseína	Antiinflamatorio	<i>in vitro</i>
19	Incluido	Release of $\beta$ -casomorphin-7/5 during simulated gastrointestinal digestion of milk $\beta$ -casein variants from Indian crossbred cattle (Karan Fries).	2014	Ul Haq	Ul Haq MR, Kapila R, Kapila S. Food Chem. 2015 Feb 1;168:70-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.024. Epub 2014 Jul 11. PMID: 25172685	Leche bovina de vacas (Karan Fries)	$\beta$ -caseína	Opioide	<i>in vitro</i>
20	Incluido	Potential anticarcinogenic effect of goat milk-derived bioactive peptides on HCT-116 human colorectal carcinoma cell line.	2021	Cakir	Cakir B, Tunali-Akbay T. Anal Biochem. 2021 Jun 1;622:114166. doi: 10.1016/j.ab.2021.114166. Epub 2021 Mar 13. PMID: 33726980	Leche de cabra	caseína proteínas de suero	Cáncer colorrectal	<i>in vitro</i>
21	Incluido	Alternative splicing events expand molecular diversity of camel CSN1S2 increasing its ability to generate potentially bioactive peptides.	2021	Ryskaliyeva	Ryskaliyeva A, Henry C, Miranda G, Faye B, Konuspayeva G, Martin P. Sci Rep. 2019 Mar 27;9(1):5243. doi: 10.1038/s41598-019-41649-5. PMID: 30918277	Leche de camello	caseína	Antibacteriana Antihipertensiva	<i>in silico</i>

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
22	Incluido	Effect of pepsin-treated bovine and goat caseinomacropeptide on Escherichia coli and Lactobacillus rhamnosus in acidic conditions.	2012	Robitaille	Robitaille G, Lapointe C, Leclerc D, Britten M.J Dairy Sci. 2012 Jan;95(1):1-8. doi: 10.3168/jds.2010-4142.PMID: 22192178	Leche bovina Leche de cabra	K-caseína	Antibacteriana	<i>in vitro</i>
23	NO incluido	Evaluation of two sub-2 μm stationary phases, core-shell and totally porous monodisperse, in the second dimension of on-line comprehensive two dimensional liquid chromatography, a case study: separation of milk peptides after expiration date.	2015	Sommella	Sommella E, Pepe G, Ventre G, Pagano F, Manfra M, Pierri G, Ismail O, Ciogli A, Campiglia P. J Chromatogr A. 2015 Jan 2;1375:54-61. doi: 10.1016/j.chroma.2014.11.072. Epub 2014 Dec 4.PMID: 25498555	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
24	NO incluido	Bioinformatics and péptidomics approaches to the discovery and analysis of food-derived bioactive peptides.	2018	Agyei	Agyei D, Tsopmo A, Udenigwe CC. Anal Bioanal Chem. 2018 Jun;410(15):3463-3472. doi: 10.1007/s00216-018-0974-1. Epub 2018 Mar 7.PMID: 29516135 Review.	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
25	NO incluido	A Review of the Latest Advances in Encrypted Bioactive Peptides from Protein-Rich Waste.	2016	Lemes	Lemes AC, Sala L, Ores Jda C, Braga AR, Egea MB, Fernandes KF. Int J Mol Sci. 2016 Jun 16;17(6):950. doi: 10.3390/ijms17060950.PMID: 27322241 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
26	Incluido	Characterisation of the in vitro bioactive properties of alkaline and enzyme extracted brewers' spent grain protein hydrolysates.	2019	Connolly	Connolly A, Cermeño M, Crowley D, O'Callaghan Y, O'Brien NM, FitzGerald R J. Food Res Int. 2019 Jul;121:524-532. doi: 10.1016/j.foodres.2018.12.008. Epub 2018 Dec 5. PMID: 31108777	Cebada	Proteínas de grano gastado	Antioxidante Inmunomodulador Inhibición de DPP4	<i>in vitro</i>
27	Incluido	Bioactive peptides released by in vitro digestion of standard and hydrolyzed infant formulas.	2015	Wada	Wada Y, Lönnerdal B. Peptides. 2015 Nov;73:101-5. doi: 10.1016/j.peptides.2015.09.005. Epub 2015 Sep 16. PMID: 26385395	Leche vaca	fórmulas de leche infantiles	Antihipertensivo Hipocolesterolémico	<i>in vitro</i>
28	Incluido	In vivo digestomics of milk proteins in human milk and infant formula using a suckling rat pup model.	2017	Wada	Wada Y, Phinney BS, Weber D, Lönnerdal B. Peptides. 2017 Feb; 88:18-31. doi: 10.1016/j.peptides.2016.11.012. Epub 2016 Dec 13. PMID: 27979737	Leche materna  Formulas infantiles	$\alpha$ -lactoalbúmina $\beta$ -caseína (de leche materna)  $\beta$ -lactoglobulina $\beta$ -caseína (fórmulas para lactantes)	Antihipertensivo Opioide	<i>in vivo</i> (ratas)
29	Incluido	Identification of peptides in functional Scamorza ovine milk cheese.	2015	Albenzio	Albenzio M, Santillo A, Marino R, Della Malva A, Caroprese M, Sevi A. J Dairy Sci. 2015 Dec;98(12):8428-32. doi: 10.3168/jds.2015-9844. Epub 2015 Sep 26. PMID: 26409967	Leche oveja	proteínas del queso	Inhibidor de ECA (antihipertensivo) Antimicrobiano Inmunomodulador	<i>in vitro</i>

