
PÉPTIDOS INMUNOMODULADORES DERIVADOS DE LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE

ALINE REYES-DÍAZ, AARÓN F. GONZÁLEZ-CÓRDOVA,
ADRIÁN HERNÁNDEZ-MENDOZA y BELINDA VALLEJO-CORDOBA

RESUMEN

Las proteínas de la leche son objeto de numerosas investigaciones debido al aporte que presentan en beneficio a la salud como fuente de péptidos bioactivos. La caracterización de los péptidos es un paso primordial e importante para poder entender cómo llevan a cabo su función. En este trabajo se recopiló, a partir de diferentes estudios, una lista de secuencias peptídicas derivadas de proteínas de la leche que han mostrado un efecto sobre el sistema inmune. Estas secuencias se describen por su longitud y composición de aminoácidos, así como fisicoquímicamente. Los datos muestran que su longitud comprende entre 2 y 64 aminoácidos. Los aminoácidos más frecuentes en estas secuencias son prolina y ácido glu-

támico. Destacan tirosina y lisina en el extremo N-terminal y C-terminal, respectivamente, y arginina en ambos extremos. Estos péptidos presentan pesos moleculares <7kDa, aunque son más abundantes aquellos <3kDa. Asimismo, ostentan una diversidad de cargas a pH fisiológico, que oscilan entre -7 y +8, siendo principalmente de carácter hidrofílico. El análisis de la información recopilada en esta revisión podría ser de importancia para determinar el patrón estructural y a su vez la función de los péptidos inmunomoduladores, ya que al momento la relación estructura-función y los mecanismos a través de los que estos péptidos ejercen sus efectos finales no han sido completamente elucidados.

La leche es un alimento rico en proteínas, las cuales están agrupadas principalmente en caseínas y proteínas del suero. La familia de las caseínas representa aproximadamente el 80% de la masa de las proteínas e incluye varios tipos de caseínas: α_{s1} , α_{s2} , β y κ , que forman complejos de micelas en la fase acuosa de la leche. Las proteínas del suero representan el 20% restante y entre ellas se encuentran β -lactoglobulina (no presente en la leche humana), α -lactoalbúmina, seroalbúmina, inmunoglobulinas, lactoferrina y transferrina, entre las más importantes (Sun y Janssen, 2012).

Las proteínas de la leche han sido objeto de numerosas investigaciones debido al aporte que presentan en beneficio a la salud como fuente de péptidos con diferente bioactividad, como son los péptidos inmunomoduladores, que se han obtenido en gran parte a partir de estas proteínas (Dziuba *et al.*, 2009; Plaisancié *et al.*, 2013). La bioactividad específica de los péptidos bioactivos depende intrínsecamente de su biodisponibilidad, que está íntimamente relacionada con sus propiedades estructurales y fisicoquímicas (Phelan *et al.*, 2009). Ageyi y Danquah (2012) mencionan que existe

desconocimiento en relación al mecanismo de acción concreto por el cual los péptidos inmunomoduladores ejercen sus efectos finales. Esta falta de información persiste a la fecha, y podría atribuirse a la falta de la caracterización estructural de los péptidos involucrados.

Con estos antecedentes que ponen de manifiesto la falta de información más amplia y precisa para definir un patrón estructural que represente a los péptidos inmunomoduladores, el enfoque de esta revisión comprende la descripción de una lista de secuencias reportadas de aminoácidos con efecto

PALABRAS CLAVE / Péptidos Inmunomoduladores / Proteínas de la Leche / Secuencia de Aminoácidos /

Recibido: 12/02/2015. Modificado: 07/01/2016. Aceptado: 11/01/2016.

Aline Reyes-Díaz. Química Farmacobióloga y Maestría en Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. Doctoranda, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), México.

Aarón F. González-Córdova. Ingeniero Bioquímico en Alimentos, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, México. Maestro en Ciencias, CIAD, México. Doctor en Ciencias en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz (ITVER), México. Investigador, CIAD, México.

Adrián Hernández-Mendoza. Doctor en Ciencias en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz (ITVER), México. Investigador, CIAD, México.

Belinda Vallejo-Cordoba. Química, Universidad Iberoamericana, México. Maestría y Doctorado en Ciencias de los Alimentos, University of British Columbia, Canadá. Investigadora, CIAD, México. Dirección: Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos, CIAD. Carretera a La Victoria Km 0.6, Apartado 1735. Hermosillo, Sonora, 83304. México. e-mail: vallejo@ciad.mx

sobre el sistema inmune, en relación a su longitud y composición, así como fisicoquímicamente. Se discute también la dinámica sugerida para estas secuencias en el organismo con base en datos reportados en la bibliografía para péptidos bioactivos. Con los datos presentados se espera contribuir con información que permita conjuntar las características de la variedad de péptidos inmunomoduladores que a la fecha han sido reportados y así dar un primer paso para orientar estudios futuros en búsqueda de evidencias que aclaren la relación estructura-función de los péptidos inmunomoduladores.

Capacidad Inmunomoduladora de Péptidos Derivados de Proteínas Lácteas

Los péptidos bioactivos obtenidos a partir de proteínas de la leche son derivados de la hidrólisis derivada de diferentes métodos de proteólisis. Pueden ser producidos *in vivo*, mediante digestión gastrointestinal (la mucosa del intestino expresa al menos 15 peptidasas), así como por enzimas derivadas de la microbiota humana (Kilara y Panyam, 2003; Korhonen y Pihlanto, 2003; Hartmann y Meisel, 2007). La producción *in vitro* involucra la liberación de péptidos por la adición de enzimas (tripsina, pepsina o quimosina) o por la actividad metabólica de bacterias ácido lácticas (BAL) probióticas u otros microorganismos (*Lactobacillus helveticus*, *L. delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*) (Hebert *et al.*, 2010; Espeche Turbay *et al.*, 2012; Chatterton *et al.*, 2013; Juillat-Jeanneret *et al.*, 2011). Gill *et al.*, (2000) señalan que la leche de vaca contiene de forma natural algunos péptidos con actividad inmunogénica en estado preformado o cerca de ser formados, que no requieren ninguna o una mínima modificación gástrica para ser biológicamente activos.

No obstante, a pesar del esfuerzo de algunos trabajos por aportar nuevas alternativas para mejorar la salud en este aspecto, varios de ellos reportan el efecto de un conjunto de elementos contenidos en hidrolizados completos o fracciones derivados de proteínas lácteas (Li y Mine, 2004; Mercier *et al.*, 2004; Prioult *et al.*, 2004; Saint-Sauveur *et al.*, 2009; Maldonado Galdeano *et al.*, 2011; LeBlanc *et al.*, 2002; Vinderola *et al.*, 2007) y muy pocos han logrado demostrar la actividad inmunomoduladora de péptidos individuales específicos o la combinación de algunos de ellos. Cabe la posibilidad de que solo algunos y no el conjunto de péptidos reportados en esos hidrolizados o fracciones pudieran ser los responsables del efecto observado (Tellez *et al.*, 2010).

