

Βιοενεργά πεπτίδια των τροφίμων και η επίδραση τους στην ανθρώπινη υγεία.

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Καραχοτζίτη Χριστίνα

ΤΕΙ ΚΡΗΤΗΣ | 2017

ΚΑΡΑΧΟΤΖΙΤΗ ΧΡΙΣΤΙΝΑ 2017

**TECHNOLOGICAL EDUCATIONAL INSTITUTE OF CRETE
DEPARTMENT OF NUTRITION AND DIETETICS**

**DIPLOMA THESIS:
Food bioactive peptides and their effect on human health**

STUDENT: Karachotziti Christina
SUPERVISOR: Spyridaki Aspasia

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	ΣΕΛΙΔΑ
Ευχαριστίες	4
Περίληψη	5
Εισαγωγή	7
Κεφάλαιο 1	
1.1 Βιοενεργά Πεπτίδια.....	14
1.2 Διατροφικές πηγές βιοενεργών πεπτιδίων.....	16
Κεφάλαιο 2	
2.1 Απελευθέρωση βιοενεργών πεπτιδίων.....	17
2.2 Γαστρεντερική χώνευση.....	18
2.3 Μικροβιακή ζύμωση.....	19
2.4 Επεξεργασία τροφίμων.....	22
Κεφάλαιο 3	
3.1 Απορρόφηση βιοενεργών πεπτιδίων.....	22
Κεφάλαιο 4 Δράσεις βιοενεργών πεπτιδίων στην ανθρώπινη υγεία	
4.1 Οπιοειδή πεπτίδια.....	25
4.2 Ανοσορυθμιστικά πεπτίδια.....	30
4.3 Αντιμικροβιακά πεπτίδια.....	33
4.4 Αντιθρομβωτικά πεπτίδια.....	35
4.5 Αντιϋπερτασικά πεπτίδια.....	36
4.6 Αντιοξειδωτικά πεπτίδια.....	40
Κεφάλαιο 5: In vivo μελέτες απορρόφησης και δράσης βιοενεργών πεπτιδίων	41
Συμπεράσματα	44
Βιβλιογραφία	45

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου Ασπασία Σπυριδάκη για την βοήθεια που μου προσέφερε ώστε να ολοκληρώσω την πτυχιακή μου εργασία αλλά και για την γρήγορη και στοχευμένη προσέγγιση της σε κάθε μου απορία. Καθ' όλη αυτή τη διάρκεια είχαμε άψογη συνεργασία. Ακόμα θα ήθελα να εκφράσω την ευχαρίστηση μου προς τον προϊστάμενο του τμήματος Γεώργιο Φραγκιαδάκη καθώς με βοήθησε αρκετά σε ένα πρόβλημα που αντιμετώπισα στο παρελθόν. Τέλος την πτυχιακή αυτή εργασία την αφιερώνω στην μητέρα μου και στον Αντώνη.

Περίληψη

Η ανησυχία των καταναλωτών τα τελευταία χρόνια σχετικά με την επίδραση που παρουσιάζουν τα τρόφιμα που καταναλώνουν στην υγεία τους έχει αποτελέσει μια τεράστια πρόκληση για την βιομηχανία τροφίμων όπου προσπαθεί να αναπτύξει υγιέστερα και περισσότερο λειτουργικά τρόφιμα τα οποία θα προασπίζουν την ανθρώπινη υγεία. Η πρωτεΐνη αποτελεί θρεπτική ύλη απαραίτητη για τη σωστή ανάπτυξη και λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Ο κύριος ρόλος της διαιτητικής πρωτεΐνης είναι η παροχή αζώτου και αμινοξέων, τα οποία τα χρησιμοποιεί ο οργανισμός για τη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών του. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερες μελέτες επισημαίνουν πως κάποιες διαιτητικές πρωτεΐνες μπορούν να προσφέρουν επιπλέον οφέλη στην υγεία, πέρα από την κάλυψη των θρεπτικών αναγκών. Έτσι σύμφωνα με τα αποτελέσματα πολλών ερευνών, κατά τη διαδικασία της πέψης κάποιων πρωτεϊνών, απελευθερώνονται πεπτίδια, αποτελούμενα συνήθως από 2 έως 20 αμινοξέα, με μοριακή μάζα μικρότερη από 6kDa, τα οποία απορροφώνται μέσω του εντέρου, εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και ασκούν ευεργετική δράση στον οργανισμό. Αυτά τα πρωτεϊνικά θραύσματα ονομάζονται βιοενεργά πεπτίδια, απαντώνται τόσο σε ζωικά όσο και σε φυτικά τρόφιμα ως ανενεργές μορφές, κρυμμένες στην αλληλουχία διαιτητικών πρωτεϊνών. Ανάλογα με τη βιολογική δράση που ασκούν, τα πεπτίδια αυτά ταξινομούνται ως οπιοειδή, αντιμικροβιακά, αντιθρομβωτικά, αντιϋπερτασικά, ανοσορυθμιστικά κ.α. Η πιο πλούσια πηγή βιοενεργών πεπτιδίων φαίνεται να είναι το γάλα, με πιο αντιπροσωπευτικά τα πεπτίδια που απελευθερώνονται από την α_1 -καζεΐνη και την β -καζεΐνη. Υπάρχουν όμως και άλλες πηγές βιοενεργών πεπτιδίων όπως το κρέας, τα αβγά, τα ψάρια, το ρύζι, το σιτάρι, το καλαμπόκι και τα μανιτάρια. Η παρουσία βιοενεργών πεπτιδίων στις πρωτεΐνες των τροφίμων δίνει μια νέα διάσταση στην έννοια της ποιότητας μιας πρωτεΐνης, η οποία μέχρι σήμερα εκτιμάται με το χημικό σκορ και τη βιολογική αξία. Από την άλλη, η επιστήμη των

βιοενεργών πεπτιδίων έχει ήδη βρει εφαρμογή σε εμπλουτισμένα λειτουργικά τρόφιμα και συμπληρώματα διατροφής.

Λέξεις κλειδιά: πρωτεΐνες, βιολογική αξία, οπιοειδή, αντιμικροβιακά, αντιθρομβωτικά, αντιυπερτασικά, ανοσορυθμιστικά

Abstract

Consumer concern over the past years about the health effects of foods they eat has been a huge challenge for the food industry which is trying to develop healthier and more functional foods that will protect human health. Protein is a nutrient essential to the proper development and functioning of the human body. The main role of the dietary protein is the supply of nitrogen and amino acids that the body uses to biosynthesis its proteins. However, in recent years, more and more studies have shown that some dietary proteins can provide additional health benefits beyond the nutritional needs. Thus, according to the results of many studies, in the process of digesting certain proteins, peptides are released, usually consisting of 2 to 20 amino acids, with a molecular mass less than 6 kDa, which are absorbed through the intestine, enter the bloodstream and exert beneficial action in the human body. These protein fragments are called bioactive peptides, found in both animal and plant foods as inactive forms, hidden in the dietary protein sequence. Depending on the biological activity they exert, these peptides are classified as opioids, antimicrobials, antithrombotics, antihypertensives, immunomodulators and .a. The richest source of bioactive peptides appears to be milk, more representative of the peptides released by α 1-casein and β -casein. But there are other sources of bioactive peptides such as meat, eggs, fish, rice, wheat, corn and mushrooms. The presence of bioactive peptides in food proteins gives a new dimension to the concept of the quality of a protein, which to date is assessed with chemical scarcity and biological value. On the other hand, the science of bioactive peptides has already found application in enriched functional foods and

dietary supplements.

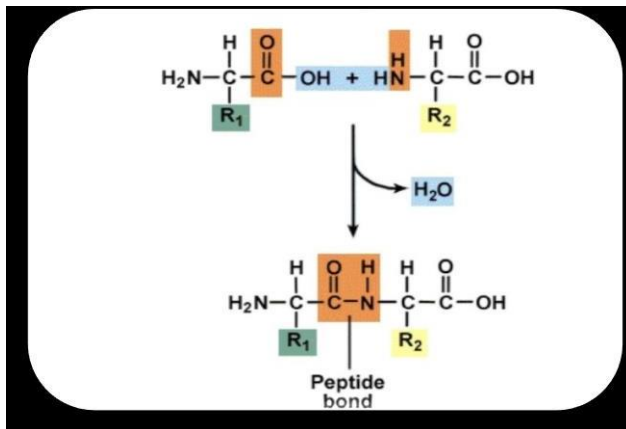
Keywords: pr oteins, biological value, opioid, antimicrobial, antithrombotic, anti-hypertensive, immunomodulatory.

Εισαγωγή

Τα ζωντανά συστήματα από χημικής άποψης διαθέτουν μια πολύπλοκη και μοναδική οργάνωση, έτσι διαθέτουν μεγάλα μόρια που ονομάζονται μακρομόρια και είναι περισσότερο πολύπλοκα από ότι στα μη έμβια όντα. Τα μακρομόρια αυτά υπακούουν στους ίδιους νόμους της φύσης και χωρίζονται σε 4 κατηγορίες οι οποίες είναι:

- Νουκλειικά οξέα
- **Πρωτεΐνες**
- Υδατάνθρακες
- Λιπίδια

Η λέξη πρωτεΐνη προέρχεται από την ελληνική λέξη "πρώτος" και υποδηλώνει τη πρωταρχική σημασία που έχει για τη ζωή. Οι πρωτεΐνες είναι πλέον από τα βασικά συστατικά των κυττάρων αφού συμμετέχουν σε όλες τις διεργασίες που χαρακτηρίζουν τη ζωή όπως είναι η αναπαραγωγή, η θρέψη, η αναπνοή, η κίνηση και η άμυνα του οργανισμού. Από χημικής άποψης οι πρωτεΐνες είναι οργανικά μακρομόρια τα οποία αποτελούνται από αμινοξέα, τις δομικές τους μονάδες, συνδεδεμένα μεταξύ τους με πεπτιδικό δεσμό. Ο πεπτιδικός αυτός δεσμός σχηματίζεται μέσω της καρβοξυλομάδας του ενός αμινοξέος και της αμινομάδας του επόμενου αμινοξέος και με την ταυτόχρονη αποβολή ενός μορίου νερού όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:



Υπάρχουν περίπου είκοσι διαφορετικά αμινοξέα που συναντάμε συνήθως στα φυτά και τα ζώα. Μια τυπική πρωτεΐνη μπορεί να περιέχει 300 ή περισσότερα αμινοξέα. Κάθε πρωτεΐνη έχει τον δικό της αριθμό και τη δική της αλληλουχία αμινοξέων (Γεωργάτσος,2013).

Τα απαραίτητα αμινοξέα είναι αυτά που δεν μπορεί να συνθέσει το ήπαρ από μόνο του όπως :

- τρυπτοφάνη
- λυσίνη
- μεθειονίνη
- βαλίνη
- λευκίνη
- ισολευκίνη
- φαινυλαλανίνη
- θρεονίνη
- αργινίνη*
- ιστιδίνη*

Τα αμινοξέα αργινίνη και ιστιδίνη αν και μπορούν να συντεθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό, εμφανίζουν πολύ μικρό ρυθμό βιοσύνθεσης για να καλυφθούν οι ανάγκες σε ορισμένες περιπτώσεις. Έτσι σε αναπτυσσόμενους οργανισμούς η ιστιδίνη αποτελεί απαραίτητο αμινοξύ λόγω της αυξημένης ανάγκης του για τη συνεχή δημιουργία νέων ιστών, για το λόγο αυτό τα δύο αυτά αμινοξέα χαρακτηρίζονται ως ημιαπαραίτητα. Έτσι ο άνθρωπος πρέπει να προσλαμβάνει αυτά τα απαραίτητα αμινοξέα μέσω της τροφής του. Υπάρχουν πρωτεΐνες που τα περιέχουν όλα αυτά τα απαραίτητα αμινοξέα και ονομάζονται πλήρεις πρωτεΐνες ή αλλιώς πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας. Μια ατελής πρωτεΐνη δεν διαθέτει ένα ή περισσότερα απαραίτητα αμινοξέα(Γεωργάτσος,2013).

Οι πλήρεις πηγές πρωτεΐνης είναι :

- Το γάλα
- Το γιαούρτι
- Το τυρί
- Τα αυγά
- Το κρέας
- Το ψάρι
- Τα όσπρια
- Οι ξηροί καρποί



Οι πρωτεΐνες ανευρίσκονται και στις φυτικές και στις ζωικές τροφές. Ωστόσο οι πρωτεΐνες των φυτικών τροφών είναι ατελείς καθώς δεν περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα. Παρόλα αυτά ο σωστός συνδυασμός φυτικών τροφών μπορεί να αναπληρώσει αυτά τα αμινοξέα και έτσι να έχουμε μια πλήρη πρωτεΐνη, η ιδιότητα αυτή βασίζεται στην συμπληρωματικότητα των πρωτεϊνών. Ωστόσο για να είναι υψηλής βιολογικής αξίας αυτές οι πρωτεΐνες πρέπει να καταναλώνονται την ίδια μέρα αν όχι στο ίδιο γεύμα αλλιώς χρησιμοποιούνται

για ενέργεια και όχι για τις βασικές τους διεργασίες. Η ενεργειακή απόδοση είναι ο τελευταίος τους ρόλος και για την ακρίβεια 1 γραμμάριο πρωτεΐνης αποδίδει 4 kcal θερμότητας. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ένας υγιείς ενήλικας πρέπει να καταναλώνει περίπου 0,8gr πρωτεΐνης ανά κιλό σωματικού βάρους καθημερινά. Τα βρέφη και τα παιδιά χρειάζονται από 2 ως 2,2 gr πρωτεΐνης ανά κιλό βάρους κάθε ημέρα για την ομαλή τους ανάπτυξη. Η άσκηση, η έμμηνος ρύση, η εγκυμοσύνη, η γαλουχία και η ανάρρωση από σοβαρές παθήσεις απαιτούν αυξημένη λήψη πρωτεϊνών. Ο μεταβολισμός των πρωτεϊνών περιλαμβάνει τον καταβολισμό εξωγενών και ενδογενών πρωτεϊνών. Ένα μέρος των αμινοξέων χρησιμοποιείται για παραγωγή ενέργειας με την ταυτόχρονη αποβολή στα ούρα και στα κόπρανα αζωτούχων ενώσεων (ισοζύγιο αζώτου) και τον αναβολισμό όπου από αμινοξέα εξωγενή ή ενδογενή παράγονται οι απαραίτητες για τον οργανισμό πρωτεΐνες. Η περίσσεια πρωτεϊνών με την διατροφή προκαλεί αύξηση της αποβολής αζώτου με τα ούρα(Γεωργάτσος,2013).