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
30	Incluido	Identification and characterization of antioxidant peptides obtained from the bioaccessible fraction of alpha-lactalbumin hydrolysate.	2021	Báez	Báez J, Fernández-Fernández AM, Tironi V, Bollati-Fogolín M, Añón MC, Medrano-Fernández A. <i>J Food Sci.</i> 2021 Oct;86(10):4479-4490. doi: 10.1111/1750-3841.15918. Epub 2021 Sep 21. PMID: 34549457	Suero de leche	$\alpha$ -lactoalbúmina	Antioxidante	<i>in vitro</i>
31	Incluido	Salmon ( <i>Salmo salar</i> ) Side Streams as a Bioresource to Obtain Potential Antioxidant Peptides after Applying Pressurized Liquid Extraction (PLE).	2021	de la Fuente	de la Fuente B, Pallarés N, Berrada H, Barba F J. <i>Mar Drugs.</i> 2021 Jun 3;19(6):323. doi: 10.3390/md19060323. PMID: 34204982	Salmón	extracto proteico de víscera de salmón	Antioxidante	<i>in vitro</i>
32	Incluido	Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of <i>Amaranthus hypochondriacus</i> seed protein hydrolysates produced with lactic bacteria and their péptidomic profiles.	2021	Sánchez-López	Sánchez-López F, Robles-Olvera VJ, Hidalgo-Morales M, Tsopmo A. <i>Food Chem.</i> 2021 Nov 30;363:130320. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130320. Epub 2021 Jun 6. PMID: 34146770	Amaranto	proteínas de semillas de <i>Amaranthus hypochondriacus</i>	Inhibición de la ECA (antihipertensivo)	<i>in vitro</i>
33	NO incluido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> biomass as a source of next-generation food preservatives: Evaluating potential proteins as a source of antimicrobial peptides.	2021	Pereira	Pereira PR, Freitas CS, Paschoalin VMF. <i>Compr Rev Food Sci Food Saf.</i> 2021 Sep;20(5):4450-4479. doi: 10.1111/1541-4337.12798. Epub 2021 Aug 11. PMID: 34378312	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
34	Incluido	Amino Acid Sequences of Lactoferrin from Red Deer ( <i>Cervus elaphus</i> ) Milk and Antimicrobial Activity of Its Derived Peptides Lactoferricin and Lactoferrampin.	2021	Wang	Wang Y, Morton JD, Bekhit AEA, Carne A, Mason SL. <i>Foods</i> . 2021 Jun 7;10(6):1305. doi: 10.3390/foods10061305.PMID: 34200201	Leche de ciervo rojo	Proteínas del suero, Lactoferrina	Antimicrobiana	<i>in vitro</i>
35	No disponible	Cardioprotective cryptides derived from fish and other food sources: generation, application, and future markets.	2015	Mora	Mora L, Hayes M.J <i>Agric Food Chem</i> . 2015 Feb 11;63(5):1319-31. doi: 10.1021/jf505019z. Epub 2015 Jan 29.PMID: 25597264 Review.	-	-	-	-
36	Incluido	ACE inhibitory peptides in standard and fermented deer velvet: an <i>in silico</i> and <i>in vitro</i> investigation.	2019	Haines	Haines SR, McCann MJ, Grosvenor AJ, Thomas A, Noble A, Clerens S. <i>BMC Complement Altern Med</i> . 2019 Dec 5;19(1):350. doi: 10.1186/s12906-019-2758-3.PMID: 31806003	Ciervo	Análisis peptidómico	Inhibidora de ECA (antihipertensiva)	<i>in silico</i> <i>in vitro</i>
37	NO incluido	Measuring angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity by micro plate assays: comparison using marine cryptides and tentative threshold determinations with captopril and losartan.	2013	Ben Henda	Ben Henda Y, Labidi A, Arnaudin I, Bridiau N, Delatouche R, Maugard T, Piot JM, Sannier F, Thiéry V, Bordenave-Juchereau S.J <i>Agric Food Chem</i> . 2013 Nov 13;61(45):10685-90. doi: 10.1021/jf403004e. Epub 2013 Oct 31.PMID: 24131339	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
38	Incluido	Cryptic Peptides from Collagen: A Critical Review.	2016	Banerjee	Banerjee P, Shanthi C. Protein Pept Lett. 2016;23(7):664-72. doi: 10.2174/0929866522666160512151313.PMID: 27173646 (Review)	Bovino, Marino	colágeno	Inhibidora de ECA Antioxidante Cicatrizante Adhesión celular	-
39	NO incluido	Prooxidant modifications in the cryptome of beef jerky, the deleterious post-digestion composition of processed meat snacks.	2019	Serra	Serra A, Gallart-Palau X, Koh WY, Chua ZJY, Guo X, Chow CJJ, Chen WM, Park JE, Li T, Tam JP, Sze SK. Food Res Int. 2019 Nov;125:108569. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108569. Epub 2019 Jul 19. PMID: 31554040	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
40	NO incluido	Bioactive Molecules Released in Food by Lactic Acid Bacteria: Encrypted Peptides and Biogenic Amines.	2016	Pessione	Pessione E, Cirrincione S. Front Microbiol. 2016 Jun 9;7:876. doi: 10.3389/fmicb.2016.00876. eCollection 2016. PMID: 27375596 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
41	NO incluido	Food-Derived Bioactive Peptides in Human Health: Challenges and Opportunities.	2018	Chakrabarti	Chakrabarti S, Guha S, Majumder K. Nutrients. 2018 Nov 12;10(11):1738. doi: 10.3390/nu10111738. PMID: 30424533 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
42	NO incluido	Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market.	2020	Tadesse	Tadesse SA, Emire SA. Heliyon. 2020 Aug 28;6(8):e04765. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04765. eCollection 2020 Aug. PMID: 32913907 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
43	NO incluido	Manufacturing of peptides exhibiting biological activity.	2013	Zambrowicz	Zambrowicz A, Timmer M, Polanowski A, Lubec G, Trziszka T. <i>Amino Acids</i> . 2013 Feb;44(2):315-20. doi: 10.1007/s00726-012-1379-7. Epub 2012 Aug 23. PMID: 22914979 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
47	Incluido	The potential application of the protein hydrolysates of three medicinal plants: cytotoxicity and functional properties.	2020	Taghizadeh	Taghizadeh MS, Niazi A, Moghadam A, Afsharifar AR. <i>J Food Sci</i> . 2020 Oct;85(10):3160-3167. doi: 10.1111/1750-3841.15379. Epub 2020 Sep 4. PMID: 32885425	Plantas medicinales ( <i>Matricaria chamomilla</i> , <i>Ziziphora clinopodioides</i> , <i>Cressa cretica</i> )		Citotóxica Cáncer Antioxidante	<i>in vitro</i>
44	NO incluido	Molecular targets and mechanisms of bioactive peptides against metabolic syndromes.	2018	Li	Li S, Liu L, He G, Wu J. <i>Food Funct</i> . 2018 Jan 24;9(1):42-52. doi: 10.1039/c7fo01323j. PMID: 29188845 (Review)	NO incluido	NO incluido	NO incluido	NO incluido
45	Incluido	Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review.	2015	Park	Park YW, Nam MS. <i>Korean J Food Sci Anim Resour</i> . 2015;35(6):831-40. doi: 10.5851/kosfa.2015.35.6.831. Epub 2015 Dec 31. PMID: 26877644	Leche Derivados lácteos	$\alpha$ -, $\beta$ - y $\kappa$ -caseína $\beta$ -lactoglobulina lactoferrina	Antihipertensivo Antioxidante Binding de minerales Antitrombótico Opioide Hipocolesterolémico Antimicrobiano Supresor del apetito Factores de crecimiento Antiproliferativa células cancerosas	<i>in vitro</i>