El mecanismo de acción por medio del cual estas secuencias actúan sobre el sistema inmune no está totalmente explicado. Se sabe (Kayser y Meisel, 1996) que interactúan con el tejido linfóide asociado a la mucosa intestinal (GALT), de manera que atraviesan el epitelio intestinal y entran a la circulación, o se unen directamente a receptores de la superficie celular intraepitelial específica. Tal interacción desencadena diferentes funciones fisiológicas a través de la señalización celular, al suprimir o estimular ciertas respuestas que involucran tanto al sistema inmune innato como al adaptativo (Gill *et al.*, 2000; Hancock y Sahl, 2006; Oelschlaeger, 2010). El efecto culmina en la regulación de respuestas inmunes específicas (activación y proliferación de linfocitos, síntesis de anticuerpos, expresión de citocinas) y/o inespecíficas (actividad fagocítica de macrófagos, funciones de células granulocíticas y *natural killer*) (LeBlanc *et al.*, 2002; Danquah y Agyei, 2012).

Existe escasa evidencia que muestre las vías de señalización que podrían estar involucradas para que los péptidos puedan llevar a cabo su efecto inmunomodulador. Un mecanismo implicado es la vía de señalización por AMPc (adenosín monofosfato cíclico), que se sabe actúa como segundo mensajero al activar la PKA (proteína cinasa A) y/o la Epac-1 (proteína de intercambio activada directamente por AMPc). El AMPc ha mostrado efectos inhibidores sobre varias funciones en macrófagos alveolares al inhibir la fagocitosis (Aronoff *et al.*, 2004) y la producción de mediadores inflamatorios (Rowe *et al.*, 1997). Otra vía involucra la estimulación de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) y el factor nuclear NF- κ B, ya que posterior a la adición de glicomacropéptido (GMP) bovino en una línea celular de monocitos tumorales y otra de monocitos normales, se incrementó la síntesis de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-8 (Requena *et al.*, 2009).

La evidencia obtenida hasta el momento ha demostrado el efecto sobre el sistema inmune de un conjunto de secuencias que son derivados de proteínas de origen lácteo, las cuales se detallan en la Tabla I, donde se observa que los péptidos inmunomoduladores reportados derivan casi en su totalidad de la caseína (proteína) de la leche (22/23 secuencias, equivalentes al 96%), los cuales se distribuyen como sigue: α_{s1} 22%, α_{s2} 4%, β 61% y κ 9%. La secuencia restante corresponde a un péptido derivados de proteínas del suero (una secuencia, equivalente al 4%, que corresponde al péptido lactoferricina o LF).

La información anterior denota que existe escasa información sobre péptidos individuales derivados de proteínas del suero de la leche con efecto inmunomodulador. Sin embargo, se ha reportado el efecto de estas proteínas sobre el sistema inmune cuando presentan su estructura completa o de hidrolizados de las mismas que contienen un conjunto de péptidos que podrían presentar dicha actividad de forma individual (Mercier *et al.*, 2004; Prioult *et al.*, 2004; Saint-Sauveur *et al.*, 2009; Tellez *et al.*, 2010; Maldonado Galdeano *et al.*, 2011; LeBlanc *et al.*, 2002; Vinderola *et al.*, 2007).

Características estructurales y fisicoquímicas de péptidos inmunomoduladores

Características estructurales

Como se muestra en la Tabla I, los valores de la longitud de los péptidos inmunomoduladores es muy amplio y variable (2-64 aminoácidos), siendo los más frecuentes aquellos con 6-7 aminoácidos en su secuencia. El hecho que estas secuencias presenten longitudes de cadena muy variadas sugiere que los péptidos inmunomoduladores pueden tomar diferentes rutas de transporte en el epitelio intestinal una vez que son ingeridos, de lo cual dependerá su biodisponibilidad, así como el mecanismo de acción, que culminará en una bioactividad específica sobre el sistema inmune.

En relación a la composición de aminoácidos presentes en las proteínas, todos se encuentran distribuidos en el conjunto de las secuencias inmunomoduladoras, con al menos dos residuos en la secuencia que lo contiene. Esto resalta el aporte nutricional en adición a su actividad biológica. De ahí radica la importancia de incorporarlos a la dieta. Swaisgood (1992) describió la composición de aminoácidos contenidos en las principales proteínas de la leche y reportó la abundancia de los residuos prolina (Pro), ácido glutámico (Glu), glutamina, leucina (Leu) y lisina (Lys). De éstos, Pro y Glu son los aminoácidos más frecuentes en los péptidos inmunomoduladores aquí enlistados, con el 13,5 y 12,4% de residuos, respectivamente, en el total de las secuencias.

Pro está presente en prácticamente todas las secuencias de este estudio, excepto en las dos secuencias más cortas que corresponden a un di- y un tripéptido. En un estudio, Dziuba *et al.* (2009) realizaron una proteólisis simulada con herramientas informáticas de proteínas de la leche. Los resultados