Βιολογική αξία των πρωτεϊνών

Η βιολογική αξία μιας πρωτεΐνης εξαρτάται από τα αμινοξέα που αυτή περιέχει. Η βέλτιστη απόδοση των ζώων (πρόσληψη τροφής, αύξηση βάρους) επιτυγχάνεται όταν η πρωτεΐνη που το τροφοδοτεί περιέχει μια ιδανική ποσότητα και αναλογία όλων των απαραίτητων αμινοξέων. Αυτή η πρωτεΐνη ονομάζεται "ιδανική πρωτεΐνη". Οι τροφές με βάση φυτικές πρωτεΐνες ή ζωικές πρωτεΐνες δείχνουν ότι η απόδοση των ζώων είναι σημαντικά καλύτερη όταν τροφοδοτούνται με ζωικές πρωτεΐνες. Αυτό σημαίνει ότι η ζωική πρωτεΐνη είναι πιο κοντά στην ιδανική πρωτεΐνη από ότι η φυτική πρωτεΐνη. Ωστόσο η προσθήκη μιας μικρής ποσότητας ενός συγκεκριμένου απαραίτητου αμινοξέος στη διατροφή των φυτικών πρωτεϊνών βελτιώνει τη βιολογική αξία της πρωτεΐνης που μετράται από την απόδοση των ζώων. Η αύξηση της συγκέντρωσης αυτού του αμινοξέος στη δίαιτα μπορεί να βελτιώσει περαιτέρω την απόδοση αλλά μόνο μέχρι ένα ορισμένο επίπεδο (Hoffman & Favio,2004). Έτσι λοιπόν η ποιότητα μιας πρωτεΐνης καθορίζεται:

- α) από την περιεκτικότητα της σε απαραίτητα αμινοξέα και
β) από την πεπτικότητα της πρωτεΐνης, το ποσοστό δηλαδή απορρόφησης της στον πεπτικό σωλήνα.

Για την αξιολόγηση της διατροφικής αξίας ή αλλιώς της ποιότητας της πρωτεΐνης έχουν προταθεί διάφοροι δείκτες, οι σημαντικότεροι εκ των οποίων είναι:

1) Χημικό σκόρ πρωτεΐνης, είναι μη βιολογική μέθοδος και στηρίζεται στην σύγκριση της υπό μελέτη πρωτεΐνης με την πρότυπη πρωτεΐνη όσον αφορά την περιεκτικότητα της σε αμινοξέα. Σαν πρότυπη πρωτεΐνη αναφέρεται συχνότερα η πρωτεΐνη του ασπραδιού του αυγού. Στην πράξη βρίσκονται τα χημικά σκορ για όλα τα απαραίτητα αμινοξέα και το μικρότερο αποτελεί και το χημικό σκορ της πρωτεΐνης. Επιπλέον είναι μεγάλη η μελέτη των θειούχων αμινοξέων (μεθειονίνης & κυστεΐνης) καθώς της λυσίνης και της τρυπτοφάνης (Met, Gys, Lys, Try) γιατί σε αυτά τα αμινοξέα είναι που παρατηρούνται οι συνηθέστερες ελλείψεις των πρωτεϊνών (Hoffman & Favlo, 2004).

Χημικό σκόρ αμινοξέος = (mgαμιν σε 1gr της υπό μελέτη πρωτεΐνης / mgαμιν σε 1gr πρότυπης πρωτεΐνης) * 100

2) Βιολογική αξία, είναι η βιολογική μέθοδος η οποία στηρίζεται σε μετρήσεις της προσλαμβανόμενης και αποβαλλόμενης πρωτεΐνης (ή N) σε πειραματόζωα (Hoffman & Favlo, 2004).

$$\text{Βιολογική Αξία} = \left(\frac{\text{άζωτο που κατακρατήθηκε} / \text{άζωτο που απορροφήθηκε}}{\text{}} \right) * 100$$

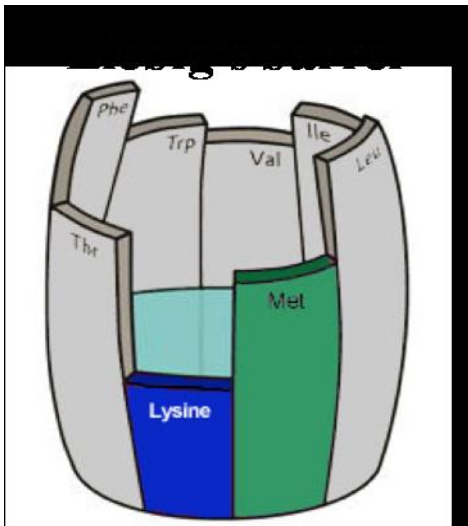
3) Αναβολική Ικανότητα Πρωτεΐνης

Αναβολική ικανότητα πρωτεΐνης = (άζωτο που κρατήθηκε / άζωτο που προσελήφθηκε) * 100

Ο δείκτης αναβολικής ικανότητας της πρωτεΐνης είναι ένας βιολογικός δείκτης ο οποίος μοιάζει με τον δείκτη της βιολογικής αξίας με την μόνη διαφορά ότι δεν

λαμβάνεται υπόψη η δυνατότητα προσρόφησης της πρωτεΐνης από τον οργανισμό (Hoffman & Favlo, 2004).

4) Πηλίο πρωτεϊνικής αποδοτικότητας, είναι ο πιο απλός βιολογικός δείκτης που μετριέται γρήγορα και εφαρμόζεται κυρίως από τις βιομηχανίες τροφίμων σε καταστάσεις ρουτίνας. Είναι ο δείκτης που θα πρέπει να αναγράφεται στην διατροφική ετικέτα στις συσκευασίες τροφίμων. Στηρίζεται στην μέτρηση της αύξησης του βάρους ενός πειραματόζωου από την πρόσληψη πρωτεΐνης (Hoffman & Favlo, 2004).



Πηλίο πρωτεϊνικής αποδοτικότητας = αύξηση βάρους (gr) / πρωτεϊνική πρόσληψη (gr)

5) Με βάση το βαρέλι του Liebig.

Το αμινοξύ που βρίσκεται στη μικρότερη ποσότητα (σε σχέση με τις ανάγκες του οργανισμού) ονομάζεται **περιοριστικό**

αμινοξύ της πρωτεΐνης, γιατί αυτό περιορίζει τη σύνθεση των πρωτεϊνών. Στο βαρέλι του Liebig κάθε σανίδα αντιπροσωπεύει ένα

απαραίτητο αμινοξύ. Το ύψος κάθε σανίδας αντιστοιχεί στην ποσότητα του αμινοξέος σε σχέση με την ανάγκη του οργανισμού (επάρκεια). Η χωρητικότητα του βαρελιού αντιπροσωπεύει την ικανότητα αξιοποίησης των απαραίτητων αμινοξέων του τροφίμου, δηλαδή τη δυνατότητα πρωτεϊνοσύνθεσης από τον οργανισμό. Η χωρητικότητα περιορίζεται από την πιο κοντή σανίδα (περιοριστικό αμινοξύ του τροφίμου).

Ακόμα έχουν αναπτυχθεί και εξελίσσονται νέες μέθοδοι που αποτελούν μικρότερο χρόνο διάρκειας μετρήσεων και με λιγότερο οικονομικό κόστος. Παράμετροι σημαντικοί για την βιομηχανία τροφίμων όπου ένας γρήγορος ποιοτικός έλεγχος

είναι απαραίτητος για την παρέμβαση στην παραγωγική διαδικασία και την βελτίωση του προϊόντος. Τέτοιες μέθοδοι είναι η καλλιέργεια του πρωτόζωου *tetrahymena* και συνδυασμός χημικού σκορ και πεπτικότητας.

Λειτουργίες των πρωτεϊνών

Εξίσου ενδιαφέρον είναι και ο διαχωρισμός των πρωτεϊνών που σχετίζεται με βάση την λειτουργικότητα τους, έτσι διαχωρίζονται σε (Γεωργάτσος, 2013):

- Ένζυμα, δρουν σαν καταλύτες των αντιδράσεων.
- Μεταφορικές πρωτεΐνες, δεσμεύουν και μεταφέρουν υποκαταστάτες.
- Συσταλτές πρωτεΐνες, μπορούν να συσταλούν και να αλλάξουν το σχήμα.
- Δομικές πρωτεΐνες, δρουν υποστηρικτικά στους τένοντες, χόνδρους κ.α.
- Αμυντικές πρωτεΐνες, δρουν προστατευτικά (αντισώματα, ινωδογόνο & θρομβίνη)
- Ρυθμιστικές πρωτεΐνες, δρουν ως ρυθμιστές μεταβολικών διαδικασιών, ορμονών, παραγόντων μεταγραφής κ.α.
- Υποδοχείς, δρουν ανιχνεύοντας ερεθίσματα όπως ινσουλίνη, ακετυλοχολίνη κ.α.



Κεφάλαιο 1

1.1 Βιοενεργά Πεπτίδια

Τα τρόφιμα που καταναλώνουμε καθημερινά περιέχουν ένα μεγάλο εύρος από θρεπτικά συστατικά τα οποία είναι απαραίτητα για τις ανάγκες του οργανισμού μας. Έτσι η πρόοδος της επιστήμης τροφίμων τα τελευταία χρόνια έχει ανακαλύψει κάποια βιοενεργά πεπτίδια και πρωτεΐνες στα τρόφιμα οι οποίες πέρα από την κάλυψη των διατροφικών μας αναγκών, έχει βρεθεί ότι έχουν και ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία μας. Τα βιοενεργά πεπτίδια είναι ενώσεις που παρουσιάζουν μια ευεργετική δράση επί των λειτουργιών ή των συνθηκών του σώματος και όχι τοξική, αλλεργιογόνο ή μεταλλαξογόνο δράση αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να μπορούν να επηρεάσουν θετικά την υγεία του ανθρώπου. Οι πρωτεΐνες που δρουν ξεκάθαρα με αυτό το μηχανισμό είναι οι ανοσοσφαιρίνες, η

λακτοφερίνη και ορισμένοι αυξητικοί παράγοντες. Ωστόσο, διαφέρουν ευρέως ως προς την σύνθεση των αμινοξέων, τη χημική τους δομή και ως εκ τούτου στη βιολογική τους λειτουργία. Αυτές οι ενώσεις έχουν συχνά σχέση με την μείωση της χοληστερόλης ακόμα έχουν αντιθρομβωτική, αντιοξειδωτική, αντιυπερτασική και αντιμικροβιακή δράση, γεγονός που τα καθιστούν ελκυστικά για εφαρμογή σε τρόφιμα και φαρμακευτικά προϊόντα (Korhonen & Pihlanto,2006).

Τα βιοενεργά πεπτίδια μπορεί να περιέχουν από τρία έως είκοσι διαφορετικά αμινοξέα. Αυτά μπορεί να είναι ελεύθερα ή κρυπτογραφημένα εντός της αλληλουχίας της πρωτεΐνης. Τα κρυπτογραφημένα πεπτίδια γίνονται ενεργά όταν απελευθερώνονται από την πρωτεϊνική αλληλουχία. Η απελευθέρωση αυτή πραγματοποιείται είτε με όξινη ή αλκαλική χημική υδρόλυση είτε με πρωτεολυτική δράση των μικροοργανισμών ή με ενζυμική υδρόλυση των πρωτεϊνών. Η τελευταία εμφανίζει μεγάλη βιομηχανική εφαρμογή τόσο σε τρόφιμα όσο και σε φαρμακευτικά σκευάσματα (Korhonen & Pihlanto,2006).

Κρυπτογραφημένα πεπτίδια μπορούν να βρεθούν σε ζωικά και φυτικά τρόφιμα, όπως το γάλα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα αυγά, τα ψάρια, τα στρείδια, τα δημητριακά, τη σόγια, στους σπόρους από ραπανάκι και από άλλες πλούσιες πηγές σε πρωτεΐνη. Τα αντιοξειδωτικά πεπτίδια μπορούν να εφαρμοστούν σε οξειδωτικές διαδικασίες προκειμένου να περιοριστεί ή και να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού και της κυτταρικής αναπνοής σε αερόβιους οργανισμούς. Οι ελεύθερες ρίζες όταν παράγονται σε περίσσεια και δεν εξαλείφονται μπορούν να επιτεθούν σε πλησιέστερα μόρια αφαιρώντας ηλεκτρόνια και ξεκινώντας μια αλυσιδωτή αντίδραση. Αυτές παίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανθρώπινη υγεία καθώς σχετίζονται με διαταραχές όπως η καρδιακή νόσος, η αθηροσκλήρωση, ο διαβήτης, ο καρκίνος και ορισμένες νευρολογικές ασθένειες. Τα αντιοξειδωτικά πεπτίδια έχουν παραχθεί με υδρόλυση διαφόρων υποστρωμάτων πρωτεϊνών όπως

πρωτεΐνες ψαριού, σόγιας και γαλακτοκομικών προϊόντων (Korhonen & Pihlanto, 2006).