		Título	Año	Autor	Enlace /Doi	Alimento	Proteína	Efecto biológico	Tipo estudio
46	Incluido	The Role of Bioactive Peptides in Diabetes and Obesity.	2021	Chelliah	Chelliah R, Wei S, Daliri EB, Elahi F, Yeon SJ, Tyagi A, Liu S, Madar IH, Sultan G, Oh DH. Foods. 2021 Sep 18;10(9):2220. doi: 10.3390/foods10092220. PMID: 34574330 Review	Huevo, clara Soja		Antidiabético Antiobesidad	<i>in vitro</i> <i>in vivo</i>
48	Incluido	Dairy bioactive proteins and peptides: a narrative review.	2021	Auestad	Auestad N, Layman DK. Nutr Rev. 2021 Dec 8;79(Supplement_2):36-47. doi: 10.1093/nutrit/nuab097. PMID: 34879145	Lácteos	Caseína proteínas del suero	Antihipertensivo Inhibición de DPP-IV	<i>in silico</i> <i>in vitro</i>

### 13. Bibliografia

1. Alberts B, Bray D, Hopkin K, et al. *Essential Cell Biology*. - Fourth edition. (2014).
2. Ali A, Baby B, Soman, SS, Vijayan R. Molecular insights into the interaction of hemorphin and its targets. *Nature Scientific Reports*, (2019) 9:14747. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50619-w>.
3. Aluko R.E. Antihypertensive peptides from food proteins *Annual Rev Food Sci Technol*. (2015); 6:235-62. Doi: 10.1146/annurev-food-022814-015520.
4. Aoyama, T.; Fukui, K.; Takamatsu, K.; Hashimoto, Y.; Yamamoto, T. Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow K.K.). *Nutrition* 2000, 16, 349–354.
5. Arihara, K., Nakashima, Y., Mukai, T., Ishikawa, S., Itoh, M. (2001). Peptide inhibitors for angiotensin I-converting enzyme from enzymatic hydrolysates of porcine skeletal muscle proteins. *Meat Sci.*, 57, 319–324.
6. Arihara, K. (2004). Functional foods. In: W. K. Jensen, C.Devine, M. Dikeman (Eds.), *Encyclopedia of meat sciences*(pp. 492–499). Oxford: Elsevier.
7. Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.*, 74, 219–229.
8. Aune D., Lau R., Chan D.S., Vieira R., Greenwood D.C., Kampman E., Norat T. Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, *Ann. Oncol.* 23 (2012) 37–45, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr269>
9. Autelitano DJ, Rajic A, Smith AI, Berndt MC, Ilag LL, Vadas M. The cryptome: a subset of the proteome, comprising cryptic peptides with distinct bioactivities. *Drug Discov Today*. April (2006); 11 (7-8): 306-14.
10. Ayala A., Rodriguez G, Gonzalez L, Contreras E, Regal P, Cepeda A. Sequence identification of bioactive peptides from amaranth seed proteins (*Amaranthus hypochondriacus* spp.). *Molecules*, (2019), Aug 21;24(17):3033. doi: 10.3390/molecules24173033.
11. Beltrán L M, A Hernández A, Torres MJ, et al. Fermented milk as antihypertensive functional food. *J Dairy Sci*. (2016) Jun;99(6):4099-4110. Doi: 10.3168/jds.2015-10054
12. Bhathena, S.J.; Velasquez, M.T. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* (2002), 76, 1191–1201.
13. Bouglé D, Bouhallab S. Dietary bioactive peptides: Human studies. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017 Jan 22;57(2):335-343. Doi: 10.1080/10408398.2013.873766.PMID: 26067872 (Review).
14. Bounous, G. and Gold, P. (1991) The biological activity of undenatured dietary whey proteins: Role of glutathione. *Clin. Invest. Med.* 14, 296-309.

