

WYKORZYSTANIE BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH PEPTYDÓW Z BIAŁEK ŻYWNOŚCI W PROFILAKTYCE ZESPOŁU METABOLICZNEGO

Anna Iwaniak[✉], Damir Mogut, Małgorzata Darewicz,
Monika Hryniewicz

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Streszczenie. Nieracjonalne odżywianie, stres i mała aktywność fizyczna są wymieniane jako czynniki ryzyka i rozwoju chorób współistniejących jako zespół metaboliczny. Zaliczamy do nich m.in. choroby sercowo-naczyniowe i cukrzycę typu 2. Białka żywności stanowią wartościowe składniki diety o potencjalnych właściwościach biologicznych, które mogą znaleźć zastosowanie w profilaktyce zespołu metabolicznego. Wynika to z obecności w nich peptydów aktywnych biologicznie, między innymi takich jak: inhibitorów enzymów dipeptydylopeptydazy IV, α -glukozydazy, enzymu konwertującego angiotensynę oraz peptydów antyoksydacyjnych. Ich działanie związane jest odpowiednio z regulacją stężenia glukozy we krwi, regulacją ciśnienia tętniczego krwi i utrzymaniem równowagi pro- oraz antyoksydacyjnej. W pracy scharakteryzowano peptydy o wymienionych aktywnościach biologicznych, które pochodzą z białek żywności. Białka oraz pochodzące z nich peptydy ze względu na brak zastrzeżeń natury toksykologiczno-żywnościowej stanowią potencjał w kreowaniu tzw. novel food pomocnej w profilaktyce cywilizacyjnych chorób dietozależnych.

Słowa kluczowe: bioaktywne peptydy, zespół metaboliczny, DPP-IV, ACE, α -glukozydaza, aktywność antyoksydacyjna

WSTĘP

Według raportu Światowej Organizacji Zdrowia w przyszłości wzrośnie ryzyko zachorowania na cywilizacyjne choroby dietozależne [WHO 2014]. Pomimo niezaprzeczalnych osiągnięć medycyny i farmakologii niektóre specyficzne choroby metaboliczne stają się coraz bardziej rozpowszechnione na świecie. Należy do nich zespół (syndrom) metaboliczny definiowany jako stan kliniczny charakteryzujący się współwystępowania-

[✉]ami@uwm.edu.pl

niem czynników ryzyka oraz rozwoju cukrzycy typu 2 i chorób sercowo-naczyniowych [Nakamura i in. 2014].

Najnowsze dane wskazują, że w Europie na zespół metaboliczny cierpi 36% kobiet i 38% mężczyzn [Szczepaniak i in. 2009]. Działania profilaktyczne, takie jak prowadzenie aktywnego trybu życia, odpowiednio zbilansowana i zmodyfikowana dieta mogą być pomocne w profilaktyce zespołu metabolicznego. Aby przeciwdziałać dalszemu rozpowszechnianiu występowania syndromu metabolicznego u ludzi, zalecana jest zmiana stylu życia obejmująca m.in. wysiłek fizyczny, kontrolę masy ciała, odżywianie zgodnie z zaleceniami dietetycznymi oraz stosowanie odpowiednich preparatów farmakologicznych [Pacholczyk i in. 2008]. Sojusznikiem w działaniach wspomagających profilaktykę syndromu metabolicznego mogą być biologicznie aktywne peptydy znajdujące się w białkach żywności, których właściwości zweryfikowano w badaniach *in silico*, *in vitro* i *in vivo* [Li-Chan 2015]. Peptydy bioaktywne pochodzące z białek żywności, oddziałując z odpowiednimi receptorami, mogą regulować funkcjonowanie organizmu [Kostyra i Kostyra 1992 i 2014]. Peptydy te mogą pełnić m.in. następujące funkcje: obniżać poziom glukozy we krwi, redukować ciśnienie krwi czy wykazywać efekt przeciwtleniający [Minkiewicz i in. 2008].