1.2 Διατροφικές πηγές βιοενεργών πεπτιδίων

Η πιο πλούσια πηγή βιοενεργών πεπτιδίων φαίνεται να είναι το αγελαδινό γάλα, με πιο αντιπροσωπευτικά τα πεπτίδια που απελευθερώνονται από την α_{s1}-καζεΐνη και την β-καζεΐνη, το τυρί και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Το φαινόμενο αυτό πιθανόν να συμβαίνει επειδή το γάλα διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στη διατροφή των πρώτων μηνών των θηλαστικών. Έτσι λοιπόν η μητρική γλώσσα σε μεταβολικό επίπεδο φαίνεται να εκφράζεται μέσα από βιοενεργά συστατικά στο γάλα και το πρωτόγαλα. Οι πρωτεΐνες γάλακτος έχουν προσελκύσει όλο και περισσότερο ενδιαφέρον σχετικά με την βιοδαθεσιμότητα τους μετά την κατάποση. Η ενζυματική πέψη των γαλακτοκομικών προϊόντων δημιουργεί πολυάριθμα πεπτίδια, όπου το καθένα από αυτά έχει διαφορετική βιολογική δραστηριότητα. Τόσο το ανθρώπινο γάλα όσο και τα παρασκευάσματα για βρέφη που βασίζονται στο αγελαδινό γάλα είναι πιθανές πηγές βιοενεργών πεπτιδίων. Ακόμα ένα μεγάλο μέρος των επιστημονικών ερευνών που δείχνουν ότι οι δίαιτες που είναι πλούσιες σε δημητριακά και προϊόντα ολικής άλεσης σχετίζονται με την μείωση χρονίων νοσημάτων όπως είναι ο καρκίνος, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, η παχυσαρκία και ο διαβήτης (Park & Nam, 2015).

Ειδικότερα τα δημητριακά και τα όσπρια τα οποία καλλιεργούνται από αρχαιοτάτων χρόνων είναι τα κύρια συστατικά της μεσογειακής και ασιατικής διατροφής όπου συμβάλλουν σημαντικά στις καθημερινές απαιτήσεις για πρωτεΐνες. Έτσι τα βιοενεργά πεπτίδια που προέρχονται από δημητριακά και όσπρια επηρεάζουν ένα ευρύ φάσμα των φυσιολογικών αποτελεσμάτων in vitro αλλά και σε ζωικά μοντέλα (Malaguti et al, 2014). Από αγρονομική άποψη η

ποικιλία των περιβαλλοντικών συνθηκών επηρεάζει σημαντικά την βιοδραστικότητα του πεπτιδίου, γεγονός που υποδηλώνει ότι η συγκέντρωση τους στις καλλιέργειες και τελικά στα τρόφιμα μπορεί να βελτιωθεί με την βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάπτυξης. Ωστόσο η έλλειψη δεδομένων σχετικά με την βιοδιαθεσιμότητα του πεπτιδίου στους ανθρώπους δύσκολο να μεταφραστεί η γνώση που λαμβάνεται από in vitro φάση σε in vivo. Επιπλέον διαδικασίες όπως η πέψη μπορεί να τροποποιήσουν την δραστηριότητα του πεπτιδίου από ενεργό σε ανενεργό και αντίστροφα. Παρόλα αυτά γίνονται προσπάθειες για την επίλυση αυτών των προβλημάτων και αναμένεται στο μέλλον να μας δώσουν πιο ξεκάθαρα αποτελέσματα. Υπάρχουν όμως και άλλες πηγές βιοενεργών πεπτιδίων όπως το κρέας, τα αβγά, τα ψάρια, το καλαμπόκι και τα μανιτάρια (Ryan et al, 2011).

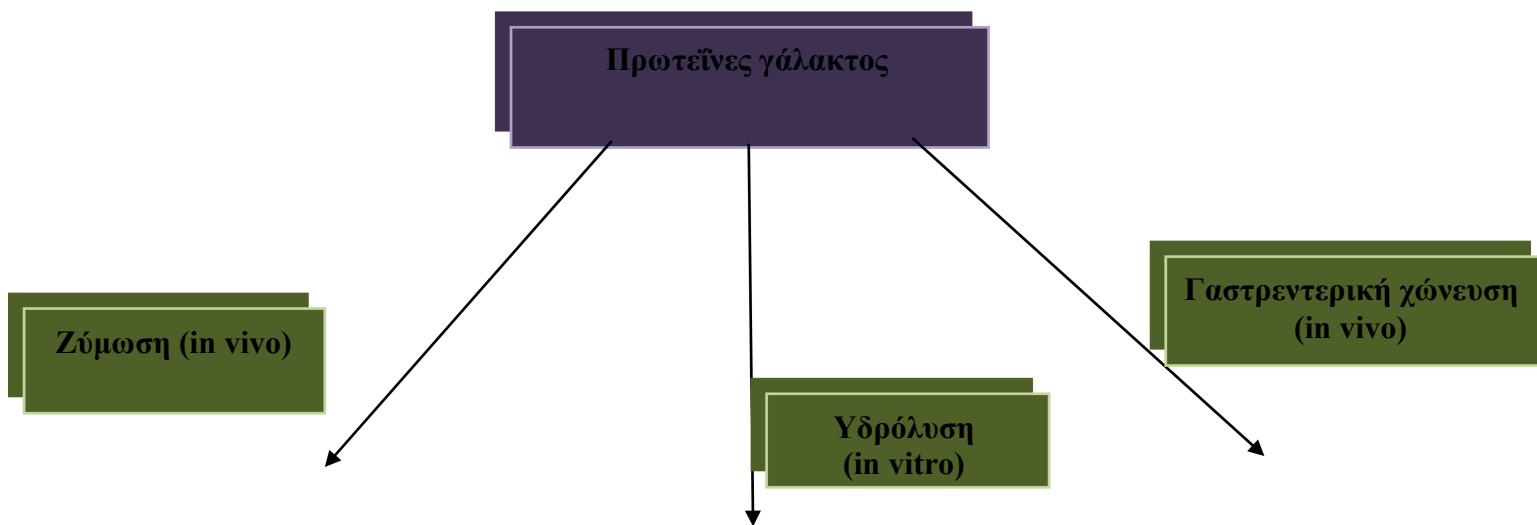
Κεφάλαιο 2

2.1 Απελευθέρωση βιοενεργών πεπτιδίων

Η παραγωγή των βιοενεργών πεπτιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω επεξεργασίας των τροφίμων, μικροβιακής ζύμωσης και γαστρεντερικής χώνευσης. Η τελευταία διεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί και με την βοήθεια ενός ενζύμου in vitro. Μια πρόκληση με την οποία έρχονται συχνά αντιμέτωποι οι ερευνητές είναι πώς να επεξεργαστούν τα προϊόντα υδρόλυσης των πρωτεϊνών προκειμένου να αποκτήσουν πεπτίδια υψηλής απόδοσης με ενισχυμένη βιοδραστικότητα. Τα πεπτίδια αυτά μπορούν να ταξινομηθούν σε ομάδες με βάση τα φυσικοχημικά και δομικά χαρακτηριστικά των ενδιαφερόμενων πεπτιδίων για την ενίσχυση της βιοδραστικότητάς τους. Οι ιδιότητες των πεπτιδίων στις οποίες οι ερευνητές δίνουν βάση είναι το μέγεθος, το καθαρό φορτίο και η υδροφοβία αυτών. Είναι πλέον αποδεκτό ότι τα δραστικά αυτά πεπτίδια παράγονται από αρκετές τροφικές πρωτεΐνες κατά τη διάρκεια της γαστρεντερικής πέψης και της

ζύμωσης των τροφίμων με βακτήρια γαλακτικού οξέος. Ο συνηθέστερος τρόπος παραγωγής βιοενεργών πεπτιδίων είναι μέσω της ενζυματικής υδρόλυσης ολόκληρων των μορίων πρωτεΐνης (Korhonen & Pihlanto, 2006).

Σχημ. 1 Πιθανοί μηχανισμοί απελευθέρωσης βιοενεργών πεπτιδίων από τις διαιτητικές πρωτεΐνες του γάλακτος.



(Κρυπτογραφημένα Βιοενεργά Πεπτίδια)

2.2 Γαστρεντερική χώνευση

Τα βιοενεργά πεπτίδια μπορούν να απελευθερωθούν *in vivo* κατά τη διάρκεια της γαστρεντερικής χώνευσης με τη δράση πεπτικών ενζύμων όπως είναι πεψίνη, θρυψίνη ή χυμοθρυψίνη. Οι διαιτητικές πρωτεΐνες υφίστανται μεταουσίωση υπό την παρουσία υδροχλωρικού οξέος (HCl) που εκκρίνεται από το κυτταρικό τοίχωμα του στομάχου. Αυτό το οξύ ενεργοποιεί το πεψινογόνο και το μετατρέπει στην ενεργό μορφή του που είναι η πεψίνη. Η πεψίνη δρα ενάντια των πρωτεϊνών προκειμένου να διασπαστούν σε αμινοξέα. Η γαστρεντερική πέψη

επιτρέπει την επακόλουθη δράση των ενζύμων που υπάρχουν στο λεπτό έντερο, όπως πεψίνη, θρυψίνη ή χυμοθρυψίνη, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την υδρόλυση των πρωτεϊνών. Πολλά από τα γνωστά ευεργετικά πεπτιδία έχουν παραχθεί χρησιμοποιώντας γαστρεντερικά ένζυμα όπως είναι η πεψίνη και θρυψίνη. Έτσι, πεπτιδία αναστολής του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE) και φωσφοπεπτιδία σύνδεσης ασβεστίου (CPPs) παράγονται συνήθως από τη θρυψίνη. Ακόμα, πρόσφατα ανακαλύφθηκαν πεπτιδία αναστολής του ACE στα προϊόντα υδρόλυσης της β2-καζεΐνης των βοοειδών, αιγοπροβάτων και στων αιγών Κ-καζεϊνικάμακροπεπτιδία. Άλλα πεπτικά ένζυμα και διαφορετικοί συνδυασμοί ενζύμων των πρωτεϊνών, περιλαμβανομένης της αλκαλάσης, της χυμοθρυψίνης, της παγκρεατίνης, της πεψίνης και της θερμολυσίνης καθώς και ένζυμα από βακτηριακές και μυκητιακές πηγές έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την δημιουργία βιοενεργών πεπτιδίων από διάφορες πρωτεΐνες. Εκτός από την παραγωγή πεπτιδίων από φυσικές πρωτεϊνικές πηγές με πρωτεολυτικά ένζυμα, οι τεχνικές του ανασυνδιασμένου DNA έχουν πειραματιστεί για την παραγωγή ειδικών πεπτιδίων ή των πρόδρομων τους ουσιών σε μικροοργανισμούς. Κατάφερε λοιπόν να εκφράσει την ανασυνδυασμένη ανθρώπινη α_s1-καζεΐνη στο βακτήριο *Escherichiacoli* και στη συνέχεια να την απομονώσει. Η πέψη αυτής της πρωτεΐνης με θρυψίνη βρέθηκε ότι περιέχει αρκετά ανασταλτικά πεπτιδία ACE (Korhonen & Pihlanto,2006).

2.3 Μικροβιακή ζύμωση

Αρκετά βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB) (π.χ. *Lactis Lactococcus* , *Lactobacillushelveticus*) έχουν αναφερθεί για την απελευθέρωση βιοδραστικών πεπτιδίων από τη διαδικασία της ζύμωσης. Το σύστημα αυτό αποτελείται από έναν αριθμό διακριτών ενδοκυτταρικών πεπτιδασών συμπεριλαμβανομένων των ενδο-πεπτιδασών, αμινο-πεπτιδασών, δι-πεπτιδασών και τρι-πεπτιδασών. Πρόσφατες μελέτες έχουν εξετάσει την παραγωγή διαφόρων βιοδραστικών πεπτιδίων συμπεριλαμβανομένων αντιμικροβιακών, ανοσορυθμιστικών, αντιοξειδωτικών και ανοσοκατασταλτικών μέσω μικροβιακής

πρωτεόλυσης. Η απελευθέρωση των βιοδραστικών πεπτιδίων με ζύμωση του γάλακτος με τη χρήση διαφορετικών πρωτεολυτικών μικροοργανισμών ή πρωτεολυτικών ενζύμων που προέρχονται από τέτοιους μικροοργανισμούς φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

Μικροοργανισμοί	Πρόδρομη πρωτεΐνη	Πεπτιδική ακολουθία	Βιοενεργότητα
<i>L. rhamnosus</i> + digestion with pepsin	β-cn	Asp-Lys-Ile- His-Pro-Phe, Tyr-Gln-Glu- Pro- Val-Leu	ACE inhibitory
<i>Lactobacillus helveticus</i>	β-cn, κ-cn	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro	ACE inhibitory, antihypertensive
<i>Lactobacillus GG</i> enzymes + pepsin and trypsin	β-cn, as1-cn	Tyr-Pro-Phe- Pro, Ala-Val- Pro-Tyr-Pro- GlnArg, Thr- Thr-Met-Pro- Leu-Trp	Opioid, ACE- inhibitory, immune- stimulatory
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp., <i>bulgaricus</i> IFO13953	κ-cn	Ala-Arg-His- Pro-His-Pro- His-Leu-Ser- Phe-met	Antioxidative
<i>Kluyveromyces marxianus</i> var.	β-ig	Tyr-Leu- Leu-Phe	ACE-inhibitory
<i>Lactobacillus helveticus</i> CP90 proteinase	β-cn	Lys-Val- Leu-Pro- Val-Pro- (Glu)	ACE-inhibitory