15. Byun, H.-G., Lee, J. K., Park, H. G., Jeon, J.-K., and Kim, S.-K. (2009) Antioxidant peptides isolated from the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. *Process Biochem.* 44, 842-846. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.04.003>.
16. Brogden, K. A. 2005. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* 3:238–250.
17. Chabance B, Marteau P, Rambaud JC, Migliore Samour D, Boynard M, Perrotin P, et al. Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt. *Biochimie* (1998), 80:155–65. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(98\)80022-9](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(98)80022-9).
18. Chakrabarti S, Guha S, Majumder K. Food-Derived Bioactive Peptides in Human Health: Challenges and Opportunities. *Nutrients* (2018), 10, 1738; Doi:10.3390/nu10111738.
19. Chaparro, S.C.V.; Salguero, J.T.V.; Baquero, D.A.M.; Perez, J.E.R. Effect of polyvalence on the antibacterial activity of a synthetic peptide derived from bovine lactoferricin against healthcare-Associated infectious pathogens. *Biomed Res. Int.* (2018), 5252891.
20. Chatterjee C, Gleddie S, Xiao C W. Soybean Bioactive Peptides and Their Functional Properties. *Nutrients* (2018), 10(9), 1211; <https://doi.org/10.3390/nu10091211>
21. Centelles J, Esteban C, Imperial S. Óxido nítrico. (2004), *OFFARM* Vol 23 num. 11 Dic (2004).
22. Chanson-Rolle A, Aubin F, Braesco V, Hamasaki T, Kitakaze M. Influence of the Lactotriptides Isoleucine-Proline-Proline and Valine-Proline-Proline on Systolic Blood Pressure in Japanese Subjects: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS One.* (2015) Nov 4;10(11):e0142235. Doi: 10.1371/journal.pone.
23. Chelliah R, Wei S, Banan-Mwine E, et al. The Role of Bioactive Peptides in Diabetes and Obesity. *Foods.* (2021) Sep; 10(9): 2220. doi: 10.3390/foods10092220
24. Cheng, Y., Xiong, Y. L., & Chen, J. (2010). Fractionation, separation, and identification of antioxidative peptides in potato protein hydrolysate that enhance oxidative stability of soybean oil emulsions. *Journal of Food Science*, 75(9), C760-C765. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01864.x>
25. Cho E, Smith-Warner S.A, Spiegelman D, et al. Dairy foods, calcium, and colorectal cancer: a pooled analysis of 10 cohort studies, *J. Natl. Cancer Inst.* 96 (2004) 1015–1022, <https://doi.org/10.1093/jnci/djh185>.
26. Connolly A, Cermeño M, Crowley D, O'Callaghan Y, O'Brien NM, FitzGerald RJ. Characterisation of the in vitro bioactive properties of alkaline and enzyme extracted brewers' spent grain protein hydrolysates. *Food Res Int.* 2019 Jul; 121:524-532. doi: 10.1016/j.foodres.(2018),12.008.
27. CONICET. Los secretos del código celular. Prensa: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), (2013). Doi: <https://www.conicet.gov.ar/los-secretos-del-codigo-celular/>
28. Corfield AP 2014 Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. *Biochimica et Biophysica acta.* doi: 10.1016/j.bbagen.2014. 05.003
29. Corrochano, A. R., Arranz, E., De Noni, I., Stuknyte, M., Ferraretto, A., Kelly, P. M., Buckin, V., & Giblin, L. (2018). Intestinal health benefits of bovine whey proteins after

- simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 49, 526–535. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.08.043>
30. Daien, V., Y. Duny, J. Ribstein, G. Du Cailar, A. Mimran, M. Villain, J. P. Daures, and P. Fesler. . Treatment of hypertension with renin-angiotensin system inhibitors and renal dysfunction: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Hypertens.* (2012) 25:126–132. Doi: <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2011.180>
  31. de Zani, S.C.; Wu, J.; Chan, C.B. Egg and soy-derived peptides and hydrolysates: A review of their physiological actions against diabetes and obesity. *Nutrients* 2018, 10, 549.
  32. Di Bernardini, R., Mullen, A. M., Bolton, D., Kerry, J., O’ Neill, E., Hayes, M. (2012). Assessment of the angiotensin-I-converting enzyme (ACE-I) inhibitory and antioxidant activities of hydrolysates of bovine brisket sarcoplasmic proteins produced by papain and characterization of associated bioactive peptidic fractions. *Meat Sci.*, 90, 226–235.
  33. Dieuzeide G. Tratamiento farmacológico oral de la diabetes tipo 2. Publicación online FEPREVA. Doi: [http://www.fepreva.org/curso/5to\\_curso/bibliografia/volumen2/ut3\\_vol2.pdf](http://www.fepreva.org/curso/5to_curso/bibliografia/volumen2/ut3_vol2.pdf).
  34. Dimarcq J, Bulet P, Hetru C, Hoffmann J. Cysteine-rich antimicrobial peptides in invertebrates. January (1998), *Biopolymers*, Volume 47(Issue6) Pages, p.465To–477.
  35. Donis F, Montalvo J, López T, Ruiz L, Caballero A. Protocolos de digestibilidad para modelos gástricos in vitro. *XLIII Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica*, (2020)15 – 17 de octubre.
  36. Dressman J, Berardi R, Dermentzoglou L, Russell T, Schmaltz S, Barnett L and Jarvenpaa K. (1990). Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. *Pharm. Res.* 7:756–761.
  37. Dupont D. INRA, France. Improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process. COST Action FA1005. June 2011 – May 2015 Doi: <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/event/documentset/150617-p10.pdf>
  38. Duraffourd C, DeVadder F, Goncalves D, Delaere F, Penhoat A, Brusset B, et al. Mu-opioid receptors and dietary protein stimulate agut-brain neural circuitry limiting food intake. *Cell* (2012); 150:377–88.
  39. Ermisch A, Ruhle HJ, Neubert K, Hartrodt B, Landgraf R. On the blood-brain barrier to peptides: [3H] beta-casomorphin-5 uptake by eighteen brain regions *in vivo*. *J Neurochem* (1983); 41:1229–33.
  40. Escudero, E., Aristoy, M. C., Nishimura, H., Arihara, K., Toldrá, F. (2012a). Antihypertensive effect and antioxidant activity of peptide fractions extracted from Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.*, 91, 306–311.
  41. Escudero, E., Toldrá, F., Sentandreu, M. A., Nishimura, H., Arihara, K. (2012b). Antihypertensive activity of peptides identified in the in vitro gastrointestinal digest of pork meat. *Meat Sci.*, 91, 382–384.
  42. Fernandez-Fernandez, A. M., Lopez-Pedemonte, T., & Medrano-Fernandez, A. (2017). Evaluation of antioxidant, antiglycant and ACE-inhibitory activity in enzymatic hydrolysates of  $\alpha$ -Lactalbumin. *Food and Nutrition Sciences*, 08(01), 84–98. <https://doi.org/10.4236/fns.2017.81006>.