Celem pracy jest charakterystyka peptydów bioaktywnych odgrywających istotną rolę w profilaktyce zespołu metabolicznego, tj. inhibitorów enzymów: dipeptydylopeptydazy IV (in. inhibitorów DPP-IV – EC 3.4.14.5), konwertazy angiotensyny (in. inhibitorów ACE-EC 3.4.15.1) i α -glukozydazy (EC 3.2.1.20) oraz peptydów antyoksydacyjnych.

Peptydy – inhibitory dipeptydylopeptydazy IV

Cukrzyca typu 2 należy do chorób, których leczenie wymaga interwencji przez cały okres jej trwania. Działania w tym zakresie polegają np. na obniżeniu poziomu glukozy we krwi poprzez m.in. stosowanie racjonalnej diety, wzmożonej aktywności fizycznej oraz regularne aplikowanie leków. Według danych literaturowych, przykładem związków mających wpływ na kontrolę poziomu cukru we krwi są m.in. inhibitory dipeptydylopeptydazy IV, których funkcja polega na potęgowaniu efektu inkretynowego, tj. na sekrecji inkretyn z układu pokarmowego do krwiobiegu pod wpływem spożytego posiłku [Mkele 2013]. Efekt ten odgrywa kluczową rolę w regulacji metabolizmu glukozy u osób zdrowych i jest odpowiedzialny za 50–70% ogółu odpowiedzi insulinowej na posiłek. Inkretyny uczestniczą w uwalnianiu insuliny oraz glukagonu przez trzustkę w sposób zależny od ilości glukozy we krwi [Matuszek i in. 2007]. Do inkretyn zaliczamy endogenny hormon GLP-1 (ang. glucagon-like peptide-1), który stymuluje uwalnianie insuliny z β komórek trzustki, redukuje sekrecję glukagonu z α komórek wysp trzustkowych, sprzyja poprawie wrażliwości na insulinę, opóźnia opróżnianie żołądka, zmniejsza zapotrzebowanie na pokarm, zwiększa masę β komórek trzustki oraz przedłuża ich funkcjonowanie [Matuszek i in. 2007, Mkele 2013]. U organizmów znajdujących się w stanie głodu, zawartość GLP-1 utrzymuje się na niskim poziomie, wzrasta zaś gwałtownie po spożyciu posiłku. Okres półtrwania tego hormonu wynosi jedynie 1–2 minuty, co jest wynikiem działania dipeptydylopeptydazy IV [Jasik 2010], dla której inkretyny są najważniejszym substratem [Lan i in. 2014].

Dipeptydylopeptydaza IV jest proteazą serynową zaliczaną do glikoprotein. Powoduje ona degradację peptydów, tj. GLP-1 oraz GIP (ang. gastric inhibitory peptide) poprzez odłączenie reszt alaniny lub proliny znajdujących się na przedostatnim miejscu, licząc od N-końca łańcucha substratu białkowego [McIntosh i in. 2005, Kluz i Adamiec 2006, Wasilewska i in. 2011]. Proteolityczne uwolnienie dipeptydu z GLP-1 pod wpływem działania DPP-IV powoduje jego inaktywację, a tym samym hamuje działanie efektu inkretynowego, przyczyniając się do wzrostu stężenia glukozy we krwi. Zatem działanie inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV polega na hamowaniu enzymatycznej proteolizy GLP-1 i tym samym intensyfikowaniu efektu inkretynowego [Jasik 2010]. Działaniu inhibitorów DPP-IV przypisywana jest poprawa wrażliwości β komórek trzustki na glukozę, co skutkuje wydzielaniem większej ilości insuliny przy wyższym stężeniu glukozy. Ponadto inhibitory DPP-IV zwiększają wrażliwość α komórek trzustki na glukozę, co prowadzi do wydzielania glukagonu. W czasie hiperglikemii poprawie ulega stosunek insuliny do glukagonu, co przekłada się na mniejsze wytwarzanie glukozy przez wątrobę. Inhibitory DPP-IV wpływają zatem na zmniejszenie glikemii [Jasik 2010].