Τα τελευταία έτη έχει σημειωθεί ταχεία πρόοδος για την αποσαφήνιση των βιοχημικών και των γενετικών βιολογικών παραγόντων χαρακτηρισμού αυτών των ενζύμων. Το γεγονός ότι η δραστηριότητα των πεπτιδίων επηρεάζεται από τις συνθήκες ανάπτυξης, καθιστά δυνατή τη χειραγώγηση του σχηματισμού πεπτιδίων σε ορισμένο βαθμό, έτσι δίνει μια λίστα με πειραματικές μελέτες για την απελευθέρωση βιοδραστικών πεπτιδίων κατά τη ζύμωση του γάλακτος χρησιμοποιώντας διαφορετικούς ζωντανούς πρωτεολυτικούς μικροοργανισμούς ή πρωτεολυτικά ένζυμα . Πολλά πρόσφατα άρθρα και κεφάλαια βιβλίων έχουν ανασκοπήσει την απελευθέρωση διαφόρων βιοδραστικών πεπτιδίων από πρωτεΐνες του γάλακτος μέσω μικροβιακής πρωτεόλυσης. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες αναφέρουν την παραγωγή αναστολέων ACE ή αντιυπερτασικών πεπτιδίων, ενώ επίσης εντοπίστηκαν ανοσοτροποποιητικά, αντιοξειδωτικά και αντιμικροβιακά πεπτιδία. Το *helveticus* χρησιμοποιείται ευρέως ως γαλακτοκομικός εκκινητής για την παρασκευή παραδοσιακών γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως το τυρί Emmental. Τα στελέχη *helveticus* είναι ικανά να απελευθερώνουν πεπτιδία αναστολής ACE όπου έχουν αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες. Τα πλέον γνωστά πεπτιδία αναστολής ACE, Val-Pro-Pro (VPP) και Ile-Pro-Pro (IPP), έχουν ταυτοποιηθεί σε γάλα που έχει υποστεί ζύμωση με *Lb*. Τα στελέχη του *Helveticus* μελετήσαν το δυναμικό σχηματισμό πεπτιδίων αναστολής του ACE από το τυρόγαλα και καζεΐνες κατά τη ζύμωση με διάφορους εμπορικούς εκκινητές γαλακτοκομικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή γιαουρτιού, πετρελαίου και ξινόγαλα. Δεν υπάρχει ανασταλτικός παράγοντας ACE και έτσι παρατηρήθηκε δραστηριότητα σε αυτά τα προϊόντα υδρολύσεως. Η περαιτέρω πέψη των ανωτέρω δειγμάτων με πεψίνη και τρυψίνη είχε σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση αρκετών ισχυρών ανασταλτικών ACE όπου είναι πεπτιδία προερχόμενα κυρίως από α 1-καζεΐνη και β -καζεΐνη (Korhonen & Pihlanto,2006).

2.4 Επεξεργασία τροφίμων

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος για να παραχθούν βιοδραστικά πεπτίδια από το γάλα είναι μέσω ενζυματικής υδρόλυσης του συνόλου των μορίων πρωτεΐνης. Ο συνδυασμός πεπτικών ενζύμων και των διαφορετικών πρωτεϊνών συμπεριλαμβανομένων Alcalase, χυμοθρυψίνη, πεψίνη και θερμολυσίνη, καθώς και ένζυμα από βακτηριακές και μυκητιακές πηγές έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία βιοδραστικών πεπτιδίων από διάφορες πρωτεΐνες (Korhonen & Pihlanto, 2006).

Κεφάλαιο 3

3.1 Απορρόφηση Βιοενεργών Πεπτιδίων

Τα in vivo αποτελέσματα οποιουδήποτε παράγοντα προαγωγής υγείας στα τρόφιμα εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητά τους. Μετά την κατανάλωση, πρέπει να εμφανιστούν στο αίμα σε σημαντικό βαθμό ώστε να φθάσουν στις θέσεις στόχους και στη συνέχεια στο γαστρεντερικό σωλήνα. Η βιοδιαθεσιμότητα εξαρτάται από πολλές μεταβλητές, όπως είναι η γαστρική πέψη, ο μεταβολισμός από την εντερική μικροχλωρίδα, η απορρόφηση και οι αλληλεπιδράσεις με την εντερική βλέννα, το επιθήλιο, την κινητικότητα του πλάσματος, την φύση των κυκλοφορούντων μεταβολιτών, την κυτταρική πρόσληψη και τον μεταβολισμό. Μια πολύπλοκη ενζυμική διαδικασία εμπλέκεται στην υδρόλυση των πρωτεϊνών και στην ανθρώπινη γαστρεντερική οδό διότι τα ένζυμα βρίσκονται σε διάφορα σημεία και γενικά δρουν με συνεργατικό τρόπο με άλλες πεπτιδάσες. Η γαστρική πέψη στο στομάχι ξεκινά με τη δράση της πεψίνης και ακολουθείται στη συνέχεια από την ενδοαυλική πέψη στο λεπτό έντερο, όπου τα πολυπεπτίδια διασπώνται περαιτέρω από τις παγκρεατικές πρωτεάσες, όπως η τρυψίνη, η χυμοθρυψίνη, η ελαστάση και η καρβοξυπεπτιδάση (Perez-Espitia et al, 2012). Επιπλέον, οι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στο κόλον παράγουν μεγάλους αριθμούς ενζύμων πεπτιδάσης τα οποία επίσης συμμετέχουν στην πρωτεϊνική

πέψη. Το λεπτό έντερο είναι η κύρια θέση απορρόφησης. Μετά την απορρόφηση στην κυκλοφορία του αίματος τα πεπτίδια εκτίθενται σε πεπτιδάσες ορού οι οποίες μπορούν περαιτέρω να υδρολύσουν τους πεπτιδικούς δεσμούς. Ωστόσο, τα πεπτίδια που δρουν στον γαστρεντερικό σωλήνα, για παράδειγμα τα δεσμευτικά της χοληστερόλης και τα ανορεκτικά πεπτίδια, δεν χρειάζεται να απορροφηθούν για να ασκήσουν τις βιολογικές τους ιδιότητες.

Δεδομένου ότι οι μελέτες σε ανθρώπους είναι χρονοβόρες, δαπανηρές και περιορισμένες από ηθικές ανησυχίες, η ανάπτυξη *in vitro* μοντέλων για τη διερεύνηση των επιπτώσεων της πέψης στα βιοδραστικά πεπτίδια έχει προσελκύσει μεγάλη προσοχή. Μια πληθώρα μοντέλων έχουν εφαρμοστεί για να προσομοιώνουν τη γαστρεντερική πέψη, τα πιο τυπικά μοντέλα προσομοιώνουν την πέψη στην στοματική κοιλότητα, το στομάχι και το λεπτό έντερο.

Υπάρχει σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των συνθηκών, όπως ο χρόνος της πέψης, η ανάδευση, τα ένζυμα και οι συγκεντρώσεις των αλάτων και των χολικών οξέων που χρησιμοποιούνται. Επιπλέον, υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην ένταση διαφόρων σταδίων πέψης και κατά πόσον οι επιλεγμένες συνθήκες είναι στατικές με σταθερές συγκεντρώσεις ενζύμων και χολικών οξέων ή δυναμικές με ποικίλες συγκεντρώσεις αυτών των συστατικών.

Για παράδειγμα, ανθρώπινα πεπτικά υγρά έχουν χρησιμοποιηθεί για να υποδείξουν την πέψη *in vitro* και εν τω μεταξύ αρκετές αναφορές αφορούσαν την εφαρμογή μιγμάτων ενζύμων χοίρων. Η ποικιλομορφία των συνθηκών του μοντέλου έχει παρεμποδίσει τη δυνατότητα σύγκρισης των αποτελεσμάτων στις διάφορες μελέτες. Επομένως, μια συναίνεση σχετικά με τις βασικές παραμέτρους θα ήταν σημαντική προκειμένου να εναρμονιστούν τα διάφορα μοντέλα χώνευσης *in vitro*. Πρόσφατα, μοντέλα *in vitro* για μελέτη της πέψης δευτερογενών μεταβολιτών φυτών (όπως οι πολυφαινόλες) εξετάστηκαν από τον Almingeret (Perez-Espitia et al, 2012).

Ένα σύνολο παραμέτρων για στατικά *in vitro* μοντέλα προτάθηκε με βάση τα σχετικά δεδομένα *in vivo*. Μέχρι στιγμής, μια τέτοια εναρμόνιση των παραμέτρων που βασίζονται σε δεδομένα *in vivo* δεν έχει αναφερθεί για τη μοντελοποίηση της βιοδιαθεσιμότητας των πεπτιδίων. Γενικά, μικρά πεπτίδια - διπεπτίδια και τριπεπτίδια - έχουν δείξει *in vivo* βιοδραστικότητα και αντοχή στην πεπτιδολύση και μπορούν να απορροφηθούν άθικτα στο έντερο σε επαρκείς ποσότητες για να φθάσουν σε περιφερειακές θέσεις στόχους. Μικρότερα πεπτίδια μεταφέρονται διαμέσου των εντεροκυττάρων διαμέσου των πεπτιδικών μεταφορέων που εκφράζονται εντερικά, ενώ τα ολιγοπεπτίδια μπορούν να απορροφηθούν με παθητική μεταφορά μέσω υδρόφοβων περιοχών επιθηλιακών μεμβρανών ή στενών διακλαδώσεων.

Η ανάγκη για τεχνολογικά εργαλεία για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας ενισχύεται και εστιάζεται στη βελτίωση των πεπτιδίων περιορισμένης σταθερότητας και απορρόφησης. Τα βιοδραστικά πεπτίδια μπορούν να χορηγηθούν σε διαφορετικές μήτρες οχημάτων, όπως ποτά και προϊόντα αρτοποιίας. Η τρέχουσα βιβλιογραφία περιλαμβάνει πολλές στρατηγικές για την ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών ενώσεων: για παράδειγμα μικροενθυλάκωση για ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών ενώσεων, σταθεροποίηση των δραστικών μορίων για βελτίωση της αντοχής έναντι αποικοδόμησης και ανάπτυξη πεπτιδικών αναλόγων με αυξημένη σταθερότητα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των τριπεπτιδίων Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro και Leu-Pro-Pro και οι φορείς που αλληλεπιδρούν με το πεπτιδικό μόριο έχουν διεκρινιστεί ότι διευκολύνουν Εντερική πρόσληψη. Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχει βρεθεί γενική στρατηγική για τη βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας των αντιυπερτασικών πεπτιδίων και κάθε περίπτωση πρέπει να μελετηθεί ξεχωριστά ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των πεπτιδίων που μας ενδιαφέρουν (Perez-Espitia et al, 2012).

Κεφάλαιο 4

Δράσεις βιοενεργών πεπτιδίων



4.1 Οπιοειδή πεπτίδια

Σύμφωνα με τους ερευνητές (Rutherford & Markwick, 2012), τα πεπτίδια τα οποία υπάρχουν στα γαλακτοκομικά προϊόντα παίζουν ένα ενεργό ρόλο στο νευρικό σύστημα. Είναι γνωστά λοιπόν ως οπιοειδή πεπτίδια. Τα οπιοειδή πεπτίδια είναι επίσης που έχουν όμοια φαρμακολογική ομοιότητα με το όπιο δηλαδή την μορφίνη.

Τα οπιοειδή πεπτίδια είναι σύντομες αλληλουχίες αμινοξέων που μιμούνται την επίδραση των οπιούχων στον εγκέφαλο. Τα πεπτίδια αυτά ορίζονται επίσης ως πεπτίδια όπως είναι οι εγκεφαλίνες που έχουν τόση συγγένεια με τους υποδοχείς των οπιούχων όσο και με τα οπιούχα αποτελέσματα που αναστέλλονται από την ναλοξόνη. Όλα τα τυπικά οπιοειδή πεπτίδια προέρχονται από τρεις πρόδρομες πρωτεΐνες όπως είναι η προοπιομελανοκορτίνη (ενδορφίνες), η προκενσεφαλίνη (εγκεφαλίνη) και η προδυναρφίνη (δινορφίνες). Τα πεπτίδια αυτά μπορούν να παραχθούν από το ίδιο το σώμα, για παράδειγμα από τις ενδορφίνες ή να απορροφηθούν μερικώς από αφομοιωμένα τρόφιμα. Η επίδραση αυτών των πεπτιδίων ποικίλλει, αλλά όλα αυτά τα πεπτίδια μοιάζουν με τα οπιούχα. Τα οπιοειδή πεπτίδια των τροφίμων έχουν τυπικά μήκος 4-8 αμινοξέα. Ακόμα τα πεπτίδια αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του εγκεφάλου διότι συμβάλλουν στο κίνητρο, το συναίσθημα, τη συνημμένη συμπεριφορά, το άγχος, τον πόνο και τον έλεγχο της πρόσληψης τροφής. Το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει τρία ομόλογα γονίδια που είναι γνωστό ότι κωδικοποιούν τα ενδογενή οπιοειδή πεπτίδια. Κάθε γονίδιο κωδικοποιεί μια μεγάλη πρωτεΐνη που μπορεί να υποβληθεί σε επεξεργασία και να δώσει μικρότερα πεπτίδια που έχουν όμοια δράση με τα οπιούχα πεπτίδια.