43. Fernandez-Fernandez, A. M., Dumay, E., Lopez-Pedemonte, T., & Medrano-Fernandez, A. Bioaccessibility and cell metabolic activity studies of antioxidant low molecular weight peptides obtained by ultrafiltration of  $\alpha$ -Lactalbumin enzymatic hydrolysates. *Food and Nutrition Sciences*, (2018), 09(09), 1047–1065. <https://doi.org/10.4236/fns.2018.99077>
44. Ferranti, P., Nitride, Ch., Nicolai, M. A., Mamone, G., Picariello, G., et al. (2014). In vitro digestion of Bresaola proteins and release of potential bioactive peptides. *Food Res. Int.*, 63, 157–169.
45. Ferro E, Rioli V, Castro L, Fricker L. Intracellular peptides: From discovery to function. *EuPA Open Proteomics*, (2014), vol. 3, 143-151. <https://doi.org/10.1016/j.euprot.2014.02.009>
46. Fiat, A. M., Miglilore-Samour, D., Jolles, P., Crouet, L., Collier, C., and Caen, J. (1993) Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two example concerning antithrombotic and immuno-modulating activities. *J. Dairy Sci.* 76, 301-310. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77351-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77351-8).
47. FitzGerald, R. J. and Meisel, H. (2000) Milk protein derived peptide inhibitors of angiotensin-I converting enzyme. *Brit. J. Nutr.* 84, S33-S37.
48. Flambard, B., and E. Johansen. Developing a functional dairy product: from research on *Lactobacillus helveticus* to industrial application of Cardi-04™ in novel antihypertensive drink yogurts. *Functional dairy*, (2007), Pages:506–520.
49. Flores DR, Casados LE, Velasco SF, Ramírez AC, Velázquez G. Comparative study of composition, antioxidant, and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family. *BMC Chem.* (2020) Sep 9;14(1):55. doi: 10.1186/s13065-020-00707-0.
50. Fujita, H., Yokoyama, K., Yoshikawa, M. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *J. Food Sci.*, (2000). 65, 564–569.
51. Gaglione R, Pizzo E, Notomista E, De la Fuente-Nunez C, Arciello A. Host Defence Cryptides from Human Apolipoproteins: Applications in Medicinal Chemistry. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. Vol. 20, n.14, 2020.DOI: 10.2174 / 1568026620666200427091454.
52. Garcés, M.; López, I.; López, R.; Miguel, M. Egg white hydrolysates with in vitro biological multiactivities to control complications associated with the metabolic syndrome. *Eur. Food Res. Technol.* (2016), 242, 61–69.
53. García C, Montiel R, Borderas T. Fat and protein of cow's milk: components, synthesis, and modification. *Arch. Zootec.* 63(R): 85-105.2014.
54. Giganti, D., Yan, K., Badilla, C. L., Fernandez, J. M., & Alegre-Cebollada, J. (2018). Disulfide isomerization reactions in titin immunoglobulin domains enable a mode of protein elasticity. *Nature Communications*, 9(1), 185. Doi:10.1038/s41467-017-02528-7.
55. Girolamo G, Tamez A, Tamez H. Inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4: farmacodinamia, farmacocinética. *Med Int Mex* (2008) ;24(2):142-7. Doi: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2008/mim082g.pdf>.

56. Gobbetti, M., Minervini, F., and Rizzello, C. G. Bioactive peptides in dairy products. In: Handbook of food products manufacturing. Y. H. Hui, (ed), John Wiley & Sons, Inc. pp., (2007) 489-517.
57. Gomez-Ruiz J, Ramos M and Recio I. Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures. *Int. Dairy J.* (2002) 12:697–706.
58. Gomez-Ruiz, J. A., M. Ramos, and I. Recio. Angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity of peptides isolated from Manchego cheese. Stability under simulated gastrointestinal digestion. *Int. Dairy J.* (2004), 14:1075–1080.
59. Hartmann R and Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications Rainer. *Current Opinion in Biotechnology* (2007), 18:163–169. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.01.013.
60. Hernandez-Ledesma B , Quiros A, Amigo L, Reciol. Identification of bioactive peptides after digestion of human milk and infant formula with pepsin and pancreatin. *Int Dairy J* (2007);17:42–9.
61. Hernández-Ledesma, B., Recio, I. & Amigo, L.  $\beta$ -Lactoglobulin as source of bioactive peptides. *Amino Acids*, (2008), 35, 257–265. <https://doi.org/10.1007/s00726-007-0585-1>.
62. Hernandez-Ledesma, B., M. Contreras, and I. Recio. Ramos, M. Péptidos antihipertensivos derivados de proteínas lácteas. CSIC, capítulo libro: Funcionalidad de Componentes Lácteos: 305-326 (2009) <http://hdl.handle.net/10261/155433>
63. Hernandez-Ledesma, B., M. Contreras, and I. Recio. Antihypertensive peptides: Production, bioavailability, and incorporation to foods. *Adv. Colloid Interface Sci* (2011), 165:23–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2010.11.001>.
64. Holzapfel, W. H., P. Haberer, J. Snel, U. Schillinger, and J. H. J. Huis in' t Veld. Overview of gut flora and probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* (1998), 41:85–101.
65. Iavarone F, Desiderio C, Vitali A, Messana I, Martelli C, Castagnola M, Cabras T. Cryptides latent peptides everywhere. (2018). *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* (2018), Vol. 53, NO. 3, 246–263.
66. Indiano P, Fernández S, Amigo L, Hernández B. Nuevos péptidos multifuncionales liberados durante la digestión gastrointestinal de lunasina. (CIAL) *Comunicaciones congresos* (2018). DOI: <https://digital.csic.es/handle/10261/19433>.
67. Iwaniak, A., Minkiewicz, P., Darewicz, M. Foodoriginating ACE inhibitors, including antihypertensive peptides, as preventive food components in blood pressure reduction. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.*, (2014), 13, 114–134.
68. Jakubczyk, A., Karas, M., Rybczynska-Tkaczyk, K., Zielinska, E., & Zielinski, D. (2020). Current trends of bioactive peptides – new sources and therapeutic effect. *Foods*, 9(7), 846. <https://doi.org/10.3390/foods9070846>.
69. Jang, A., Cho, Y. J., Lee, J. I., Shin, J. H., Kim, I. S., Lee, M. The effect of beef peptide on blood pressure and serum lipid concentration of spontaneously hypertensive rat (SHR). *J. Anim. Sci. Technol.* (Kor), (2004), 46, 107–114.
70. Jang, A., Lee, M. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from beef hydrolysates. *Meat Sci.*, (2005), 69, 653–661.