Białka żywności mogą być źródłem peptydów o aktywności inhibitora dipeptydylopeptydazy IV. Źródłem peptydów – inhibitorów DPP-IV mogą być hydrolizaty otrzymane z białek m.in.: mleka [Nongonierma i FitzGerald 2013], ryb [Li-Chan i in. 2012], wieprzowiny [Hsu i in. 2013], jaj kurzych [Amerongen i in. 2009], szarłat [Velarde-Salcedo i in. 2013]. Najbardziej aktywnym peptydowym inhibitorem DPP-IV otrzymanym z białek żywności jest peptyd o sekwencji Ile-Pro-Ile [Umezawa i in. 1984].

W badaniach wykazano, że peptyd o sekwencji Ile-Pro-Ala-Val-Phe-Lys-Ile-Asp-Ala, pochodzący z krowiej β -laktoglobuliny poddanej działaniu pepsyny, hamował działanie ludzkiej dipeptydylopeptydazy IV. Peptydowy inhibitor DPP-IV o sekwencji Leu-Ala-His-Lys-Ala-Leu-Cys-Ser-Glu-Lys wyizolowano z α -laktoalbuminy hydrolizowanej pepsyną. Wymienione peptydy były odpowiednio inhibitorami kompetycyjnymi oraz niekompetycyjnymi w stosunku do ludzkiej dipeptydylopeptydazy IV [Lacroix i Li-Chan 2015].

Gallego i in. [2014] wykazali, że peptydy pochodzące z ekstraktów pozyskanych z dojrzewającej szynki hiszpańskiej (serrano) pełniły rolę inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV. Były to następujące sekwencje peptydowe: Lys-Ala, Ala-Ala, Gly-Pro, Pro-Lys, Ala-Ala-Ala-Thr-Pro, Ala-Ala-Ala-Ala-Gly, Ala-Leu-Gly-Gly-Ala oraz Lys-Val-Ser-Gly-Met [Gallego i in. 2014].

Huang i in. [2012] zidentyfikowali trzy inhibitory DPP-IV w hydrolizatach białek tuńczyka otrzymanych w wyniku działania dwóch preparatów enzymatycznych: proteazy XXIII z *Aspergillus mellus* oraz orientazy 90N z *Bacillus subtilis*. Były to następujące sekwencje peptydowe: Pro-Gly-Val-Gly-Gly-Pro-Leu-Gly-Pro-Ile-Gly-Pro-Cys-Tyr-Glu, Cys-Ala-Tyr-Gln-Trp-Gln-Arg-Pro-Val-Asp-Arg-Ile-Arg oraz Pro-Ala-Cys-Gly-Gly-Phe-Try-Ile-Ser-Gly-Arg-Pro-Gly. Dowiedli oni również, że podanie tych peptydów hydrolizie odpowiadającej trawieniu żołądkowemu znacznie zwiększało ich aktywność hamującą wobec DPP-IV [Huang i in. 2012].

Do inhibitorów DPP-IV oferowanych na rynku należy preparat o nazwie NWT-03 będący hydrolizatem lizozymu jaja kurzego, który poza wymienioną aktywnością wykazywał także efekt inhibicji enzymu konwertującego angiotensynę (ACE, EC 3.4.15.1).

Badania na szczurach rasy Zucker obciążonych otyłością cukrzycową (ang. Zucker Diabetic Fatty rats, ZDF rats) wykazały, że codzienne podawanie wymienionego preparatu przez 15 tygodni w dawce $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ masy ciała obniżało poziom glukozy we krwi. Zdolność inhibicji dipeptydylopeptydazy IV NWT-03 wyrażona jako stężenie preparatu odpowiadające połowie jego maksymalnej aktywności (IC_{50}) wynosiła $1 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ [Wang i in. 2012].