Όλα αυτά τα τυπικά οπιοειδή πεπτίδια έχουν την ίδια N-τελική αλληλουχία, δηλ. Tyr-Gly-Gly-Phe. Τα πεπτίδια αυτά ασκούν τη δραστηριότητα τους με δέσμευση σε ειδικούς υποδοχείς του κυττάρου στόχου. Οι μεμονωμένοι υποδοχείς είναι υπεύθυνοι για συγκεκριμένες φυσιολογικές επιδράσεις για παράδειγμα τον υποδοχέα m για την συναισθηματική συμπεριφορά και την καταστολή της εντερικής κινητικότητας ενώ ο s-υποδοχέας για συναισθηματική συμπεριφορά και τον υποδοχέα k για καταστολή και πρόσληψη τροφής. Τα οπιοειδή πεπτίδια που

προέρχονται από μια ποικιλία πρόδρομων πρωτεϊνών καλούνται "τυπικά" οπιοειδή πεπτίδια διότι φέρουν διάφορες αλληλουχίες αμινοξέων στις N-τελικές τους περιοχές ενώ διατηρείται μόνο η N-τερματική τυροσίνη.

Η N-τελική αλληλουχία των άτυπων οπιοειδών πεπτιδίων είναι Tyr-X-Phe ή Tyr-X1-X2 Phe. Το υπόλειμμα τυροσίνης στο N-τερματικό άκρο και η παρουσία ενός άλλου αρωματικού αμινοξέος στην τρίτη ή τέταρτη θέση είναι ένα σημαντικό δομικό μοτίβο που ταιριάζει στη θέση σύνδεσης των οπιοειδών υποδοχών.

Τα πρώτα μελετημένα οπιοειδή πεπτίδια που προέκυψαν από την τροφή ήταν οι β-καζομορφίνες. Οι ιδιότητες των οπιοειδών αυτών έχουν αποδειχθεί για την β-καζεΐνη f60-f70 καθώς και για θραύσματα αυτής. Η μορφισεπτίνη, η οποία είναι ένα αμιδικό παράγωγο της β-καζομορφίνης-4, είναι ένας πολύ εξειδικευμένος αγωνιστής οπιοειδούς για τους αμφοτέρους υποδοχείς m σε ειλεό ινδικού χοιριδίου και θέσεις δέσμωσης μορφίνης σε εγκέφαλο αρουραίου. Άλλες β-καζομορφίνες έχουν επίσης χαρακτηριστεί ως m προσδέματα. Οι β-καζομορφίνες βρέθηκαν επίσης σε ανάλογες θέσεις σε πρόβατα, νεροβούβαλους καθώς και στην ανθρώπινη καζεΐνη. Άλλα πεπτίδια αγωνιστών οπιοειδών του γάλακτος είναι οι εξορφίνες προερχόμενες από την α-καζεΐνη, που αντιστοιχούν σε α-1 καζεΐνη f90-f96 βοοειδούς. Αυτές οι α-καζεϊνικές εξορφίνες είναι επιλεκτικοί συνδετικοί υποδοχείς και μπορούν να διαχωριστούν από το υδρολυμένη πεψίνη της α-καζεΐνης. Όλα τα θραύσματα β-καζεΐνης βοοειδών που έχουν δράση οπιοειδών κατατάσσονται σε αs-καζοξίνες (k-καζεΐνη f33-f39, f25-f34) καθώς επίσης και σε θραύσματα γαλακτοφερρίνης που ονομάζονται γαλακτοφεροξίνη και συμπεριφέρονται ως ανταγωνιστές οπιοειδών. Η ανταγωνιστική δράση της καζοξίνης (k-καζεΐνη f33-f38) ήταν χαμηλότερη από αυτή της ναλοξόνης και μπορεί να θεωρηθεί ως εκλεκτικός υποδοχής m και k με χαμηλή συγγένεια.

Τα οπιοειδή πεπτίδια από βόειες καζεΐνες μπορούν να ληφθούν με ενζυματική υδρόλυση *in vitro*. Οι πρόδρομες ουσίες των β-καζομορφινών έχουν επίσης ταυτοποιηθεί σε τυρί τύπου παρμεζάνας. Οι Β-καλομορφίνες έχουν ανιχνευθεί

στον ειλεό του δωδεκαδακτύλου των μίνι χοίρων και στο λεπτό έντερο του ανθρώπου ως συνέπεια της ινίνο γαστρεντερικής χώνευσης.

Οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος περιέχουν αλληλουχίες παρόμοιες με των οπιοειδών στην αρχική τους δομή, συγκεκριμένα α-λακταλβουμίνη τόσο των βοοειδών όσο και των ανθρώπων f50-f53 και η β-γαλακτοσφαιρίνη των βοοειδών f102-f105. Αυτά τα πεπτίδια ονομάστηκαν α-λακτριφίνες και β-λακτριφίνες. Η λευκωματίνη ορού f399-f404 των βοοειδών έχει επίσης δραστικότητα οπιοειδούς. Οι α- και β-λακτριφίνες μπορούν να απελευθερωθούν από την μητρική πρωτεΐνη χρησιμοποιώντας *in vitro* πρωτεόλυση και μέσω διαφορετικών πρωτεολυτικών ενζύμων. Η α-λακερρίνη ασκεί μια ασθενή αλλά σταθερή οπιοειδή ιδιότητα στον λείο μυ ενώ η β-λακτριφίνη παρά την παρόμοια συγγένεια δέσμευσης του υποδοχέα, ασκεί μια προφανώς μη οπιοειδή διεγερτική δράση στον ειλεό ινδικού χοιριδίου. Οι α- και β-λακτριφίνες είναι μέσα σύνδεσης του υποδοχέα m. Τα οπιούχα πεπτίδια που προέρχονται από πρωτεΐνη ορού γάλακτος (β-λακτροφίνη και α-λακερίνη) έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν μετρίως την ενεργότητα του ACE. Τα οπιούχα πεπτίδια που προέρχονται από πρωτεΐνες του ορού γάλακτος (β-λακτροφίνη & α-λακτορφίνη) έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν μετρίως την ενεργότητα του ACE. Το N-τερματικό διπεπτίδιο (tyr-leu) της β-λακτροφίνης βρέθηκε ότι είναι ο ισχυρότερος αναστολέας. Η σχέση δομής-δραστικότητας αναστολέων πεπτιδίων ACE δεν έχει ακόμη αποδειχθεί, επειδή έχει παρατηρηθεί ότι μεγάλη ποικιλία πεπτιδίων με διαφορετική C-τελική αλληλουχία αμινοξέων μπορεί να χρησιμεύσει ως υποστρώματα. Οι συσχετίσεις δραστικότητας και δομής μεταξύ διαφορετικών πεπτιδικών αναστολέων του ACE υποδεικνύουν ότι η δέσμευση ACE επηρεάζεται έντονα από την C-τελική τριπεπτιδική αλληλουχία του υποστρώματος. Έχει αναφερθεί ότι πεπτίδια που περιέχουν υδρόφοβα αμινοξέα σε αυτές τις θέσεις είναι ισχυροί αναστολείς.

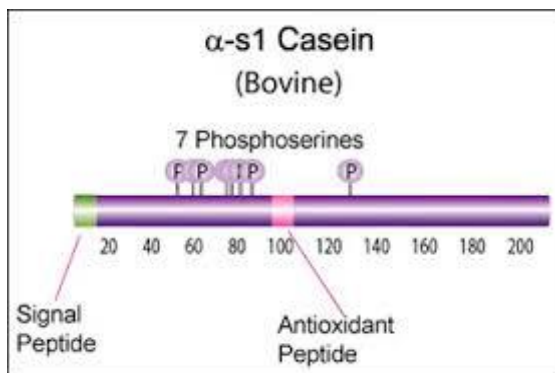
Οι πλευρικές αλυσίδες αυτών των αμινοξέων θεωρούνται ότι αλληλεπιδρούν με τις υπομονάδες στην ενεργό θέση του ACE. Σε μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την αναστολή ACE από διαφορετικές δομές, βρέθηκε ότι η C-τελική τρυπτοφάνη,

τυροσίνη, φαινυλαλανίνη και υπόλειμμα το προλίνης ήταν οι πλέον αποτελεσματικές. Μετά την απομόνωση των πεπτιδικών αναστολέων από το δηλητήριο φιδιού συνειδητοποιήθηκε ότι η C-τερματική προλίνη μπορεί να δεσμεύεται εξαιρετικά καλά με το ACE και να μπορεί τελικά να παρέχει καλά υποστρώματα ή αναστολείς ανάλογα με τα άλλα χαρακτηριστικά της αλληλουχίας. Τα υπολείμματα προλίνης αναφέρθηκαν επίσης ως ενισχυτικοί παράγοντες των ανασταλτικών πεπτιδίων ACE από πρωτεΐνες τροφίμων. Επιπλέον, το θετικό φορτίο όπως στην ομάδα της γουανιδίνης του C-τερματικού Arg συνεισφέρει στην ανασταλτική δραστηριότητα ACE αρκετών πεπτιδίων, υποδεικνύοντας ότι η θέση σύνδεσης μπορεί να είναι διαφορετική από την καταλυτική θέση στον ACE. Χρησιμοποιώντας το μοριακό αυτό μοντέλο έχει αποδειχθεί ότι τα ανασταλτικά πεπτίδια διαθέτουν ένα χαρακτηριστικό πρότυπο διαφορετικό από αυτό των αδρανών μορίων, έτσι το θετικό ενδεχόμενο βρίσκεται σχεδόν πάντα στην ίδια περιοχή στο C-τερματικό.

Τα πεπτίδια λακτορφίνης είναι συνδεδεμένα στον υποδοχέα m όπου παρατηρείται χαμηλή συγγένεια για τους υποδοχείς των οπιοειδών. Η α-λακτορφίνη έχει αποδειχθεί ότι ασκεί μια αδύναμη οπιοειδή δραστηριότητα στην εξομάλυνση των μυών ενώ η β-λακτορφίνη έχει αποδειχθεί ότι έχει σαν αποτέλεσμα την συστολή του λείου μυός. Πρόσφατα, η β-λακτορφίνη έχει δείξει ότι βελτιώνει την αρτηριακή λειτουργία στο SHR. Ιδιαίτερα, η β-λακτορφίνη βελτίωσε την αγγειακή χαλάρωση σε ενήλικα SHR in vitro και επιπλέον ενίσχυσε την χαλάρωση. Ανταγωνιστές οπιοειδών έχουν βρεθεί στα βοοειδή, στην ανθρώπινη κ-καζεΐνη (καζοξίνες) και στην ανθρώπινη αs1-καζεΐνη. Επιπλέον, ο ανταγωνιστής οπιοειδών λακτοφεροξίνη έχει βρεθεί στην ανθρώπινη γαλακτοφερίνη. Τα οπιοειδή πεπτίδια που προέρχονται από πρωτεΐνες γάλακτος φαίνεται να έχουν σημαντική σημασία στον θηλυκό οργανισμό (απελευθέρωση καζομορφίνης στο μαστικό αδένα) και στα νεογνά. Η χρήση από του στόματος οπιοειδών πεπτιδίων μπορούν να ρυθμίζουν τις διεργασίες απορρόφησης στο έντερο και να επηρεάζουν τη γαστρεντερική λειτουργία με δύο τρόπους, αρχικά επηρεάζοντας

τους μυς και τελικά επηρεάζοντας την εντερική μεταφορά των ηλεκτρολυτών, γεγονός που εξηγεί τις αντι-εκκριτικές τους ιδιότητες. Η ενίσχυση της απορρόφησης καθαρού νερού και ηλεκτρολύτη από β-καζομορφίνες στο λεπτό και παχύ έντερο αποτελεί βασικό συστατικό της αντιδιαρροϊκής δράσης τους. Αυτή η επίδραση θα μπορούσε να μεσολαβήσει μέσω υποεπιθηλιακών υποδοχέων οπιοειδών ή ειδικών θέσεων δέσμησης στην επιφάνεια των μεμβρανών (Korhonen & Pihlanto ,2006).

Οι β-καζομορφίνες ισχυρίζεται ότι υποβαθμίζονται γρήγορα όταν εισέλθουν στη ροή του αίματος. Ωστόσο, τα οπιοειδή πεπτίδια που προέρχονται από β-καζεΐνη ή οι πρόδρομες ουσίες αυτών έχουν ανιχνευθεί στο δωδεκαδακτυλικό ειλεό των μικρών χοίρων, στο πλάσμα των νεογέννητων μοσχαριών και στο λεπτό



έντερο του ανθρώπου κατά την από του στόματος χορήγηση καζεΐνης ή γάλακτος. Καζεΐνικά οπιούχα θραύσματα στο πλάσμα των ενήλικων θηλαστικών δεν έχουν ανιχνευθεί. Ως εκ τούτου, προτείνεται ότι μόνο στο έντερο του νεογέννητου είναι διαπερατές οι

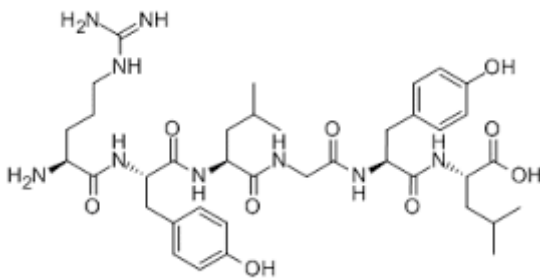
καζομορφίνες γι' αυτό και τα μωρά μπορεί να είναι ήρεμα και να εμφανίζουν υπνηλία στο πρώτο βρεφικό στάδιο της ζωής τους.