71. Jang, A., Jo, Ch., Kang, K. S., Lee, M. (2008). Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Food Chem.*, 107, 327–336.
72. Jia, L.; Betters, J.L.; Yu, L. Niemann-pick C1-like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annu. Rev. Physiol.* (2011), 73, 239–259.
73. Jolles, P., Levy-Toledano, S., Fiat, A. M., Soria, C., Gillesen, D., Thomaidis, A., Dunn, F. W., and Caen, J. Analogy between fibrinogen and casein: effect of an undecapeptide isolated from k-casein on platelet function. *Eur. J. Biochem.* (1986), 158, 379-382. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1986.tb09764.x>.
74. Kamau, S. M., Cheison, S. C., Chen, W., Liu, X. M., & Lu, R. R. Alpha-lactalbumin: Its production technologies and bioactive peptides. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, (2010), 9(2), 197-212. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00100.x>.
75. Kastin A. Handbook of Biologically Active Peptides. - 1st Edition - August 29, 2006; DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369442-3.X5001-6> 2nd Edition - January 26, 2013 – Elsevier. Editor: Abba Kastin.
76. Katayama, K., Anggraeni, H. E., Mori, T., et al. Porcine skeletal muscle troponin is a good source of peptides with angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity and antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats. *J. Agric. Food Chem.* (2008), 56, 355–360.
77. Kim, E. K., Lee, S. J., Jeon, B. T., Moon, S. H., Kim, B. K., Park, T. K., Han, J. S. Purification and characterisation of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysates of venison protein. *Food Chem.* (2009), 114, 1365–1370.
78. Kim, S.-K., Byun, H.-G., Park, P.-J., Shahidi, F. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *J. Agric. Food Chem.* (2001), 49, 2992–2997.
79. Konukoglu, D., & Uzun, H. Endothelial dysfunction and hypertension. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, (2016), Vol. 956, (pp. 511–540). Springer New York LLC. [https://doi.org/10.1007/5584\\_2016\\_90](https://doi.org/10.1007/5584_2016_90).
80. Korhonen, H., Pihlanto, A. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* (2006), 16, 945–960.
81. Korhonen H., Pihlanto A. Bioactive peptides from food proteins In: Hui Y. H., editor. Handbook of food products manufacturing. *John Wiley & Sons, Inc.*; (2007b). pp. 5–37.
82. Kwak, J.H.; Ahn, C.-W.; Park, S.-H.; Jung, S.-U.; Min, B.-J.; Kim, O.Y.; Lee, J.H. Weight reduction effects of a black soy peptide supplement in overweight and obese subjects: Double blind, randomized, controlled study. *Food Funct.* (2012), 3.
83. Landa E, Aredondo A. PICO tool for the formulation and search of clinically relevant questions in evidence-based psycho-oncology. *Psicooncología*. Vol. 11, Núm. 2-3, 2014, pp. 259-270.
84. Li, B., Chen, F., Wang, X., Ji, B., Wu, Y. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chem.* (2007), 1024, 1135–1143.

85. Liu F., Baggerman G., Schoofs L., Wets G. The construction of a bioactive peptide database in Metazoa. *J. Proteome Res.*(2008),7:4119–4131.
86. Luppino, F.S.; de Wit, L.M.; Bouvy, P.F.; Stijnen, T.; Cuijpers, P.; Penninx, B.W.; Zitman, F.G. Overweight, obesity, and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch. Gen. Psychiatry*, (2010), 67, 220–229.
87. Lynch K., Steffen, E, Arendt E. Brewers' spent grain: A review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, (2016),122(4), 553–568.
88. Mann B., Athira S., Sharma R., Kumar R., Sarkar P. Bioactive peptides from whey proteins. In H. C. Deeth & N. Bansal (Ed.) *Whey proteins: From milk to medicine* (519–547) *Academic Press*, (2018). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812124-5.00015-1>.
89. Manzoor M, Singh J, Gani A. Exploration of bioactive peptides from various origin as promising nutraceutical treasures: *in vitro*, *in silico* and *in vivo* studies. *Food Chemistry*, Volume 373, Part A, 30 March (2022), 131395. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131395>.
90. Martins J, Bourbon A, Pinheiro A, Fasolin L and Vicente V. Protein-Based Structures for Food Applications: From Macro to Nanoscale. *Front. Sustain. Food Syst.*, 09 November, (2018). Doi: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00077>.
91. Marquart, T, Allen, R, Ory, D, Baldán Á. miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA* (2010), 107, 12228–12232.
92. Maruyama, K. (1997). Giant elastic protein of muscle. *The FASEB Journal*,( 1997) 11, 341–345. DOI: <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.5.9141500>.
93. Matsui, R., Honda, R., Kanome, M., Hagiwara, A., Matsuda, Y., Togitani, T., Ikemoto, N., & Terashima, M. Designing antioxidant peptides based on the antioxidant properties of the amino acid side-chains. *Food Chemistry*, (2018), 245, 750–755. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.119>.
94. Meisel, H., Multifunctional peptides encrypted in milk proteins. *BioFactors*, (2004) 21, 55–61.
95. Meisel, H., Bockelmann W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties. *Antonie Van Leeuwenhoek*, (1999), 76, 207–215.
96. Meisel H., Olieman,C. Estimation of calcium-binding constants of casein phosphopeptides by capillary zone electrophoresis. *Analytica Chimica Acta* (1998) 372, 291-297. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00335-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00335-3).
97. Meisel H, Schlimme E. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme derived from bovine casein (casokinins) In: Brantl V., Teschemacher H., editors.  $\kappa$ -casomorphins and related peptides: recent developments.VCH; Weinheim: (1994), pp. 27–33.
98. Meisel H, Schlimme E. Bioactive peptides derived from milk proteins: ingredients for functional foods. (1996), *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 48, 343-357.
99. Mendez N, Casanova Y, Chimbi A, Hernandez E, Castro A, Diaz J, Monroy Z, Castaneda J. Synthetic peptides derived from bovine lactoferricin exhibit antimicrobial activity against *E. coli* ATCC 11775, *S. maltophilia* ATCC 13636 and *S. enteritidis* ATCC 13076. *Molecules* (2017), 22, 452.