TABLA I
EFECTO ESPECÍFICO DE PÉPTIDOS INMUNOMODULADORES DERIVADOS DE PROTEÍNAS DE LA LECHE

Nº	Proteína	Péptido	Enzima	Efecto inmune	Referencias
1	α_1 -CN (1-23) Isracidina (N-terminal)	RPKHPIKHQGLPQEV LNENLLRF	Q	Protección contra infección por <i>Staphylococcus aureus</i> en ratón. ↑ respuesta fagocítica en ratón infectado con <i>Candida albicans</i> Protege a vacas y carnellos contra mastitis.	Lahov y Regelson, 1996 Minkiewicz <i>et al.</i> , 2000
2	α_1 -CN (17-33)	NENLLRFFVAPFPEVFG	BAL	Inhibe a la enzima MMP-9 en células HT-29 y SW480, que se expresa durante el desarrollo de enfermedades inflamatorias de colon.	Juillerat-Jeanerret <i>et al.</i> , 2011 Chatterton <i>et al.</i> , 2013
3	α_1 -CN (59-79) Caseinofosfopéptido	QMEAESISSSEIIVPN SVEQK	T	↑ Producción de IgG en células de bazo de ratón. ↑ IgA sérico e intestinal en ratón.	Hata <i>et al.</i> , 1998
4	α_1 -CN (143-149)	AYFYPEL	NR	↑ Expresión del gen MUC5AC y la secreción de mucina en células HT29-MTX, proporcionando un efecto de barrera intestinal.	Martínez-Maqueda, 2013
5	α_1 -CN (144-149)	YFYPEL	NR	↑ Expresión del gen MUC5AC y la secreción de mucina en células HT29-MTX.	Martínez-Maqueda, 2013
6	α_2 -CN (1-32)	KNTMEHVSSEESIISQE TYKQEKMAINPSK	T	Efecto estimulador sobre células del bazo.	Hata <i>et al.</i> , 1999 Otani <i>et al.</i> , 2000
7	β -CN (1-25) Caseinofosfopéptido	RELEELNVPGEIVES LSSSEESITR	T	↑ Proliferación de células del bazo y timocitos de placas de Peyer en ratón. ↑ Producción de inmunoglobulina en células de bazo de ratón.	Hata <i>et al.</i> , 1998
8	β -CN (1-28) Caseinofosfopéptido	RELEELNVPGEIVESLS SSEESITRINK	T	↑ Proliferación de linfocitos. ↑ Niveles IgA en cultivos celulares.	Otani <i>et al.</i> , 2000
9	β -CN humana (54-59)	VEPIPY	T	↑ Fagocitosis de en células peritoneales murinas.	Parker <i>et al.</i> , 1984 Gattegno <i>et al.</i> , 1988
10	β -CN (60-66) β -casomorfin-7	YFPFGPI	NR	↓ Proliferación de linfocitos a bajas concentraciones. ↑ Proliferación de linfocitos a altas concentraciones.	Kayser y Meisel, 1996
11	β -CN (63-68)	PGPIP	NR	↑ Formación de anticuerpos. ↑ Fagocitosis de macrófagos murinos.	Migliore-Samour y Jolles, 1988
12	β -casomorfin (60-70)	YFPFGPIPNSL	NR	↓ Proliferación de linfocitos. ↑ Resistencia a infección por <i>Klebsiella pneumoniae</i> en ratón.	Migliore-Samour y Jolles, 1988
13	β -CN (98-105)	VKEAMAPK	T	Inhibe a lipooxigenasa, aumentando la permeabilidad vascular.	Rival <i>et al.</i> , 2001 Chatterton <i>et al.</i> , 2013
14	β -CN (94-123)	GVSKVKEAMAPKHKE MPFPKYVPEFTESQ	NR	↑ Expresión de los genes MUC2 y MUC4 y la secreción de mucina en células HT29-MTX. ↑ Número de células de Paneth y células calciformes (células de Goblet) en un modelo murino proporcionando un efecto de barrera intestinal.	Plaisancié <i>et al.</i> , 2013 Chatterton <i>et al.</i> , 2013
15	β -CN (169-176)	KVLPVPQK	NR	Inhibe a lipooxigenasa, enzima relacionada a procesos inflamatorios.	Rival <i>et al.</i> , 2001 Chatterton <i>et al.</i> , 2013
16	β -CN (170-176)	VLPVPQK	T	Inhibe a lipooxigenasa, enzima relacionada a procesos inflamatorios.	Rival <i>et al.</i> , 2001 Chatterton <i>et al.</i> , 2013
17	β -CN (177-183)	AVPYPQR	T	Inhibe a lipooxigenasa, enzima relacionada a procesos inflamatorios.	Rival <i>et al.</i> , 2001 Chatterton <i>et al.</i> , 2013
18	β -CN (191-193)	LLY	T	↑ Formación de anticuerpos. ↑ Fagocitosis. ↑ Proliferación de células T dependiente de antígeno.	Berthou <i>et al.</i> , 1987 Gill <i>et al.</i> , 2000 Clare y Swaisgood, 2000
19	β -CN (192-209)	LYQEPVLPVVRGPFPIIV	P-Q	Modula la proliferación de linfocitos. Efecto mitogénico sobre nódulos linfáticos y células de bazo en rata.	Coste <i>et al.</i> , 1992
20	β -casocinina-10 (193-202)	YQEPVLPVVR	NR	↑ Proliferación de linfocitos en rata a altas concentraciones.	Kayser y Meisel, 1996
21	κ -CN (38-39)	YG	NR	↑ Proliferación de linfocitos.	Kayser y Meisel, 1996 Gill <i>et al.</i> , 2000 Otani <i>et al.</i> , 2000
22	κ -CN (106-169) Glicomacropéptido	MAIPPKKNQDKTEIPTINTIAS GEPTSTPTTEAVESTVATLED SPEVIESPPEINTVQVTSTAV	Q	↑ Secreción de TNF, IL-10. Normaliza la expresión de IL-1 β , IL-17, IL-23, IL-6, TGF- β e IL-10. Presenta actividad antiinflamatoria relacionada con linfocitos Th1 y Th17.	Requena <i>et al.</i> , 2009; 2010
23	LF (17-41)	FKCRRWQWRNKKLG APSITCVRRAF	P	↑ Actividad fagocítica de neutrófilos humanos. ↓ Respuesta a IL-6 cuando se estimula con LPS. ↑ Liberación de IL-8 de leucocitos.	Miyachi <i>et al.</i> , 1998 Clare y Swaisgood, 2000

Los símbolos aquí utilizados para denotar las enzimas son Q: quimosina, BAL: enzimas derivadas de bacterias ácido-lácticas, T: tripsina, NR: no reportado o no se utilizaron enzimas debido a la utilización de péptidos sintéticos, P: pepsina.

evidenciaron que los péptidos con actividad inmunomoduladora, además de péptidos con otras bioactividades, que contienen Pro dentro de su secuencia son hidrolizados por prolin-oligopeptidasas. En referencia con lo anterior, se puede inferir que hay una gran probabilidad de que los péptidos inmunomoduladores sufran degradación por efecto de enzimas digestivas cuando son ingeridos vía oral. Esto podría suponer la posibilidad de que el mecanismo de transporte de estos péptidos es el seguido por péptidos pequeños, los cuales son transportados mediante transportadores expresados en los enterocitos. Estos datos deben considerarse para el diseño de péptidos bioactivos cuando intervengan enzimas digestivas durante su estudio. En el orden de las ideas anteriores que resaltan la importancia de Pro como elemento de importancia para efectuar una actividad biológica, se encontró que péptidos sintéticos con una longitud de al menos 15 residuos de aminoácidos, con una Pro en la posición 6 estimuló la liberación de IL-1 y TNF- α en monocitos. La sustitución de Pro en esa posición por otro residuo convirtió al péptido en inactivo (López-Moratalla *et al.*, 1994).