Biorąc pod uwagę potencjał peptydów jako związków hamujących działanie DPP-IV, wiele badań na ich temat dotyczy pozyskiwania ich drogą syntezy. Przykładem syntetycznych inhibitorów DPP-IV są następujące sekwencje: **Ala-Ala**, Asp-Ala, Gly-Ala, **Lys-Ala**, Asn-Ala, Pro-Ala, Gln-Ala, Ser-Ala, Thr-Ala, Ala-Pro, Asp-Pro, Phe-Pro, Asn-Pro, Pro-Pro, Ser-Pro, Glu-Ala, Phe-Ala, His-Ala, Met-Ala, Arg-Ala, Tyr-Ala, Glu-Pro, **Gly-Pro**, Arg-Pro, Thr-Pro, Ile-Ala, Leu-Ala, Val-Ala, Lys-Pro, Gln-Pro, Tyr-Pro, Trp-Ala, Ile-Pro, Val-Pro, Trp-Pro. Stopień inhibicji wymienionych peptydów mieścił się w zakresie 25–75% [Hikida i in. 2013]. Peptydy zaznaczone czcionką pogrubioną zostały zidentyfikowane w białkach żywności [Gallego i in. 2014].

Peptydy – inhibitory – glukozydazy

α -Glukozydaza (EC 3.2.1.20) jest egzokarbohydrolazą hydrolizującą wiązania glikozydowe węglowodanów złożonych powodując uwalnianie monosacharydów wchłanianych do krwiobiegu. Powstałe monocukry są podstawową przyczyną wzrostu poziomu glukozy we krwi. Jednym z zaradczych sposobów przeciwdziałania cukrzycy typu 2 jest redukcja hiperglikemii poposiłkowej poprzez opóźnianie wchłaniania glukozy m.in. dzięki działaniu inhibitorów α -glukozydazy [Patil i in. 2015]. Działanie inhibitora na α -glukozydazę w konsekwencji powoduje wydłużenie czasu trawienia węglowodanów. Mimo że mechanizm działania peptydowych inhibitorów α -glukozydazy nie został w pełni poznany, uważa się, że peptydy o tej aktywności wykazują duży potencjał profilaktyczny we wspomaganiu leczenia cukrzycy typu 2 [Patil i in. 2015].

Wykazano, że białka jaj kurzych poddane działaniu preparatu Alkalazy (Novozymes, $2,4 \text{ AU} \cdot \text{kg}^{-1}$) mogą być prekursorami peptydów inhibujących działanie α -glukozydazy. Były to sekwencje następujących peptydów: Arg-Val-Pro-Ser-Leu-Met, Thr-Pro-Ser-Pro-Arg, Asp-Leu-Gln-Gly-Lys, Ala-Gly-Leu-Ala-Pro-Tyr, Arg-Val-Pro-Ser-Leu, Asp-His-Pro-Phe-Leu-Phe, His-Ala-Glu-Ile-Asn, Gln-Ile-Gln-Leu-Phe [Yu i in. 2011]. Dalsze badania białek jaja kurzego jako źródła inhibitorów α -glukozydazy pozwoliły na identyfikację kolejnych sekwencji peptydowych o tej aktywności. Były to peptydy pozyskane z albuminy białka jaja kurzego poddanej działaniu Alkalazy o sekwencjach: Lys-Leu-Pro-Gly-Phe, Glu-Val-Ser-Gly-Leu, Gln-Ile-Thr-Lys-Pro-Asn, Ala-Glu-Ala-Gly-Val-Asp, Glu-Ala-Gly-Val-Asp, Leu-Glu-Pro-Ile-Asn-Phe, Ala-Asn-Glu-Asn-Ile-Phe oraz Asn-Val-Leu-Gln-Pro-Ser [Yu i in. 2012].