100. Miguel M, Muguerza B, Sánchez E, Delgado MA, Recio I, Ramos M, Aleixandre MA. Changes in arterial blood pressure in hypertensive rats caused by long-term intake of milk fermented by *Enterococcus faecalis* CECT 5728. *Br J Nutr.* (2005) ;94:36-43.
101. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Balance S, BohnT, Bourlieu C, Carriere F et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - An international consensus. *Food Funct.* (2014) Jun; 5(6):1113-24. Doi: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/fo/c3fo60702j>.
102. Minkiewicz P, Iwaniak A, y Darewicz M. BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *Int J Mol Sci.* (2019) December; 20 (23): 5978. Doi:10.3390/ijms20235978.
103. Miner-Williams WM, Stevens RS and Moughan PJ. Are intact peptides absorbed from the healthy gut in the adult human? *Nutrition Research Reviews* (2014), 27, 308–329. Doi:10.1017/S0954422414000225.
104. Mora L, Hayes M. Cardioprotective cryptides derived from fish and other food sources: generation, application, and future markets. *J Agric Food Chem.* (2015) Feb 11;63(5):1319-31. doi: 10.1021/jf505019z.
105. Moore, K.J.; Rayner, K.J.; Suárez, Y.; Fernández-Hernando, C. microRNAs and cholesterol metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* (2010), 21, 699–706.
106. Muguruma, M, Ahmed, A. M, Katayama, K, Kawahara, S, Maruyam, M., Nakamura, T. Identification of pro-drug type ACE inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects in vivo. *Food Chem.* (2009), 114, 516–522.
107. Mukai H, Hokari Y, Seki T, Takao T, et al. (2008). Discovery of Mitocryptide-1, a Neutrophil-activating Cryptide from Healthy Porcine Heart. *J Biol Chem.* 283: 30596 - 30605. Doi: 10.1074/jbc.M803913200.
108. Nagasawa, T., Yonekura, T., Nishizawa, N., Kitts, D. *In vitro* and *in vivo* inhibition of muscle lipid and protein oxidation by carnosine. *Mol. Cell Biochem.* (2001), 225,29–34.
109. O'Connor, C. M. & Adams, J. U. unit 2: Proteins Are Responsible for a Diverse Range of Structural and Catalytic Functions in Cells. *Essentials of Cell Biology. Unit 2.* Cambridge, MA: NPG Education, (2010). *Nature Publ.* <https://www.nature.com/scitable/topicpage/protein-function-14123348/>.
110. Oliva Y, Vega S. Péptidos bioactivos derivados de las proteínas lácteas: propiedades y aplicaciones principales. *Rev. Salud Anim.* Vol. 26 No. 3 (2004): 151-162.
111. Nakashima, Y., Arihara, K., Sasaki, A., Mio, H., Ishikawa, S., Itoh, M. Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. *J. Food Sci.* (2002), 67,434–437.
112. Norat T, Riboli E. Dairy products and colorectal cancer. A review of possible mechanisms and epidemiological evidence, *Eur. J. Clin. Nutr.* 57 (2003) 1–17, <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601522>.
113. Nwachukwu I, Aluko R. A systematic evaluation of various methods for quantifying food protein hydrolysate peptides. *Food Chemistry.* Volume 270, 1 January (2019) 9, Pages 25-31.

114. Ochiai, M.; Kuroda, T.; Matsuo, T. Increased muscular triglyceride content and hyperglycemia in Goto-Kakizaki rat are decreased by egg white hydrolysate. *Int. J. Food Sci. Nutr.* (2014), 65, 495–501.
115. Panyayai T, Ngamphiw C, Tongsimas S, et al. PeptideDB: A web application for new bioactive peptides from food protein. *Heliyon.* (2019) July; 5 (7), e02076. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02076> .
116. Park, S. Y., Chin, K. B.. Antioxidant activities of pepsin hydrolysates of water-and salt-soluble protein extracted from pork hams. *Int. J. Food Sci. Technol.* (2011), 46, 229–235.
117. Parra R. Whey: importance in the food industry. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* (2009), 62(1): 4967-4982.
118. Patil P, Mandal S, Kumar S, Santosh T. Food protein - derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes, *Eur. J. Nutr.* (2015),54, 863-880. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00394-015-0974-2>.
119. Pimenta D C, Lebrun I. Cryptides: Buried secrets in proteins. *Peptides*, 28 (2007) 2403–2410. Doi: 10.1016/j.peptides.2007.10.005.
120. Plaisancié P, Boutrou R, Estienne M, Henry G, Jardin J, Paquet A, Léonil J. beta-Casein(94-123)-derived peptides differently modulate production of mucins in intestinal goblet cells. *J Dairy Res.* (2015) Feb;82(1):36-46. doi: 10.1017/S0022029914000533.
121. Qian, Z. Y., Jolles, P., Migliore-Samour, D., Schoentgen, F., and Fiat, A. M. (1995). Sheep kappa-casein peptides inhibit platelet aggregation. *Biochim Biophys Acta* 1244, 411-417. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(95\)00047-F](https://doi.org/10.1016/0304-4165(95)00047-F).
122. Requena, T.; Miguel, M.; Garcés-Rimón, M.; Martínez-Cuesta, M.C.; López-Fandiño, R.; Peláez, C. Pepsin egg white hydrolysate modulates gut microbiota in Zucker obese rats. *Food Funct.* (2017), 8, 437–443.
123. Ricard-Blum S, Vallet D. Proteases decode the extracellular matrix cryptome. *Biochimie.* Volume 122, March (2016), Pages 300-313. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.09.016>.
124. Rival, S. G., Boeriu, C. G., and Wichers, H. J. Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *J. Agr. Food Chem.* (2001) 4, 295-302.
125. Rizzello, C. G., I. Losito, M. Gobbetti, T. Carbonara, M. D. De Bari, and P. Zambonin. Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties. *J. Dairy Sci.* (2005) 88:2348–2360.
126. Rodríguez JC, González AF, Torres MJ, Garcia HS, Vallejo B. Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *J Dairy Sci* (2012); 95(10): 5536-5543.
127. Rodríguez-Hernández et al. Biopéptidos en la leche y sus derivados. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*,(2014) 1(3):281-294.
128. Roy M.K, Watanabe Y, Tamai Y. Induction of apoptosis in HL-60 cells by skimmed milk digested with a proteolytic enzyme from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Biosci. Bioeng.* 88 (1999) 426–432, [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(99\)80221-7](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(99)80221-7).