Glu también podría ser un aminoácido clave en la estructura de los péptidos inmunomoduladores, pues se encontró que al formar parte de diferentes glicopéptidos sintéticos puede estimular la producción de células formadoras de anticuerpos en el bazo de ratón, o si se cambian las condiciones de su estructura puede actuar como un inmunosupresor (Kondratenko *et al.*, 2006). Bajo el mismo enfoque que resalta la importancia del Glu en péptidos inmunomoduladores, López-Moratalla *et al.* (1994) demostraron el efecto sobre el sistema inmune de secuencias con aminoácidos como valina, Leu, isoLeu, glicina, alanina o Lys en la posición 2, y Glu o ácido aspártico (Asp) en la posición 11. La sustitución de residuos en la posición 2 y 11 por otros residuos aminoácidos disminuyeron las propiedades inmunomoduladoras descritas, o llevó a la pérdida de la actividad en conjunto. Glu tiene importancia fisiológica y metabólica, pues es crítico para la función celular y un importante neurotransmisor, además de actuar como precursor para la biosíntesis de glutatión, arginina (Arg) y Pro (Sapolsky, 2005; Okubo *et al.*, 2010).

Uno de los aminoácidos más frecuente en estas secuencias es serina (Ser). Aunque solo ocho de las 23 secuencias lo contienen en su estructura, está presente en elevada proporción en las mismas. Al momento no hay estudios que respalden su importancia en los péptidos bioactivos; no obstante, esta revisión resalta un patrón estructural en la región

interna de las secuencias indicadas con los números 3, 6, 7 y 8 en la Tabla I, donde sobresalen las secuencias repetidas SSSEEXI y ESXSSSEEX, (las letras S, E e I corresponden a residuos de Ser, Glu e isoLeu, y la X corresponde a Leu, isoLeu o Ser). Esta información debería estudiarse a profundidad para conocer su relación con el efecto inmunomodulador de estas secuencias.

También puede observarse en las secuencias reportadas en la Tabla 1, que en su extremo amino-terminal destaca el aminoácido tirosina (Tyr), y Lys en el extremo carboxilo-terminal, así como Arg en ambos extremos. Los extremos N-terminal y C-terminal son importantes, pues existe evidencia que sugiere que aminoácidos como Arg en la región amino- o carboxilo-terminal de péptidos bioactivos es la entidad dominante que reconocen receptores de la superficie de linfocitos y macrófagos, promoviendo su maduración y proliferación (Meisel y FitzGerald, 2003; Haque y Chand, 2008, Phelan *et al.*, 2009).

Propiedades fisicoquímicas

La forma de transporte de los péptidos bioactivos a nivel intestinal depende no solo de sus características estructurales, sino también de sus propiedades fisicoquímicas. La descripción fisicoquímica para los péptidos inmunomoduladores de esta revisión se apoyó en

herramientas informáticas del servidor Expasy (<http://www.expasy.org>), como son ProtParam y SAPS (Gasteiger *et al.*, 2005), para lo cual se contempló la ocurrencia de frecuencia de parámetros como el peso molecular (PM), número de residuos con carga negativa, número de residuos con carga positiva, promedio de hidropaticidad, punto isoeléctrico teórico (pI) y vida media (VM) (Tabla II).

Con una relación directamente proporcional a la longitud, los PM de los péptidos inmunomoduladores incluidos en esta revisión son variables y en general corresponden a estructuras <7kDa, siendo la mayoría (18 de 23) de las secuencias <3kDa; algunas (4/23) oscilan entre los 3-4 kDa y la secuencia correspondiente a GMP es de 6-7kDa. El intervalo de tamaños de los péptidos bioactivos que han sido estudiados en general van de di, tri y oligopéptidos a polipéptidos de alto PM (Hernández-Ledesma *et al.*, 2005). En un estudio donde se utilizó un modelo de digestión gastrointestinal *in vitro* se evaluó la capacidad de sobrevivencia de fracciones peptídicas de diferentes PM. Los resultados mostraron que péptidos con PM>3kDa fueron más fáciles de digerir que aquellos <3kDa (Chen y Li, 2012). Se ha reportado que los péptidos más pequeños son transportados intactos a la circulación a través de enterocitos, mediante transportadores de péptidos expresados en intestino como por ejemplo PepT1 (Matsui *et al.*, 2002,

TABLA II
RESUMEN DE PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS DE PÉPTIDOS
INMUNOMODULADORES

Nº de secuencia	PM (Da)	pI	Residuos (-)	Residuos (+)	VM (h)	Promedio de hidropaticidad
1	2764,2	9,99	Glu (2)	Arg (2), Lys (2)	1	-0,987
2	1996,3	4,53	Glu (2)	Arg (1)	1,4	0,406
3	2321,5	3,98	Glu (5)	Lys (1)	0,8	-0,781
4	902,0	4,0	Glu (1)	(0)	4,4	0,100
5	830,9	4,0	Glu (1)	(0)	2,8	-0,183
6	3669,0	5,63	Glu (5)	Lys (4)	1,3	-1,238
7	2803,0	4,12	Glu (7)	Arg (2)	1	-0,596
8	3158,4	4,36	Glu (7)	Arg (2), Lys (1)	1	-0,636
9	716,8	4	Glu (1)	(0)	100	0,117
10	789,9	5,52	(0)	(0)	2,8	0,114
11	593,6	5,96	(0)	(0)	>20	-0,700
12	1201,3	5,52	(0)	(0)	2,8	-0,287
13	873,0	8,56	Glu (1)	Lys (2)	100	-0,400
14	3417,9	8,34	Glu (4)	Lys (5)	30	-0,887
15	908,1	10,0	(0)	Lys (2)	1,3h	-0,287
16	779,9	8,72	(0)	Lys (1)	100	0,229
17	829,9	8,79	(0)	Arg (1)	4,4	-0,229
18	ND	ND	(0)	(0)	ND	ND
19	1994,4	6,0	Glu (1)	Arg (1)	5,5h	0,667
20	1157,3	6,0	Glu (1)	Arg (1)	2,8h	-0,420
21	ND	ND	(0)	(0)	ND	ND
22	6707,4	4,04	Asp (2), Glu (8)	Arg (3)	30	-0,370
23	3108,7	11,84	(0)	Arg (5), Lys (3)	1,1	-0,370

PM: peso molecular, pI: punto isoeléctrico, VM: vida media, ND: no disponible.