4.2 Ανοσορυθμιστικά πεπτίδια

Τα ανοσορυθμιστικά πεπτίδια έχουν ανιχνευθεί τόσο στις ανθρώπινες όσο και στις πρωτεΐνες γάλακτος αγελάδας. Από τα προϊόντα πέψης των ανθρώπινων πρωτεϊνών γάλακτος, βρέθηκαν δύο πεπτίδια η β-καζεΐνη f54-f59 και η α-λακταλβουμίνη f51-f53 τα οποία ενισχύουν τη φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων και την αντοχή έναντι ορισμένων βακτηρίων. Επιπλέον μεταξύ αυτών των πεπτιδίων που απομονώθηκαν από τις βόειες καζεΐνες, η β-καζεΐνη f191-f193 και το C-τελικό εξαπεπτίδιο της αs1-καζεΐνης (f194-f199) διεγείρει τα

μακροφάγα. Η β-καζεΐνη f63-f68 διεγείρει την *in vitro* φαγοκυττάρωση, αλλά αυτό το πεπτίδιο καθώς και η β-καζεΐνη f191-f193 απέτυχε να ασκήσει προστασία των ποντικών *in vivo*. Ο φυσιολογικός τρόπος δράσης δεν είναι γνωστός, αλλά φαίνεται ότι μπορεί να διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και την ωρίμανση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα συνθετικά πεπτίδια που προέρχονται από πρωτεΐνες γάλακτος έχει αποδειχθεί ότι ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Αυτά τα πεπτίδια είχαν αυτές τις ακολουθίες, Tyr-Gly και Tyr-Gly-Gly και αντιστοιχούν σε θραύσματα β-καζεΐνης βοοειδούς και α-λακταλβουμίνης. Η β-καζομορφίνη-7 και β-καζοκίνη-10 έδειξαν καταστολή και διέγερση του πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων ανάλογα με τη συγκέντρωση του πεπτιδίου. Ακόμα ερευνητές έχουν δείξει ότι η β-καζεΐνη που έχει υποστεί ζύμωση με βακτήρια γαλακτικού οξέος έχει ανοσορυθμιστική δράση η οποία μπορεί να σχετίζεται με την αλληλεπίδραση της με μονοκύτταρα-μακροφάγα και T βοηθητικά κύτταρα, ειδικά κύτταρα παρόμοια με Th1. Επιπλέον άλλοι ερευνητές απέδειξαν ότι οι καζεΐνες που υδρολύονται με *Lactobacillus GG*, αποδίδουν πεπτικά ένζυμα που παράγουν ενώσεις με κατασταλτικά αποτελέσματα πολλαπλασιασμού των λεμφοκυττάρων. Αρκετά γνωστά ανοσοδιεγερτικά πεπτίδια ταυτοποιήθηκαν από αυτά τα προϊόντα υδρόλυσης. Μια άλλη ομάδα πεπτιδίων που μπορεί να εμπλέκεται στην διέγερση του ανοσοσυστήματος είναι οι αναστολείς MEA. Η αναστολή του ACE ευνοεί τον σχηματισμό βραδυκινίνης και επομένως δρα ως ανοσορυθμιστής. Η βραδυκινίνη, γνωστή ως μεσολαβητής της οξείας φλεγμονώδους διαδικασίας, είναι ικανή να διεγείρει τα μακροφάγα για να ενισχύσει την μετανάστευση των λεμφοκυττάρων και την αύξηση της έκκρισης λεμφοκινινών. Σε αυτό το πλαίσιο θα πρέπει να τονιστεί ότι τα πεπτίδια όπως η α1-καζεΐνη f194-f199, η β-καζεΐνη f60-f66 και η f193-f202 έχουν δείξει ότι έχουν τόσο ανοσοδιεγερτικές όσο και ACE ανασταλτικές ιδιότητες. Ωστόσο η σχέση δομής-δραστικότητας αλλά και ο μηχανισμός με τον οποίο τα πεπτίδια που προέρχονται από το γάλα ασκούν τα ανοσοδιαμορφωτικά αποτελέσματά τους δεν έχουν ακόμη καθοριστεί. Έχει προταθεί όμως ότι η αργινίνη στην N- ή C-

τερματική περιοχή του πεπτιδίου είναι σημαντική δομική οντότητα που αναγνωρίζεται από τους συγκεκριμένους υποδοχείς που δεσμεύονται στην μεμβράνη τους. Ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό μεταξύ ορισμένων ανοσορρυθμιστικών πεπτιδίων είναι η παρουσία αργινίνης στο C-τερματικό. Ακόμα τα πεπτίδια αυτά έχουν επίσης δείξει ότι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων λεμφοκυττάρων, τις φαγοκυτταρικές δράσεις των μακροφάγων και τη σύνθεση των αντισωμάτων. Έτσι λοιπόν τα πεπτίδια αυτά μπορούν να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και την ωρίμανση των T-κυττάρων και φυσικών κυττάρων δολοφόνων για την υπεράσπιση του οργανισμού έναντι του μεγάλου αριθμού βακτηριδίων και συγκεκριμένα των εντερικών βακτηριδίων. Τα πεπτίδια που προέρχονται από καζεΐνη και περιλαμβάνουν θραύσματα της αs1-καζεΐνης και β-καζεΐνης διεγείρουν τη φαγοκυττάρωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων των προβάτων από τα περιτοναϊκά μακροφάγα του ποντικού και ασκούν προστατευτική επίδραση έναντι μόλυνσης. Επιπλέον τα ανοσορρυθμιστικά πεπτίδια του γάλακτος μπορεί να ανακουφίσουν τις αλλεργικές αντιδράσεις σε ανθρώπους και να ενισχύσουν την ανοσία του βλεννογόνου στο γαστρεντερικό σωλήνα. Με τον τρόπο αυτό τα πεπτίδια αυτά μπορούν επίσης να είναι χρήσιμα στην ρύθμιση της ανάπτυξης του ανοσοποιητικού συστήματος σε νεογέννητα βρέφη. Ωστόσο, τα ανοσορρυθμιστικά πεπτίδια που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης γάλακτος έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στις αντινεοπλασματικές επιδράσεις. Η λακτοφερρίνη, ένα από τα πολυλειτουργικά πεπτίδια όπου παρουσιάζει αντιμικροβιακές, αντιμυκητιακές, αντινεοπλασματικές και αντι-ιικές ιδιότητες λόγω της πλούσιας αναλογίας της σε τρυπτοφάνη / αργινίνη και εξαιτίας αντιφλεγμονωδών και ανοσοτροποποιητικών ιδιοτήτων λόγω της θετικά φορτισμένης περιοχής του μορίου. Τα πεπτίδια που προέρχονται από προϊόντα υδρόλυσης γαλακτοφερρίνης μπορούν να είναι χρήσιμα για κλινικές εφαρμογές εξαιτίας των ανοσορρυθμιστικών τους αποτελεσμάτων ή για την χημειοπροφύλαξη από καρκινογένεση. Επίσης από τους ερευνητές έχει προταθεί η χρήση των παραγώγων



λακτοφερρίνης στην στοματική φροντίδα και ως συντηρητικό τροφίμων (Korhonen & Pihlanto ,2006).

4.3 Αντιμικροβιακά πεπτίδια

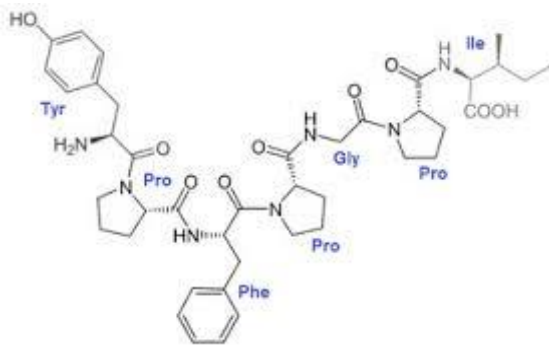
Η αντιμικροβιακή δράση του γάλακτος στηρίζεται κυρίως σε μικρές πρωτεΐνες του ορού γάλακτος όπως η λακτοφερίνη. Αυτή η πρωτεΐνη έχει βακτηριοστατικές και βακτηριοκτόνες ιδιότητες που αποδίδονται στην ικανότητά της να δεσμεύει το χηλικόσίδηρο ή να δεσμεύεται σε βακτηριακές επιφάνειες που διαπιστώνεται ότι πέψη με πεψίνη βόειας λακτοφερρίνης παράγει ισχυρό βακτηριοκτόνο πεπτίδιο και ότι η αντιμικροβιακή ισχύς του υδρολύματος ήταν υψηλότερη από εκείνη της μη γαλακτοποιημένης λακτοφερρίνης. Έχουν ταυτοποιηθεί δύο πεπτίδια από το N-τερματικό άκρο της λακτοφερρίνης που έδειξαν αντιμικροβιακή δραστηριότητα έναντι ενός αριθμού παθογόνων μικροοργανισμών αλλοίωσης τροφίμου.

Ο βακτηριοκτόνος μηχανισμός είναι ανεξάρτητος από τον σίδηρο επειδή τα αναγνωρισμένα πεπτίδια είναι διαφορετικά ως προς την θέση πρόσδεσης του μορίου σιδήρου. Είναι πιθανό τα ενεργά πεπτίδια να έχουν συγγένεια για την βακτηριοκτόνο κυτταρική επιφάνεια και να δρουν διασώζοντας τις βασικές λειτουργίες της μεμβράνης. Δεν έχει ανιχνευθεί καμία επίδραση έναντι του bifido bacterium. Συνεπώς τα πεπτίδια που προέρχονται από λακτοφερρίνη μπορεί να επηρεάσουν θετικά την εντερική χλωρίδα. Η as-καζεΐνη f1-f23 που ελήφθη από την υδρόλυση χυμοσίνης έχει δείχθει ότι έχει αντιβακτηριακή δραστηριότητα έναντι του *Satphylococcus aureus* και της *Candida albicans* (Rutherford & Markwick, 2012).

Σε αναφορές που έχουν γίνει αναφέρουν πως μεταξύ των διαφόρων ομάδων βιοδραστικών πεπτιδίων, τα ανασταλικά πεπτίδια του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτασίνης (ACE) λαμβάνουν ιδιαίτερη προσοχή λόγω της επικράτησης και της σημασίας που έχουν αυτά στην υπέρταση στον πληθυσμό της Δύσης. Το ACE μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και τη θεραπεία της υπέρτασης. Η κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν αντιυπερτασικά πεπτίδια προκαλούν σημαντική μείωση της αρτηριακής πίεσης. Σήμερα λοιπόν είναι ευρέως αναγνωρισμένο ότι η έννοια της AMP μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην καταπολέμηση της επί του παρόντος εξαντλητικής μικροβιακής αντίστασης σε συμβατικά αντιβιοτικά. Ήταν μόνο μια σύντομη χρονική περίοδος όπου προτού οι επιλεγμένες πιέσεις επιτρέψουν να ενσωματωθούν αυτοί οι καθοριστικοί παράγοντες περιβαλλοντικής αντίστασης στα παθογόνα βακτήρια όπου έλαβαν θεραπεία με τα νέα αντιβιοτικά. Επιπλέον, οι ιατρικές και γεωργικές πρακτικές των τελευταίων 50 ετών έχουν προωθήσει την ανάπτυξη αντίστασης και την εξάπλωση τόσο σε ανθρώπινα όσο και σε ζωικά παθογόνα βακτήρια συμβάλλοντας έτσι στην αποτελεσματική θεραπεία των μολυσματικών ασθενειών. Σήμερα, πολλά σημαντικά παθογόνα βακτήρια είναι ανθεκτικά σε πολλές αντιμικροβιακές κατηγορίες, καλύπτοντας τα περισσότερα ή ακόμα και πολλές φορές όλα τα κλινικά χρησιμοποιήσιμα αντιμικροβιακά (Rutherford & Markwick, 2012)

Οι λοιμώξεις που προκαλούνται από αυτούς τους λεγόμενους ανθεκτικούς σε πολλαπλά φάρμακα μικροοργανισμούς (MDR) είναι δαπανηρές για θεραπεία, ενώ η θεραπεία είναι όλο και περισσότερο επιρρεπής σε αποτυχημένα αποτελέσματα. Η αντοχή των βακτηρίων στα αντιμικροβιακά φάρμακα οφείλεται είτε στην απενεργοποίηση του φαρμάκου είτε στην τροποποίηση / μετατόπιση της θέσης στόχου του φαρμάκου. Η μειωμένη συσσώρευση φαρμάκων λόγω της περιορισμένης πρόσληψης ή της ενισχυμένης εκροής είναι επίσης ένας σημαντικός μηχανισμός αντίστασης για ορισμένες κατηγορίες αντιμικροβιακών ουσιών.