Hydrolizaty białek serwatkowych również wykazywały zdolność hamowania α -glukozydazy. Uzyskano je, poddając hydrolizie koncentrat oraz izolat białek serwatkowych. Enzymami zastosowanymi do hydrolizy były odpowiednio proteaza serynowa oraz pepsyna [Babji i in. 2014, Lacroix i Li-Chan 2015].

Peptydy – inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę

Enzym konwertujący angiotensynę (ang. angiotensin converting enzyme, ACE) (EC 3.4.15.1) jest dipeptydylokarboksypeptydazą odpowiedzialną za przekształcenie angiotensyny I (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu) do angiotensyny II (Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe), czego efektem fizjologicznym jest zwężenie naczyń krwionośnych i podwyższenie ciśnienia krwi. Peptydowe inhibitory ACE uniemożliwiają zamianę angiotensyny I w II, co zapobiega zwężeniu naczyń krwionośnych, a w konsekwencji zapobiega podwyższeniu ciśnienia krwi [Iwaniak i in. 2013].

Białka żywności są bogatym źródłem biologicznie aktywnych peptydowych inhibitorów ACE. Peptydy – inhibitory ACE wyizolowano z białek m.in.: mleka [Pripp 2008], jaj [Hoppe 2010], mięsa [Ryan i in. 2011], ryb [Harnedy i FitzGerald 2012]. Wiele wyników dotyczących działania przeciwnadciśnieniowego peptydowych inhibitorów ACE potwierdzono na ludziach i/lub szczurach z wrodzonym nadciśnieniem tętniczym (ang. SHR, spontaneously hypertensive rats) [Iwaniak i in. 2014a]. Za najbogatsze źródło inhibitorów ACE uznawane są białka mleka, a niektóre z wyizolowanych peptydów mleka stanowią składniki żywności funkcjonalnej. Należą do nich sekwencje Val-Pro-Pro i Ile-Pro-Pro pochodzące z kazeiny mleka różnych gatunków zwierząt. Wymienione tripeptydy są składnikiem mlecznych napojów fermentowanych o nazwie Calpis (Calpis Food Industry Co., Ltd., Tokyo, Japonia) [Silva i Malcata 2005] oraz Evolus (Valio, Finlandia) [Darewicz i in. 2011]. Wykazano, że codzienne spożywanie 95 ml napoju Calpis oraz 150 ml napoju Evolus przez okres 4–8 tygodni znacznie obniżało ciśnienie krwi u ludzi [Silva i Malcata 2005, Darewicz i in. 2011]. Do innych mleczarskich produktów posiadających właściwości obniżania ciśnienia krwi należy BioZate (Davisco Foods International, USA) zawierający peptydowe fragmenty pochodzące z β -laktoglobuliny mleka krowiego oraz Casein-DP (Kanebo, Ltd., Japonia) zawierający fragment kazeiny- α_{s1} o następującej sekwencji aminokwasowej: Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys [Haque i Chand 2008]. Peptydy hamujące działanie ACE zidentyfikowano w japońskiej potrawie o nazwie „Katsuo-bushi”, mającej status FOSHU (ang. Food for Specified Health Uses). Jest to potrawa na bazie wędzonego tuńczyka, która zawiera peptyd o sekwencji Leu-Lys-Pro-Asp-Met. Badania potwierdziły, że spożywanie 1,5 g Katsuo-bushi dziennie powodowało spadek skurczowego ciśnienia krwi u ludzi o 12,5 mm Hg [Ryan i in. 2011]. Przemysł farmakologiczny oferuje preparat o nazwie Vasotensin (Metagenics, Aliso Viejo, Kalifornia, USA), zawierający w swoim składzie hydrolizat białek ryb. Innym produktem żywnościowym o statusie FOSHU obniżającym ciśnienie krwi jest Valtyron (Senmi Equis Co., Ltd., Ohzu-City, Japonia). Preparat ten zawiera sekwencję peptydową Val-Tre pozyskaną z białek tkanki mięśniowej sardynek [Harnedy i FitzGerald 2012]. Peptydy – inhibitory ACE o potwierdzonym działaniu na szczurach lub ludziach zidentyfikowano m.in. w wędzonej szynce hiszpańskiej oraz hydrolizatach miozyny wieprzowej. Ekstrakty wodne białek szynki hiszpańskiej zawierały sekwencję Ala-Ala-Ala-Tre-Pro, a podawanie szczurom dawki ekstraktu w stężeniu 1 mg·cm⁻³ wody przez 8 tygodni powodowało redukcję ciśnienia skurczowego krwi o 62 mm Hg [Darewicz i in. 2015]. Udowodniono, że termolizynowe hydrolizaty łańcucha ciężkiego miozyny wieprzowej są źródłem pentapeptydów o sekwencjach Met-Asn-Pro-Pro-Lys oraz Ile-Tre-Tre-Asn-Pro. Karmienie szczurów dawką 1 mg·kg⁻¹ masy ciała wymienio-