Foltz *et al.*, 2007), mientras que los oligopéptidos pueden ser absorbidos por transporte pasivo a través de regiones hidrofóbicas de la membrana epitelial o por vía paracelular a través de uniones estrechas (Fei *et al.*, 1994; Satake *et al.*, 2002; Shimizu, 2004; Darewicz *et al.*, 2011). La vía paracelular no es una ruta de transporte degradativa al mantener los péptidos transportados intactos y la modulación de la estructura de las uniones estrechas por sustancias de los alimentos facilita el transporte paracelular (Tsukita *et al.*, 2001). Además, los oligopéptidos también pueden ser transportados por transcitosis (transporte transcelular mediado por vesículas) (Shen *et al.*, 1992) y en algunos casos no es necesario que los péptidos sean absorbidos para ejercer sus propiedades biológicas, como sucede con algunos péptidos que se unen a colesterol y actúan en el tracto gastrointestinal (Wang y González de Mejía, 2005). Cabe resaltar que la bioactividad de péptidos demostrada en estudios *in vitro* no se traduce generalmente en efectos en estudios *in vivo*, ya que pueden influir condiciones relacionadas con la absorción, biodisponibilidad y susceptibilidad de los péptidos a la degradación por enzimas fisiológicas en fragmentos inactivos (Hernández-Ledesma *et al.*, 2005). En este sentido, se ha reportado que la bioactividad *in vitro* de péptidos con menor PM representa el mayor grado lo observado *in vivo* (Qian *et al.* 2011).

Los péptidos que han sido señalados como inmunomoduladores muestran una diversidad de cargas a pH fisiológico que oscilan entre -7 y +8, ubicándolos como péptidos catiónicos, neutros y aniónicos. Esto se debe a la variación en la presencia de Arg y Lys (residuos cargados positivamente), en relación con Asp y Glu (residuos cargados negativamente) en su secuencia. Estos péptidos presentan mayoritariamente una carga neta de 0 (30% de las secuencias) y en menor proporción presentan cargas totales de -1 y +1 (21 y 17%, respectivamente) y -7, -5, -4, +2 y +8 distribuidas para el resto.

Hasta el momento el efecto de la carga en relación a la función de los péptidos inmunomoduladores no ha sido descrito a profundidad. En un estudio en que se evaluó a la lactoferrina (LF), péptido catiónico de 25 aminoácidos aislado después de la escisión gástrica de la lactoferrina, una enzima multifuncional transportadora de hierro (Haug y Svendsen, 2001; Richardson *et al.*, 2009), se reportó que los residuos de cisteína en su estructura generaron un puente disulfuro que une la región N-terminal cargada positivamente y la región C-terminal del péptido, aunado a su alto

contenido en aminoácidos básicos que le dan una carga de +7,84 a pH 7,0. Estas características podrían estar relacionadas con su función inmunomoduladora. Además, en la bibliografía se reporta el alcance de secuencias con carácter catiónico, que permite su interacción con fosfolípidos aniónicos de la membrana bacteriana o de otros patógenos, permitiendo la interacción péptido-membrana previo a la actividad antimicrobiana (Hancock y Patrzykat, 2002; Hancock y Rozek, 2002). El pH del medio donde se encuentre el péptido es también esencial para determinar sus propiedades ácido-base, aspecto importante pues de ello dependen las propiedades químicas y la funcionalidad biológica de los péptidos.

Continuando con la descripción de las propiedades fisicoquímicas de los péptidos inmunomoduladores, se predijo el índice de hidropatía. La herramienta informática empleada para ello fue ProtScale (<http://web.expasy.org/protscale>), la cual obtiene la polaridad relativa de cada aminoácido, que se ha determinado experimentalmente midiendo el cambio de energía libre al trasladar un residuo dado de un solvente hidrofóbico al agua. La energía libre de transferencia varía desde muy exergónica para residuos cargados o polares a muy endergónica para aminoácidos con cadenas laterales aromáticas o alifáticas, y finalmente el programa suma las energías libres de transferencia para dichos residuos. La verificación se realizó en conjunto para 21 secuencias de la Tabla I, de acuerdo a la escala de Kyte-Doolittle (1982), que considera a las regiones de las secuencias analizadas con índice >0 en el promedio de hidropatía como hidrofóbicas, y aquellas con valor negativo como hidrofílicas.

La información obtenida de la Tabla II para cada péptido individual muestra que el 72% de las secuencias son hidrofílicas, siendo el restante de carácter hidrofóbico. No fue posible la verificación de dos secuencias, al no contar con la longitud mínima de cinco aminoácidos que el programa requiere. El hecho que los péptidos inmunomoduladores sean mayoritariamente de carácter hidrofílico implica una baja afinidad por las membranas de células u organelos subcelulares, por lo que este podría ser un dato útil para inferir el mecanismo de transporte de cada péptido.

Dentro de las características fisicoquímicas se incluyen también el punto isoeléctrico y la vida media, datos que pueden aportar una idea sobre la estabilidad del péptido. El punto isoeléctrico es un parámetro a considerar al momento de verificar el comportamiento de los péptidos en solución. En el punto

isoeléctrico de la proteína la solubilidad generalmente aumenta con la hidrólisis, ya que es principalmente el resultado de la reducción en peso molecular y del aumento en el número de grupos polares (Slattery y Fitzgerald, 1998; Caessens *et al.*, 1999). Por otro lado, la vida media indica el tiempo que toma a la mitad de la cantidad de proteína presente para desaparecer de una célula (Gasteiger *et al.*, 2005). En el presente trabajo, el cálculo se hace para estudios en humanos e *in vitro*. ProtParam estima la vida media contemplando el aminoácido N-terminal de la secuencia a investigar. Se ha demostrado que la identidad del residuo N-terminal de una proteína juega un papel importante para determinar su estabilidad *in vivo*, al participar en los procesos de degradación proteolítica vía ubiquitina (Gasteiger *et al.*, 2003), para lo que se han creado proteínas beta-galactosidasa por mutagénesis sitio-dirigida con diferentes aminoácidos en la región N-terminal. De este modo, las proteínas diseñadas presentaron diferentes tiempos de vida *in vivo* de más de 100h y al menos 2min, dependiendo de la naturaleza del aminoácido en la región N-terminal y del modelo experimental (levadura *in vivo*, reticulocitos de mamífero *in vitro*, *E. coli in vivo*). Así, se puede ordenar el conjunto de aminoácidos individuales respecto a la vida media que ellos confieren cuando están presentes en la región N-terminal de una proteína (Bachmair *et al.*, 1986; Gonda *et al.* 1989; Tobías *et al.*, 1991).