Συνολικά, οι κλινικές επιπτώσεις της αντίστασης είναι τεράστιες, που χαρακτηρίζονται από αυξημένο κόστος, διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο και θνησιμότητα. Έτσι, ήρθε η ώρα να εξεταστούν νέες τάξεις αντιβιοτικών όπως οι AMP των οποίων ο τρόπος δράσης υπόσχεται τόσο χαμηλή ευαισθησία σε μηχανισμούς MDR όσο και υψηλή δραστικότητα έναντι της ευρείας κατηγορίας μικροοργανισμών. Τα AMPs παράγονται από τα περισσότερα είδη που βρίσκονται στη ζωής όπως από τα προκαρυωτικά φυτά, τα έντομα, τα αμφίβια και τα θηλαστικά συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων ως μέρος του αμυντικού μηχανισμού του οργανισμού. Ως κύριοι ενεργοποιητές του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος, οι AMP προστατεύουν το ανοσοποιητικό σύστημα τόσο σε γενικούς μηχανισμούς όσο και σε ειδικούς με έναν αργό προσαρμοστικό τρόπο. Έτσι σε αντίθεση με τους επίκτητους ανοσολογικούς μηχανισμούς τα



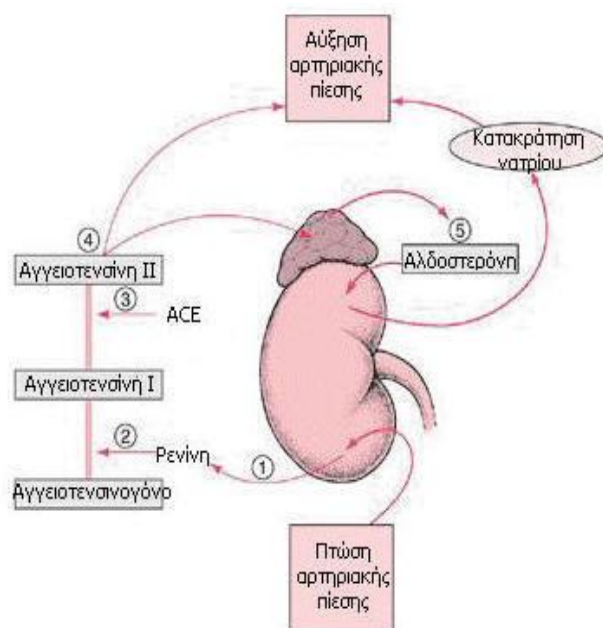
ενδογενή AMP τα οποία εκφράζονται ή επάγονται παρέχουν ταχεία και αποτελεσματικά μέσα άμυνας. Τα περισσότερα από αυτά τα κωδικοποιημένα γονιδιακά πεπτίδια κινητοποιούνται λίγο μετά τη μικροβιακή μόλυνση και δρουν γρήγορα

για να εξουδετερώσουν ένα ευρύ φάσμα μικροβίων.

4.4 Αντιθρομβωτικά πεπτίδια

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αντιπροσωπεύουν την βασικότερη αιτία θανάτου όπου η θρόμβωση εμπλέκεται κυρίως σε αυτή τη παθοφυσιολογία των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα αντιθρομβωτικά συστατικά διατηρούν τη φυσική ισορροπία, η διάλυση αυτής της ισορροπίας οδηγεί στον σχηματισμό θρόμβωσης μέσω της δημιουργίας μιας επιφάνειας όπου τα αιμοπετάλια μπορούν να συσσωρευτούν. Ακολούθως τα αιμοπετάλια συνθέτουν την προσταγλανδίνη H2 που μετασχηματίζεται σε θρομβοξάνη A2. Η θρομβοξάνη A2 είναι ένας ισχυρός

διεγέρτης της συσσωμάτωσης αιμοπεταλίων. Η προθρομβίνη μετασχηματίζεται σε θρομβίνη και διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και το ασβέστιο απελευθερώνεται από τους κόκκους. Η παρουσία αιμοπεταλίων στην επιφάνεια διεγείρει τη συσσωμάτωση και τα συνθετικά ινωδογόνου, όπου τα αιμοπετάλια συνδέονται με το ινωδογόνο και άλλες συγκολλητικές πρωτεΐνες όπως είναι η φιβρονεκτίνη και ο παράγοντας von-wille-brandt. Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην πήξη του γάλακτος (αλληλεπίδραση της κ-καζεΐνης με χυμοσίνη), παρουσιάζουν αξιοσημείωτη ομοιότητα με τις διαδικασίες που εμπλέκονται στην πήξη του αίματος (αλληλεπίδραση ινωδογόνου και θρομβίνης). Στην πραγματικότητα, τρία υπολείμματα αμινοξέων, Ile108, Lys112, Asp115 του ενδεκαπεπτιδίου της κ-καζεΐνης είναι σε ομόλογη θέση σε σύγκριση με την αλληλουχία της αλυσίδας R του ανθρώπινου ινωδογόνου. Ένα πεπτίδιο που αφαιρείται από την C-τελική και από την κ-καζεΐνη δηλαδή η καζοπλατελίνη μπορεί να ανταγωνιστεί την γ-αλυσίδα του ανθρώπινου ινωδογόνου στους υποδοχείς των αιμοπεταλίων, αναστέλλοντας έτσι τον σχηματισμό θρόμβου. Αυτά επίσης αναστέλλουν τη συσσωμάτωση ενεργοποιημένων με ADP αιμοπεταλίων. Το γλυκομακροπεπτίδιο που αποκτήθηκε κατά τη διάρκεια της κατάποσης (f106-169) φαίνεται ότι περιορίζει την πληροφωρία του θρόμβου αναστέλλοντας τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων που εξαρτάται από τον παράγοντα Von-Whille-brand.



των ευρημάτων, η GMP έχει προταθεί για ενδοφλέβια και από του στόματος χορήγηση σε ανθρώπους ως προφύλαξη για την πρόληψη θρόμβωσης (Korhonen & Pihlanto ,2006).

4.5 Αντιϋπερτασικά πεπτίδια

Το ένζυμο μετατροπής της

αγγειοτενσίνης I έχει συσχετιστεί με το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης, το οποίο ρυθμίζει την περιφερική αρτηριακή πίεση του αίματος. Η αναστολή αυτού του ενζύμου μπορεί να ασκήσει αντιυπερτασική δράση. Ένας μεγάλος αριθμός αναστολέων ACE πεπτιδίων έχει απομονωθεί μέσω της ενζυματικής πέψης από διάφορες πρωτεΐνες γάλακτος και είναι προς το παρόν η πιο μελετημένη ομάδα βιοδραστικών πεπτιδίων. Εκτός από την αναστολή του ACE, τα πεπτίδια του γάλακτος μπορούν να ασκήσουν και αντιυπερτασικά αποτελέσματα μέσω άλλων μηχανισμών όπως η αναστολή της ενδοθηλίνης-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ή διέγερση της δραστηριότητας της βραδυκινίνης ή ενίσχυση της παραγωγής νιτρικού οξέος που προέρχεται από το ενδοθήλιο και ενισχύει την αγγειοδιασταλτική δράση δέσμευσης των οπιούχων υποδοχέων. Η άποψη αυτή στηρίχθηκε στην μελέτη ερευνητών οι οποίοι εξέτασαν διάφορα μικρά πεπτίδια που προέρχονται από τις πρωτεΐνες γάλακτος για την πιθανή αναστολή του ACE και παρατήρησαν ότι *in vitro* 8 από τα 9 διπεπτίδια ήταν ανταγωνιστικοί αναστολείς του ACE. Στη συνέχεια σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τρία διαφορετικά μοντέλα *in vivo* στους αρουραίους για αναστολή του ACE, παρατηρήθηκε πολύ μέτρια επίδραση για τρία μόνον από τα παραπάνω δραστικά πεπτίδια. Έτσι λοιπόν πρότειναν ότι υπάρχουν πιθανώς και άλλοι μηχανισμοί δράσης για τους γνωστούς αναστολείς που προέρχονται από το γάλα οι οποίοι αναφέρθηκαν ότι είναι υποτασικοί. Για να ασκήσουν αντιυπερτασική δράση μετά την κατάποση από το στόμα, τα δραστικά αυτά πεπτίδια πρέπει να απορροφηθούν σε άθικτη μορφή από το έντερο και επιπλέον να είναι ανθεκτικά στην αποικοδόμηση από τις πεπτιδάσες του πλάσματος προκειμένου να φθάσουν στις θέσεις στόχους. Στην πραγματικότητα, έχει αποδειχθεί ότι στη χρήση μονόστοιβων καλλιεργημένων ανθρώπινων εντερικών κυττάρων Caco-2, το τριπεπτίδιο VPP ανασταλτικό του ACE μπορεί να μεταφερθεί άθικτα μέσω της στοιβάδας του κυττάρου, μέσω παρακυτταρικών και διακυτταρικών οδών αν και μια σημαντική ποσότητα του πεπτιδίου υδρολύεται σε αμινοξέα λόγω των ενδοκυτταρικών πεπτιδάσων. Είναι επίσης γνωστό ότι τα πεπτίδια που περιέχουν προλίνη είναι γενικά ανθεκτικά στην αποικοδόμηση από

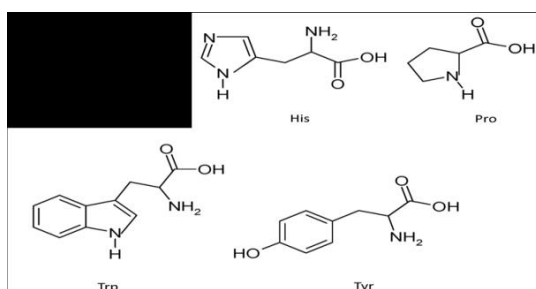
τα πεπτικά ένζυμα. Ερευνητές το 1996 ανίχνευσαν δύο τριπεπτίδια αναστολής ACE (VPP και IPP) στην κοιλιακή αορτή του SHR μετά την από του στόματος χορήγηση ξινού γάλακτος που περιείχε αυτά τα τριπεπτίδια. Επιπλέον, σε δοσοεξαρτώμενες μελέτες με μοντέλο SHR έχει διαπιστωθεί δοσοεξαρτώμενη αντιυπερτασική δράση με SHR μετά από χορήγηση δια του στόματος μικρών δι- και τριπεπτιδίων. Από την άλλη πλευρά, τα πρόσφατα αποτελέσματα in vitro έδειξαν ότι η β-Ig f (142-148), το πεπτίδιο Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg το οποίο είναι γνωστό ότι είναι ένας ισχυρός αναστολέας της δραστηριότητας του ACE in vitro δεν είναι πιθανώς επαρκώς σταθερό σε πρωτεΐνάσες και πεπτιδάσες του γαστρεντερικού σωλήνα και ορού αίματος. Αυτό το συμπέρασμα υποστηρίχθηκε από τα αποτελέσματα που δείχνουν ότι η συνθετική β-Ig f (142-148) αποικοδομήθηκε ταχέως κατά την επώαση με ανθρώπινο ορό. Επιπροσθέτως, το πεπτίδιο αυτό δεν μπόρεσε να ανιχνευθεί με ένα από τα ανοσοπροσδιοριστικά ένζυμα στον ορό αίματος των δύο εθελοντών μετά την κατάποση από του στόματος ή στον ορό των εθελοντών που ακολούθως έρρευσαν με β-Ig f (142-148). Εξίσου ενδιαφέρον είναι ότι σε μια προηγούμενη μελέτη το ίδιο πεπτίδιο ήταν ανθεκτικό στην αποικοδόμηση κατά τη διάρκεια της γαστρεντερικής διέλευσης, ωστόσο η μοναδική διαφορά είναι ότι μεταφέρθηκε μόνο σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε μονοστοιβάδες Caco-2b. Ακόμα, το α-Ia f(50-53), δηλαδή το τετραπεπτίδιο της α-λακερίνη (Tyr-Gly-Leu-Phe) το οποίο είναι γνωστό ότι προάγει ένα αντιυπερτασικό αποτέλεσμα in vivo όταν χορηγείται υποδόρια σε νορμοτασικούς αρουραίους δεν προκάλεσε κανένα αναμενόμενο αποτέλεσμα των δραστικών οπιοειδών σε δοκιμασίες που έγιναν σε ποντικούς μετά από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση. Μόνο λίγα μεταξύ του μεγάλου αριθμού πεπτιδίων γάλακτος που αναγνωρίστηκαν ως αντιυπερτασικά υπό in vitro συνθήκες έχουν μέχρι τώρα αποδειχθεί κλινικά αποτελεσματικά σε ζώα και ανθρώπους. Στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες παρατηρήθηκε μέτρια ή σημαντική μείωση της αρτηριακής πίεσης μετά την κατανάλωση ειδικών προϊόντων υδρόλυσης πρωτεϊνών γάλακτος ή γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση. Τα αποτελέσματα μιας έρευνας με placebo φάρμακο και χορήγηση ξινόγαλου Calpis σε ασθενείς με ήπια

υπέρταση έδειξαν σημαντική μείωση στην αρτηριακή πίεση που καταγράφηκε μετά από καθημερινή κατάποση ξινόγαλου Calpis για 95 εβδομάδες σε ποσότητα 95 ml το οποίο περιέχει τα ισχυρά πεπτίδια αναστολής ACE Vpp και IPP. Αξίζει να σημειωθεί ότι η απορροφούμενη δόση αυτών των πεπτιδίων ήταν μικρή, μόνο περίπου 2,6 mg ανά ημέρα. Η αρτηριακή πίεση επανήλθε σταδιακά στο προμελετημένο επίπεδο μετά τη διακοπή της περιόδου παρέμβασης. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στην αρτηριακή πίεση στην ομάδα του placeboφαρμάκου. Αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίχθηκαν από πρόσφατη διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη όπου η επίδραση του Calpis αξιολογήθηκε σε οριακά υπερτασικούς άνδρες κατά την από του στόματος χορήγηση 160 g του προϊόντος για 4 εβδομάδες. Η συστολική αρτηριακή πίεση στην ομάδα δοκιμής μειώθηκε σημαντικά μετά από 2 και 4 εβδομάδες κατάποσης του Calpis. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στην αρτηριακή πίεση στην ομάδα του placeboφαρμάκου, στην οποία χορηγήθηκε μη ζυμωμένο όξινο γάλα. Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν με το προϊόν «Evolus» σε δύο διπλά τυφλές ελεγχόμενες με placebo φάρμακο μελέτες με ασθενείς με ήπια υπέρταση που κατανάλωσαν 150 mL του προϊόντος ημερησίως. Το «Evolus» βρέθηκε ότι μειώνει τόσο την συστολική όσο και τη διαστολική αρτηριακή πίεση κατά τη διάρκεια των περιόδων θεραπείας 8 εβδομάδων και 21 εβδομάδων, αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκε τέτοια επίδραση σε άτομα με φυσιολογική αρτηριακή πίεση (Korhonen & Pihlanto ,2006).