129. Saiga, A, Okumura, T, Makihara, T, Katsuta, S, Shimizu, T, Yamada, R, Nishimura, T F. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in a hydrolyzed chicken breast muscle extract. *J. Agric. Food Chem.* (2003a), 51,1741–1745.
130. Saitoh E, Taniguchi M, Ochiai A, Kato T, Imai A, Isemura S. Bioactive peptides hidden in human salivary proteins. *Journal of Oral Biosciences* 59 (2017) 71–79.
131. Sánchez A, Vázquez A. Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, (2017), (1): 29-46. Doi:10.1093/fqs/fyx006.
132. Sarmadi, B., Ismail, A. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, (2010), 31, 1949–1956.
133. Sentandreu, M. A., Toldrá, F. Evaluation of ACE inhibitory activity of dipeptides generated by the action of porcine muscle dipeptidyl peptidases. *Food Chem.* (2007), 102, 511–515.
134. Serra A, Gallant-Palau X, Koh W Y, et al. Prooxidant modifications in the cryptome of beef jerky, the deleterious post-digestion composition of processed meat snacks. *Food Research International* (2019), Vol. 125, Nov. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108569>.
135. Sharma R., Katz J. Bioactive Foods and Extracts: Cancer Treatment and Prevention. Watson, R.R., Preedy, V.R., editors, *CRC Press*, Boca Raton, (2010) 143-171.
136. Shoeb M. Anticancer agents from medicinal plants. *Bangladesh J. Pharm.* vol 1 (2006), pages 35–41.
137. Siemianowska E, Kosewska A, Aljewicz M, Skibniewska KA, Polak-Juszczak L, Jarocki A, et al. Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L) as European novel food. *Agricultural Sciences* (2013); 4:287–91. <https://doi.org/10.4236/as.2013.46041>.
138. Suetsuna, R., Ukeda, H., and Ochi, H. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *J. Nutr. Biochem.* (2000), 11, 128-131. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(99\)00083-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(99)00083-2).
139. Takumi K, de Jonge R and Havelaar A. Modelling inactivation of *Escherichia coli* by low pH: application to passage through the stomach of young and elderly people. *J. Appl. Microbiol.* (2000) 89:935–943.
140. Tang S, Prodhan Z, Biswas S, Le C, Sekaran S. Antimicrobial peptides from different plant sources: Isolation, characterisation, and purification *Phytochem*, vol 154 (2018), pages 94-105.
141. Taghizadeh M, Niazi A, Moghadam A, Afsharifar A. The potential application of the protein hydrolysates of three medicinal plants: cytotoxicity and functional properties. *J Food Sci.* (2020) Oct;85(10):3160-3167. doi: 10.1111/1750-3841.15379.
142. Ten Have G, Engelen M, Luiking Y, Deutz N. Absorption kinetics of amino acids, peptides, and intact proteins. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* (2007) Aug;17 Suppl: S23-36. Doi:10.1123/ijsnem.17.s1.s23.
143. Tzakos A, Galanis A, Spyroulias G, Cordopatis P, Manessi-Zoupa E, Gerothanassis I. Structure-function discrimination of the N- and C- catalytic domains of human angiotensin converting enzyme: implications for Cl<sup>-</sup> activation and peptide hydrolysis mechanisms. *Protein Eng.* (2003); 16:993-1003.

144. Udenigwe, C., and A. Mohan. Mechanisms of food protein-derived antihypertensive peptides other than ACE inhibition. *J. Funct. Foods*, (2014), 8 (1) :45–52. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.03.002>.
145. Ueki N, Someya K, Matsuo Y, Wakamatsu K, Mukai H. Cryptides: Functional cryptic peptides hidden in protein structures. (2007). *Peptide Science* Volume 88 - Number 2. DOI 10.1002/bip.20687.
146. Ul Haq MR, Kapila R, Kapila S. Release of  $\beta$ -casomorphin-7/5 during simulated gastrointestinal digestion of milk  $\beta$ -casein variants from Indian crossbred cattle (Karan Fries). *Food Chem.* (2015) Feb 1; 168:70-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.024
147. Vaštag Ž, Popović L, Popović S, Petrović L., Peričin D. Antioxidant and angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity in the water-soluble protein extract from Petrovac Sausage (Petrovska Kolbasa). *Food Contr.* (2010), 21, 1298–1302.
148. Veldkamp T, van Duinkerken G, van Huis A, Iakemond C, Ottevanger E, Bosch G, et al. Wageningen UR Livestock Research Partner in livestock innovations Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets-a feasibility study. (2012). <http://www.livestockresearch.wur.nl>.
149. Wada Y, Lönnerdal B. Bioactive peptides derived from human milk proteins—mechanisms of action, *J. Nutr. Biochem.* 25 (2014) 503–514.
150. Wada Y, Lönnerdal B. Bioactive peptides released from invitro digestion of human milk with or without pasteurization. *Pediatr Res* (2015); 77:546–53.
151. Wang J, Yin T, Xiao X, et al. StraPep: a structure database of bioactive peptides. Database (Oxford). (2018) vol. 2018, Article ID bay038. Doi:10.1093/database/bay038.
152. WHO. The top 10 causes of death (2017). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>
153. WHO. Nutrients. e-Library of Evidence for Nutrition Actions (eLENA). (2021). <https://www.who.int/elena/nutrient/en/>
154. WHO. Healthy Diet. Online, August, (2018). <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/healthy-diet> World. *Nutrients*. | <https://www.who.int/elena/nutrient/en/> (2021).
155. Wang Y, Morton JD, Bekhit AEA, Carne A, Mason SL. Amino Acid Sequences of Lactoferrin from Red Deer (*Cervus elaphus*) Milk and Antimicrobial Activity of Its Derived Peptides Lactoferricin and Lactoferrampin. *Foods*. (2021) Jun 7;10(6):1305. doi: 10.3390/foods10061305.
156. Young J F, Therkildsen M, Ekstrand B, Che B N, Larsen M K, Oksbjerg N., Stagsted J. (2013). Novel aspects of health promoting compounds in meat. *Meat Sci.*, 95, 904–911.
157. Zhu, H., C. A. Hart, D. Sales, and N. B. Roberts. Bacterial killing in gastric juice—Effect of pH and pepsin on *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. *J. Med. Microbiol.* (2006) 55:1265–1270.