Conclusiones

Esta revisión describe la longitud y composición de secuencias lineales de aminoácidos con actividad inmunomoduladora demostrada en la bibliografía disponible, así como sus propiedades fisicoquímicas. La información muestra que las proteínas de la leche, principalmente las caseínas, dan lugar a la gran mayoría de péptidos inmunomoduladores estudiados a la fecha. Los péptidos inmunomoduladores revisados presentan una longitud de cadena muy variada, sugiriendo las diversas rutas de transporte que pueden tomar en el epitelio intestinal. Muestran un número elevado de residuos de Pro y Glu, aminoácidos que podrían ser clave en estas secuencias para realizar su función. La abundancia de Pro en estas secuencias sugiere una gran probabilidad de que los péptidos inmunomoduladores sufran degradación por efecto de enzimas digestivas cuando son ingeridos vía oral. Presentan secuencias repetidas ricas en Ser, mientras que Tyr y Lys están presentes en mayor proporción en los

extremos N-terminal y C-terminal, respectivamente. Se confirmó la presencia de Arg en la mayoría de estas secuencias en el extremo N-terminal o C-terminal, sugiriendo el reconocimiento de estos péptidos por receptores específicos de membrana. Los pesos moleculares corresponden a estructuras <7kDa, aunque los de mayor incidencia son aquellos <3kDa. En base a la evidencia existente se infiere que estas secuencias muestran una disminución en la probabilidad de sufrir degradación intestinal para péptidos <3kDa. Las cargas que presentan se encuentran en un intervalo entre -7 y +8. Mayoritariamente son de carácter hidrofílico, dato que sugiere una baja afinidad por las membranas de células u organelos subcelulares. Estos datos son útiles para inferir en el mecanismo de transporte, por consiguiente su biodisponibilidad, así como el mecanismo de acción, que culminará en una bioactividad específica sobre el sistema inmune. Con esta información es posible asumir que la existencia de una gran diversidad de péptidos inmunomoduladores se debe a su variada estructura química, que le confiere una diversidad de propiedades fisicoquímicas. En respuesta a ello, los mecanismos de acción son variados. Esto hace a los péptidos inmunomoduladores difíciles de estudiar, pero al mismo tiempo más interesantes. Cabe recordar que los datos fisicoquímicos de cada secuencia se obtuvieron como una etapa predictiva empleando herramientas informáticas para su análisis; por lo tanto, la información relacionada con la dinámica de estas estructuras debe ser confirmada mediante estudios *in vitro* e *in vivo* para poder soportarla, ya que dependerá de la naturaleza del modelo de estudio, la dosis, la duración del tratamiento, la genética y el estado fisiológico, entre otros. El avance logrado en el entendimiento de estas secuencias representa información que debería ser importante como un primer paso en los diseños experimentales.

REFERENCIAS

- Agyei D, Danquah MK (2012) Rethinking food-derived bioactive peptides for antimicrobial and immunomodulatory activities. *Trends Food Sci. Technol.* 23: 62-69.
- Aronoff DM, Canetti C, Peters-Golden M (2004) Prostaglandin E₂ inhibits alveolar macrophage phagocytosis through an E-prostanoid 2 receptor-mediated increase in intracellular cyclic AMP. *J. Immunol.* 173: 559-565.
- Bachmair A, Finley D and Varshavsky A (1986) In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* 234: 179-186.
- Berthou J, Migliore-Samour D, Lifchitz A, Delettré J, Floc'h F, Jollès P (1987) Immunostimulating properties and three-dimensional structure of two tripeptides from human and cow caseins. *FEBS Lett.* 218: 55-58.
- Caessens PWJR, Daamen WF, Gruppen H, Visser S, Voragen AGJ (1999) b-Lactoglobulin hydrolysis. II. Peptide identification, SH/SS exchange, and functional properties of hydrolysate fractions formed by the action of plasmin. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2980-2990.
- Chatterton DEW, Nguyen DN, Bering SB, Sangild PT (2013) Anti-inflammatory mechanisms of bioactive milk proteins in the intestine of newborns. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45: 1730-1747.
- Chen M, Li B (2012) The effect of molecular weights on the survivability of casein-derived antioxidant peptides after the simulated gastrointestinal digestion. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 16: 341-348.
- Clare DA, Swaisgood HE (2000) Bioactive milk peptides: a prospectus. *J. Dairy Sci.* 83: 1187-1195.
- Coste M, Rochet V, Leonil J, Molle D, Bouhallab S, Tome D (1992) Identification of C-terminal peptides of bovine beta-casein that enhance proliferation of rat lymphocytes. *Immunol. Lett.* 33: 41-46.
- Danquah MK, Agyei D (2012) Pharmaceutical applications of bioactive peptides. *OA Biotechnol.* 1(2):5.
- Darewicz M, Dziuba B, Minkiewicz P, Dziuba J (2011) The preventive potential of milk and colostrum proteins and protein fragments. *Food Rev. Int.* 27: 357-388.
- Dziuba M, Dziuba B, Iwaniak A (2009) Milk proteins as precursors of bioactive peptides. *Acta Sci. Pol. Technol. Alim.* 8: 71-90.
- Espeche Turbay MB, de Moreno de LeBlanc A, Perdigon G, Savoy de Giori G, Hebert, EM (2012) β-Casein hydrolysate generated by the cell envelope-associated proteinase of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* CRL 581 protects against trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice. *J. Dairy Sci.* 95: 1108-1118.
- Fei YJ, Kanai Y, Nussberger S, Ganapathy V, Leibach FH, Romero MF, Singh SK, Boron WF, Hediger MA (1994) Expression Cloning of a Mammalian Proton-Coupled Oligopeptide Transporter. *Nature* 368: 563-566.
- Foltz M, Meynen EE., Bianco V, Van Platerink C, Koning TM, Kloek J (2007) Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from a lactotriptide-enriched milk beverage are absorbed intact into the circulation. *J. Nutr.* 137: 953-958.
- Gasteiger E, Gattiker A, Hoogland C, Ivanyi I, Appel RD, Bairoch A (2003) ExPASy-the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucl. Ac. Res.* 31: 3784-3788.
- Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Duvaud S, Wilkins MR, Appel RD, Bairoch (2005) A Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. En Walker JM (Ed.) *The Proteomics Protocols Handbook*. Humana. Totowa, NJ, EEUU. pp. 571-607.
- Gattegno L, Migliore-Samour D, Saffar L, Jollès P (1988) Enhancement of phagocytic activity of human monocytic-macrophagic cells by immunostimulating peptides from human casein. *Immunol Lett.* 18: 27-31.
- Gill HS, Doull F, Rutherford KJ, Cross ML (2000) Immunoregulatory peptides in bovine milk. *Br. J. Nutr.* 84(Suppl 1): S111-117.
- Gonda DK, Bachmair A, Wunning I, Tobias JW, Lane WS, Varshavsky AJ (1989) Universality and structure of the N-end rule. *J. Biol. Chem.* 264: 16700-16712.
- Hancock REW, Patrzykat A (2002) Clinical development of cationic antimicrobial peptides: from natural to novel antibiotics. *Curr. Drug Targ. Infect. Disord.* 2: 79-83.
- Hancock REW, Rozek A (2002) Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides. *FEMS Microbiol. Lett.* 206: 143-149.
- Hancock REW, Sahl HG (2006) Antimicrobial and host defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nat. Biotechnol.* 24: 1551-1557.
- Haque E, Chand R (2008) Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins. *Eur. Food Res. Technol.* 227: 7-15.
- Hartmann R, Meisel H (2007) Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18: 163-189.
- Hata I, Higashiyama S, Otani H (1998) Identification of a phosphopeptide in bovine alpha s1-casein digest as a factor influencing proliferation and immunoglobulin production in lymphocyte cultures. *J. Dairy Res.* 65: 569-578.
- Hata IJ, Ueda H, Otani H (1999) Immunostimulatory action of a commercially available casein phosphopeptide preparation, CPP-III, in cell cultures. *Milchwissenschaft* 54: 3-7.
- Haug BE, Svendsen JS. (2001) The role of tryptophan in the antibacterial activity of a 15-residue bovine lactoferricin peptide. *J. Pept. Sci.* 7: 190-196.
- Hebert EM, Saavedra L, Ferranti P (2010) Bioactive peptides derived from casein and whey proteins. En Mozzi F, Raya R, Vignolo G (Eds) *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, Wiley. Ames, IO, EEUU. pp. 233-249.
- Hernández-Ledesma B, Miralles B, Amigo L, Ramos M, Recio I (2005) Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk. *J. Agric. Food Chem.* 85: 1041-1048.
- Juillerat-Jeanneret L, Robert MC, Juillerat MA (2011) Peptides from *Lactobacillus* hydrolysates of bovine milk caseins inhibit prolyl-peptidases of human colon cells. *J. Agric. Food Chem.* 59: 370-377.
- Kayser H, Meisel H (1996) Stimulation of human peripheral blood lymphocytes by bioactive peptides derived from bovine milk proteins. *FEBS Lett.* 383: 18-20.
- Kilara A, Panyam D (2003) Peptides from milk proteins and their properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 43: 607-633.
- Kondratenko RM, Baltina LAJr, Baltina LA, Baschenko NZ, Tolstikov GA (2006) Synthesis and immunomodulating activity of new glycopeptides of glycyrrhizic acid containing residues of L-glutamic acid. *Bioorg. Khim.* 32: 660-666.
- Korhonen H, Pihlanto A (2003) Food-derived bioactive peptides opportunities for designing future foods. *Curr. Pharm. Design* 9: 1297-1308.
- Kyte J, Doolittle RF (1982) A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J. Mol. Biol.* 157: 105-132.