Μια άλλη πρόσφατη ελεγχόμενη με placebo φάρμακο μελέτη έλεγξε την επίδραση του γάλακτος "Dahi" το οποίο έχει υποστεί ζύμωση και περιέχει το ανασταλτικό ACE πεπτίδιο Ser-Lys-Val-TyrPro (SKVYP) σε υπερτασικά άτομα. Το προϊόν παρήχθη ύστερα από ζύμωση γάλακτος. Τα άτομα έλαβαν είτε 100 mL του προϊόντος "Dahi" είτε του placebo φαρμάκου για 4 εβδομάδες. Στην ομάδα δοκιμής, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης μετά από 2 και 4 εβδομάδες από την έναρξη της παρέμβασης. Παρόλα αυτά στην ομάδα που χορηγήθηκε το placebo φάρμακο δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές

αλλαγές στην πίεση του αίματος κατά την περίοδο της παρέμβασης. Το εικονικό φάρμακο παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας τα ίδια μέσα εκκίνησης με το προϊόν "Dahi", αλλά αυτά τα στελέχη δεν παρήγαγαν το παραπάνω ανασταλτικό ACE πεπτιδίο. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών μείωσης της αρτηριακής πίεσης των πεπτιδίων γάλακτος και απαιτούνται καλά ελεγχόμενες κλινικές μελέτες σε ανθρώπους για να αποδειχθούν τα μακροπρόθεσμα φυσιολογικά αποτελέσματα που παρέχονται με την κατανάλωση τέτοιων πεπτιδίων. Οι αλληλουχίες των πεπτιδίων που αναστέλλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και η σύνδεση της γ-αλυσίδας του ανθρώπινου ινωδογόνου με τους υποδοχείς ινωδογόνου της επιφανείας των αιμοπεταλίων έχει αναγνωριστεί στην CMP, η οποία διασπάται από την κ-καζεΐνη στην πήξη του γάλακτος με χυμοσίνη. Οι πιθανές φυσιολογικές επιδράσεις αυτών των αντιθρομβωτικών πεπτιδίων δεν έχουν τεκμηριωθεί ακριβώς αλλά τέτοια πεπτιδία έχουν ανιχνευθεί στο πλάσμα των νεογέννητων παιδιών μετά τον θηλασμό ή την κατάποση παρασκευασμάτων για βρέφη με βάση το αγελαδινό γάλα, έτσι ταυτοποίησαν ένα υποχοληστερολαιμικό πεπτιδίο (Ile-Ile-Ala-Glu-Lys) από το υδρόλυμα του β-Ig. Αυτό το πεπτιδίο κατέστειλε την απορρόφηση της χοληστερόλης από Caco-2 κύτταρα in vitro και προκάλεσε υποχοληστερολαιμική δράση in vivo σε αρουραίους κατά την από του στόματος χορήγηση του πεπτιδικού διαλύματος. Ο μηχανισμός της υποχοληστερολαιμικής δράσης βρίσκεται σε εξέλιξη (Park & Nam, 2015).

4.6 Αντιοξειδωτικά πεπτιδία



Η σημασία της οξειδωσης τόσο στο σώμα όσο και στα τρόφιμα έχει αναγνωριστεί ευρέως. Ο οξειδωτικός μηχανισμός είναι απαραίτητος για την επιβίωση των κυττάρων. Μια παρενέργεια αυτής της

λειτουργίας είναι η παραγωγή ελεύθερων ριζών οι οποίες δρουν αντιδραστικά έναντι του οξειγόνου και προκαλούν οξειδωτικές αλλαγές. Όταν σχηματίζεται μια περίσσεια ελεύθερων ριζών, μπορούν να συντρίψουν προστατευτικά ένζυμα όπως το υπεροξειδίο της δισμουτάσης, την καταλάση και την υπεροξειδάση που προκαλούν καταστροφικές και θανατηφόρες κυτταρικές επιδράσεις όπως οξείδωση μεμβρανικών λιπιδίων, κυτταρικών πρωτεϊνών, του DNA και διάφορων ενζύμων. Έτσι τα αντιοξειδωτικά αμινοξέα δρουν ως δότες Η το οποίο περιέχει ένα ηλεκτρόνιο μετατρέποντας τις ελεύθερες ρίζες σε ανενεργές μορφές. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι αντιοξειδωτικά πεπτίδια μπορούν να απελευθερωθούν από τις καζεΐνες σε υδρόλυση από πεπτικά ένζυμα και κατά τη ζύμωση του γάλακτος μέσω οξυγαλακτικών βακτηρίων. Τα περισσότερα από τα πιστοποιημένα πεπτίδια προέρχονται από την as-καζεΐνη και έχουν αποδειχθεί ότι διαθέτουν μηχανισμούς απομάκρυνσης των ελευθέρων ριζών όπου μπορούν να αναστείλουν την ενζυματική και μη ενζυματική υπεροξειδωση των λιπιδίων. Η κατανάλωση ζυμωμένου γάλακτος από κατσίκα βελτίωσε την αντι-αθηρογένεση σε υγιή άτομα, παρατείνοντας την αντίσταση του κλάσματος λιποπρωτεϊνών στην οξείδωση, μειώνοντας τα επίπεδα των υπεροξειδωμένων λιποπρωτεϊνών όπως οξειδωμένη LDL, την οξειδοαναγωγική αντίδραση της γλουταθειόνης και την ενίσχυση της ολικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Ως εκ τούτου, υποτίθεται ότι τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών μπορεί να αυξήσουν τη στεφανιαία νόσο. Απαιτούνται περισσότερες έρευνες για να διασαφηνιστεί ο ρόλος των αντιοξειδωτικών πεπτιδίων στις προστατευτικές ιδιότητες στην ανθρώπινη υγεία (Park & Nam, 2015).

Κεφάλαιο 5

5.1 In vivo μελέτες απορρόφησης και δράσης βιοενεργών πεπτιδίων

Η πλειονότητα των βιοδραστικών πεπτιδίων που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα προκαλούν συστηματικές επιδράσεις και ως εκ τούτου πρέπει είτε να απορροφηθούν από το έντερο είτε να δράσουν άμεσα στην εντερική οδό, είτε μέσω υποδοχέων και κυτταρικής σηματοδότησης να προκαλέσουν τη δράση τους. Ενώ είναι γνωστό ότι το έντερο είναι ικανό να απορροφήσει τα δι- και τριπεπτίδια σχετικά εύκολα, υπάρχουν κάποιες πληροφορίες στη βιβλιογραφία που τεκμηριώνουν την απορρόφηση και την κινητική απορρόφησης των βιοδραστικών πεπτιδίων υψηλότερου μοριακού βάρους. Υπάρχουν ενδείξεις χρησιμοποιώντας ραδιενεργά σηματοδοτημένα πεπτίδια που υποδηλώνουν ότι το υλικό που εισέρχεται μέσα στην νήσιδα απομακρύνεται ταχέως από τη συστηματική κυκλοφορία. Ωστόσο, υπάρχει επίσης αναφορά δύο τουλάχιστον μεγάλων πεπτιδίων που προέρχονται από την καζεΐνη τα οποία ανιχνεύονται στο πλάσμα των ενηλίκων μετά από κατανάλωση γάλακτος ή γιαουρτιού. Υποθέτοντας ότι το βιοδραστικό πεπτίδιο απορροφάται, οι συγκεντρώσεις που φθάνουν στα κύτταρα-στόχους ή στους υποδοχείς πρέπει να επαρκούν για να προκαλέσουν μια ποσοτικοποιημένη και παρατεταμένη απόκριση. Γενικά οι περισσότερες μελέτες (Park & Nam, 2015), (Rutherford & Markwick, 2012).

που έχουν γίνει αναφέρονται σε *in vitro* διαδικασία και όχι σε *in vivo*. Ωστόσο τα τελευταία χρόνια έχει γίνει προσπάθεια αξιοποίησης και ταυτοποίησης των παραπάνω ευεργετικών ιδιοτήτων στον ανθρώπινο οργανισμό. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω οι μοναδικές έρευνες που έχουν γίνει σχετικά με την απορρόφηση των πεπτιδίων αυτών είναι από τις πρωτεΐνες τους ορού γάλακτος και συγκεκριμένα της καζεΐνη. Σε μελέτες που έχουν γίνει (Park & Nam, 2015), (Rutherford & Markwick, 2012) έχουν αποδειχθεί ευεργετικές ιδιότητες αυτών των πεπτιδίων στην ανθρώπινη υγεία και συγκεκριμένα στην προστασία του οργανισμού από την αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Τέλος οι *in vivo* μελέτες έχουν δείξει ότι το αγελαδινό γάλα έχει **οπιοειδή, αντιυπερτασική** δράση σε μια ομάδα ανθρώπων που τους χορηγήθηκε τέτοιου είδους γάλα ενώ σε μια άλλη ομάδα ανθρώπων το κασικίσιο γάλα έδειξε **αντιοξειδωτική δράση**. Τέλος οι

υπόλοιπες δράσεις των βιοενεργών πεπτιδίων εφαρμόστηκαν σε ποντικούς όπου έδειξαν ότι η χορήγηση ζυμωμένου γάλακτος (τύπου κεφίρ) είχε **αντιμικροβιακή , αντιθρομβωτική και ανοσορυθμιστική δράση.**

Συμπεράσματα:

Τα βιοενεργά πεπτίδια μπορούν να συμβάλουν ευεργετικά σε 3 κατηγορίες συστημάτων του ανθρώπινου οργανισμού όπως: το καρδιαγγειακό σύστημα, το νευρικό σύστημα, το ανοσοποιητικό σύστημα. Αυτά τα βιοδραστικά πεπτίδια έχουν αποδειχθεί ότι διαθέτουν αντιθρομβωτικά, αντιυπερτασικά, οπιοειδή, ανοσορυθμιστικά και αντιμικροβιακά χαρακτηριστικά. Τα πεπτίδια που προέρχονται από την καζεΐνη έχουν ήδη συναντήσει ενδιαφέρουσες εφαρμογές, τόσο ως συμπληρώματα διατροφής σε λειτουργικά τρόφιμα όσο και ως φαρμακευτικά παρασκευάσματα. Φαίνεται πως οι περισσότερες επιβεβαιωμένες μελέτες (Park & Nam, 2015), (Rutherford & Markwick, 2012) in vivo που έχουν γίνει σχετικά με τις θετικές επιδράσεις των πεπτιδίων έχουν γίνει στο γάλα, παρόλα αυτά υπάρχουν μελέτες και για τις υπόλοιπες κατηγορίες τροφίμων που λαμβάνουν χώρα αλλά προς το παρόν σε in vitro έχουν τεκμηριωθεί τα αποτελέσματα. Ωστόσο, αν και τα βιοδραστικά πεπτίδια είναι ευεργετικά και επιθυμητά ως συστατικά τροφίμων ή ως φάρμακα είναι ένα θέμα το οποίο πρέπει να εξεταστεί προσεκτικά κατά περίπτωση. Επιπλέον, θα πρέπει να εξεταστεί εκτενέστερα η επεξεργασία των τροφίμων αυτών και κυρίως των γαλακτοκομικών προϊόντων σχετικά με το πόσο απορροφήσιμα είναι τα πεπτίδια αυτά στα επεξεργασμένα τρόφιμα. Οι δυνατότητες για το σχεδιασμό νέων διατροφικά λειτουργικών προϊόντων αλλά και φυσικών φαρμάκων φαίνονται πολλά υποσχόμενες. Έτσι λοιπόν η έρευνα θα πρέπει να εμβαθύνει στις ήδη υπάρχουσες γνώσεις σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους λειτουργούν τα πεπτίδια αυτά, και να εστιάσουν στις φυσιολογικές λειτουργίες των βιοδραστικών πεπτιδίων που προέρχονται από το γάλα.

Αναφορές :

[Wu](#)G. (2010) Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. *Advances in Nutrition* 1: 31-37.

Ryan JT, Ross RP, Bolton D, Fitzgerald GF, Stanton C. (2011) Bioactive Peptides from Muscle Sources: Meat and Fish. *Nutrients* 3:765-791.

Shrikant S, Raghvendar S, Shashank R. (2011) Bioactive Peptides: A Review. *International journal bioautomation* 15(4): 223-250.

Perez-Espitia PJ, Ferreira-Soares NF, Coimbra JSR, Andrade NJ, Cruz RS, Alves-Medeiros EA (2012). Bioactive peptides: synthesis, properties, and applications in the packaging and preservation of food. *Comprehensive review in food science and technology* 11:187-204.

Malaguti M, Dinelli G, Leoncini E, Valeria Bregola V, Bosi S, Cicero AFG, Hrelia S. (2014) Bioactive Peptides in Cereals and Legumes: Agronomical, Biochemical and Clinical Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*15: 21120-21135.

Park Y.W, *Nam* M. S. (2015) Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 35(6):831-840.

Erdmann K, Cheung BWY, Schröder H. (2008) The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* 19(10): 643-654.

Millward DJ, Layman DK, Tomé D, Schaafsma G. (2008) Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *American Journal of Clinical Nutrition* 87(5): 1576-1581.

Rutherford-Markwick KJ. (2012), Food proteins as a source of bioactive peptides with diverse functions. *British Journal of Nutrition* 108:149-157.

[Hartmann R, Meisel H.](#) (2007), Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology* 18:163–169.

Korhonen H, Pihlanto A. (2006), Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal* 16:945–960

Γεωργιάτσος, Ι. Γ. (2013), Εισαγωγή στη Βιοχημεία. Εκδόσεις Γιαχούδη.

Hoffman J, Favlo M. (2004), Protein – Which is best? *Journal of Sports Science and Medicine* 3:118-130