nych peptydów powodowało redukcję ciśnienia krwi o odpowiednio 23,4 oraz 21 mm Hg [Nakashima i in. 2002, Darewicz i in. 2015]. Efekt obniżania ciśnienia krwi pod wpływem peptydów został potwierdzony również w badaniach na myszach. Przykładem jest sekwencja Ile-Val-Tyr wyizolowana z kielków pszenicy poddanych hydrolizie z udziałem proteazy alkalicznej z *Bacillus licheniformis*. Podawanie myszom dawki peptydu $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ masy ciała obniżało tętnicze ciśnienie krwi o 19,2 mm Hg. Efekt redukcji ciśnienia obserwowano już po 8 minutach od momentu iniekcji. W wyniku dalszych przemian metabolicznych, peptyd Ile-Val-Tyr ulegał hydrolizie do sekwencji Val-Tyr znanej także jako inhibitor ACE [Matsui i in. 2000].

Tematyka związana z peptydowymi inhibitorami ACE jest zagadnieniem rozległym i wciąż aktualizowanym, dlatego w niniejszej pracy posłużono się zaledwie kilkoma przykładami peptydów o klinicznie potwierdzonym efekcie fizjologicznym. Na świecie pojawia się wiele prac naukowych dotyczących inhibitorów ACE pozyskiwanych z białek zwierzęcych, roślinnych oraz pochodzenia mikrobiologicznego. Najnowsze badania wskazują, że peptydowe inhibitory ACE to najliczniej poznana grupa peptydów, a białka żywności należą do ich prekursorów. Zagadnienie to jest wieloaspektowe i obejmuje m.in.: źródło pochodzenia peptydów, sposób ich pozyskiwania, poprawę bioaktywności gotowych produktów poprzez wzbogacanie ich o peptydy o udowodnionej aktywności fizjologicznej [Iwaniak i in. 2014b]. Należy pamiętać, że peptydowe inhibitory ACE nie zastąpią leków, niemniej jako składniki diety mogą wspomagać leczenie nadciśnienia.