- Lahov E, Regelson W (1996) Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: caseicidin, isracidin peptides. *Food Chem. Toxicol.* 34: 131-145.
- LeBlanc JG, Matar C, Valdéz JC, LeBlanc J, Perdigon G (2002) Immunomodulating effects of peptidic fractions issued from milk fermented with *Lactobacillus helveticus*. *J. Dairy Sci.* 85: 2733-2742.
- Li EW, Mine Y (2004) Immunoenhancing effects of bovine glycomacropeptide and its derivatives on the proliferative response and phagocytic activities of human macrophage like cells U937. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2704-2708.
- López-Moratalla N, López-Zabalza MJ, Subirá ML, Borrás-Cuesta F, Pérez-Mediavilla LA, Santiago E (1994) Immunomodulation induced by synthetic peptides derived from *Staphylococcus aureus* protein A. *Biochem. Biophys. Acta* 1221: 153-158.
- Maldonado Galdeano C, Novotny Núñez I, de Moreno de LeBlanc A, Carmuega E, Weill R, Perdigon G (2011) Impact of a probiotic fermented milk in the gut ecosystem and in the systemic immunity using a non-severe protein-energy-malnutrition model in mice. *BMC Gastroenterol.* 26: 11-64.
- Martínez-Maqueda D, Miralles B, Cruz-Huerta E, Recio I (2013) Casein hydrolysate and derived peptides stimulate mucin secretion and gene expression in human intestinal cells. *Int. Dairy J.* 32: 13-19.
- Matsui T, Tamaya K, Seki E, Osajima K, Matsumo K, Kawasaki T (2002) Absorption of Val-Tyr with in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity into the circulating blood system of mild hypertensive subjects. *Biol. Pharm. Bull.* 25: 1228-1230.
- Meisel H, FitzGerald RJ (2003) Biofunctional peptides from milk proteins: Mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr. Pharm. Design* 9: 1289-1295.
- Mercier A, Gauthier SF, Fliss I (2004) Immunomodulatory effects of whey proteins and their enzymatic digests. *Int. Dairy J.* 14: 175-183.
- Migliore-Samour D, Jolles P (1988) Casein, a prohormone with an immunomodulating role for the newborn? *Experientia* 44: 188-193.
- Minkiewicz P, Slangen CJ, Dziuba J, Visser S, Mioduszevska H (2000) Identification of peptides obtained via hydrolysis of bovine casein by chymosin using HPLC and mass spectrometer. *Milchwissenschaft* 55: 14-17.
- Miyauchi H, Hashimoto S, Nakajima M, Shinoda I, Fukuwatari Y, Hayasawa H (1998) Bovine lactoferrin stimulates the phagocytic activity of human neutrophils: Identification of its active domain. *Cell. Immunol.* 187: 34-37.
- Oelschlaeger TA (2010) Mechanisms of probiotic actions: a review. *Int. J. Med. Microbiol.* 300: 7-62.
- Okubo Y, Sekiya H, Namiki S, Sakamoto H, Iinuma S, Yamasaki M, Watanabe M, Hirose K, Iino M (2010) Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 107: 6526-6531.
- Otani H, Kihara Y, Minkyu P (2000) The immunoenhancing property of a dietary casein phosphopeptide preparation in mice. *Food Agric. Immunol.* 12: 165-173.
- Parker F, Migliore-Samour D, Floc'h F, Zerial A, Werner GH, Jollès J, Casaretto M, Zahn H, Jollès P (1984) Immunostimulating hexapeptide from human casein: amino acid sequence, synthesis and biological properties. *Eur. J. Biochem.* 145: 677-682.
- Phelan M, Aherne A, Fitzgerald RJ, O'Brien NM (2009) Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *Int. Dairy J.* 19: 643-654.
- Plaisancié P, Claustre J, Estienne M, Henry G, Boutrou R, Paquet A, Léonil J (2013) A novel bioactive peptide from yoghurts modulates expression of the gel-forming MUC2 mucin as well as population of goblet cells and Paneth cells along the small intestine. *J. Nutr. Biochem.* 24: 213-221.
- Prioult G, Pecquet S, Fliss I (2004) Stimulation of interleukin-10 production by acidic beta lactoglobulin-derived peptides hydrolyzed with *Lactobacillus paracasei* NCC2461 peptidases. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 11: 266-271.
- Qian B, Xing M, Cui L, Deng Y, Xu Y, Huang M, Zhang S (2011) Antioxidant, antihypertensive, and immunodulatory activities of peptide fractions from fermented skim milk with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgarius* LB340. *J. Dairy Res.* 78: 72-79.
- Requena P, Daddaoua A, Guadix E, Zarzuelo A, Suárez MD, De Medina FS, Martínez-Augustin O (2009) Bovine glycomacropeptide induces cytokine production in human monocytes through the stimulation of the MAPK and the NF- κ B signal transduction pathways. *Br. J. Pharmacol.* 157: 1232-1240.
- Requena P, González R, López-Posadas R, Abadía-Molina A, Suárez MD, Zarzuelo A, de Medina FS, Martínez-Augustin O (2010) The intestinal antiinflammatory agent glycomacropeptide has immunomodulatory actions on rat splenocytes. *Biochem. Pharmacol.* 79: 1797-1804.
- Richardson A, De Antueno R, Duncan R, Hoskin DW (2009) Intracellular delivery of bovine lactoferrin's antimicrobial core (RRWQWR) kills T-leukemia cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 388: 736-741.
- Rival SG, Boeriu CG, Wichers HJ (2001) Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *J. Agric. Food Chem.* 49: 295-302.
- Rowe J, Finlay-Jones JJ, Nicholas TE, Bowden J, Morton S, Hart PH (1997) Inability of histamine to regulate TNF- α production by human alveolar macrophages. *Am. J. Resp. Cell. Mol. Biol.* 17: 218-226.
- Sapolsky R (2005) *Biology and Human Behavior: The Neurological Origins of Individuality*. 2nd ed. The Teaching Company, Chantilly, VA, EEUU. pp. 16-17.
- Saint-Sauveur D, Gauthier, S F, Boutin Y, Montoni A, and Fliss I (2009). Effect of feeding whey peptide fractions on the immune response in the healthy and *Escherichia coli* infected mice. *Int. Dairy J.* 19: 537-544.
- Satake M, Enjoh M, Nakamura Y, Takano T, Kawamura Y, Arai S, Shimizu M (2002) Transepithelial transport of the bioactive tripeptide, Val-Pro-Pro, in human intestinal Caco-2 cell monolayers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 378-384.
- Shen WC, Wan J, Ekrami H (1992) Means to enhance penetration (3). Enhancement of polypeptide and protein absorption by macromolecular carriers via endocytosis and transcytosis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 8: 93-113.
- Shimizu M (2004) Food-derived peptides and intestinal functions. *Biofactors* 21: 43-47.
- Slattery H, Fitzgerald RJ (1998) Functional properties and bitterness of sodium caseinate hydrolysates prepared with a *Bacillus* proteinase. *J. Food Sci.* 63: 418-422.
- Sun H, Jenssen H (2012) Milk derived peptides with immune stimulating antiviral properties. En Hurlley W (Ed.) *Milk Protein*. Intech, Rijeka, Croatia. pp. 45-82.
- Swaisgood HE (1992) Advanced dairy chemistry-1: proteins. En Fox PF (Ed.) *Chemistry of the Caseins*. Elsevier, Londres, RU. pp. 63-77.
- Tellez A, Corredig M, Brovko LY, Griffiths MW (2010) Characterization of immune-active peptides obtained from milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *J. Dairy Res.* 77: 129-136.
- Tobias JW, Shrader TE, Rocap G, Varshavsky A (1991) The N-end rule in bacteria. *Science* 254: 1374-1377.
- Tsukita S, Furuse M, Itoh M (2001) Multifunctional strands in tight junctions. *Nature Rev. Mol. Cell Biol* 2: 285-293.
- Vinderola G, Matar C, Palacios J, Perdigon G (2007) Mucosal immunomodulation by the nonbacterial fraction of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389. *Int. J. Food Microbiol.* 115: 180-186.
- Wang W, Gonzalez de Mejia E (2005) A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 4: 63-78.

IMMUNO-MODULATING PEPTIDES OBTAINED FROM MILK PROTEINS

Aline Reyes-Díaz, Aarón F. González-Córdova, Adrián Hernández-Mendoza and Belinda Vallejo-Cordoba

SUMMARY

Milk proteins are the subject of numerous investigations, as they represent a supply of bioactive peptides beneficial to health. The characterization of the peptides is a fundamental step in order to understand how they exert their function. The present paper gathers, from a number of different studies, a list of peptidic sequences derived from milk proteins that have shown to have effect on the immune system. These sequences are described as to their length and aminoacid composition, as well as physical-chemical properties. The data shows that their length comprises 2 to 64 aminoacids. The most frequent ones are proline and glutamic acid. Tyrosine and lysine are

present in in the extreme N-terminal and C-terminal, respectively, while arginine is at both extremes. These peptides have molecular weights <7kDa, although those <3kDa are most abundant. Also, their charges differ widely at physiological pH, between -7 and +8, being mainly of hydrophyllic character. The analysis of the gathered information in the present review could be of importance for the determination of the structural pattern and in turn the function of immuno-modulating peptides, as at present the structure-function relationships and the mechanisms employed by this peptides to exert the final effects are not completely elucidated.

PEPTÍDEOS IMUNOMODULADORES DERIVADOS DAS PROTEÍNAS DO LEITE

Aline Reyes-Díaz, Aarón F. González-Córdova, Adrián Hernández-Mendoza e Belinda Vallejo-Cordoba

RESUMO

As proteínas do leite são objeto de numerosas investigações devido ao aporte que apresentam em benefício para a saúde como fonte de peptídeos bioativos. A caracterização dos peptídeos é um passo primordial e importante para poder entender como realizam sua função. A partir de diferentes estudos, neste trabalho foi elaborada uma lista de sequências peptídicas derivadas de proteínas do leite que têm mostrado um efeito sobre o sistema imune. Estas sequências são descritas por seu comprimento e composição de aminoácidos, assim como características físico-químicas. Os dados mostram que seu comprimento compreende entre 2 e 64 aminoácidos. Os aminoácidos mais frequentes nestas sequências são prolina e ácido glutâmico.

Destacam-se tirosina e lisina no extremo N-terminal e C-terminal, respectivamente, e arginina em ambos os extremos. Estes peptídeos apresentam pesos moleculares <7kDa, ainda que são mais abundantes aqueles <3kDa. Da mesma forma, ostentam uma diversidade de cargas a pH fisiológico, que oscilam em entre -7 e +8, sendo principalmente de carácter hidrofílico. A análise da informação recolhida nesta revisão poderia ser de importância para determinar o padrão estrutural e por sua vez a função dos peptídeos imunomoduladores, já que no momento a relação estrutura-função e os mecanismos através dos quais estes peptídeos exercem seus efeitos finais não têm sido completamente elucidados.