Peptydy antyoksydacyjne

Zaburzenie równowagi pomiędzy reaktywnymi formami tlenu (RFT) powstającymi w komórkach a możliwością ich usuwania przez organizm powoduje powstawanie tzw. stresu oksydacyjnego. W wyniku takiego stresu powstają nadtlenki i wolne rodniki, które powodują zmiany w strukturach białek, zarówno kwasów tłuszczowych, jak i kwasów nukleinowych. Zmiany te stanowią przyczynę powstawania wielu chorób cywilizacyjnych, jak na przykład: układu krążenia, cukrzycy czy nowotworów [Kulbacka i in. 2009]. Aktywność antyoksydacyjną wykazują hydrolizaty wielu białek roślinnych oraz zwierzęcych [Borawska i in. 2014]. Należą do nich np. hydrolizaty białek otrębów ryżowych, słonecznika, gryki, kukurydzy, żółtek jaj, makreli, kefiru mlecznego oraz sojowego [Sarmadi i Ismail 2010]. Przykładem peptydów pozyskanych z hydrolizatów białek żywności są peptydy pochodzące z białek mięsa wieprzowego poddanego działaniu papainy: Asp-Ser-Gly-Val-Tre (źródło: aktyna), Asp-Ala-Gln-Glu-Lys-Leu-Glu (źródło: tropomiozyna), Glu-Glu-Leu-Asp-Asn-Ala-Leu-Asn (źródło: tropomiozyna) oraz Val-Pro-Ser-Ile-Asp-Asp-Gln-Glu-Glu-Leu-Met (źródło: łańcuch ciężki miozyny) [Di Bernardini i in. 2011]. W swoich badaniach Abu-Salem i in. [2013] wykazali, że hydrolizaty białek soi wykazywały największą aktywność antyoksydacyjną względem rodnika DPPH. Właściwościami antyoksydacyjnymi charakteryzowała się sekwencja peptydowa Val-Lys-Glu-Ala-Met-Ala-Pro-Lys uwolniona z β -kazeiny mleka krowiego pod wpływem działania proteinazy *Lactobacillus rhamnosus*, a następnie pepsyny oraz preparatu Corolase PP [Korhonen i Pihlanto 2006].

Wykazano, że peptyd o sekwencji Leu-Lys-Gln-Glu-Leu-Glu-Asp-Leu-Leu-Glu-Lys-Gln-Glu wyizolowany z białek ostryg (*Crassostrea gigas*) wykazywał większą aktyw-

ność antyoksydacyjną niż α -tokoferol i przeciwdziałał procesom peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Prawidłowość tę, związaną z wyższym potencjałem antyoksydacyjnym w porównaniu do α -tokoferolu, zaobserwowano także wobec peptydów pochodzących z innych owoców morza [Kim i Wijesekara 2010]. Innym przykładem peptydów o właściwościach antyoksydacyjnych jest sekwencja peptydowa Val-Gly-Asp-Ile (źródło: koncentrat białek ciecierzycy poddany hydrolizie preparatem Alkalazą) [Ghribi i in. 2015] oraz Leu-Pro-His-Ser-Gly-Tyr (źródło: białko wręgi mintaja poddane działaniu proteazy pochodzącej z jelit mintaja) [Je i in. 2005].

Niektóre peptydy antyoksydacyjne wykazują działanie wielofunkcyjne w aspekcie wspomaganie profilaktyki zespołu metabolicznego. Przykładem są peptydy pozyskane z białek żółtka jaja kurzego stanowiących produkty uboczne ekstrakcji fosfolipidów za pomocą etanolu. Pod wpływem działania pepsyny z produktów ubocznych otrzymano peptydy o strukturze: Tyr-Ile-Asn-Gln-Met-Pro-Gln-Lys-Ser-Arg-Glu, Tyr-Ile-Glu-Ala-Val-Asn-Lys-Val-Ser-Pro-Arg-Ala-Gly-Gln-Phe, Tyr-Ile-Asn-Gln-Met-Pro-Gln-Lys-Ser-Arg-Glu-Ala, Val-Tre-Gly-Arg-Phe-Ala-Gly-His-Pro-Ala-Ala-Gln. Peptydy te wykazywały zdolność inhibicji: dipeptydylopeptydazy IV, enzymu konwertującego angiotensynę oraz α -glukozydazy, a ponadto charakteryzowały się aktywnością antyoksydacyjną [Zambrowicz i in. 2015].

PODSUMOWANIE

Stres, nieracjonalna dieta oraz brak aktywności fizycznej mogą przyczyniać się do zwiększenia ryzyka zapadalności na choroby cywilizacyjne. Poza badaniami medycznymi i farmakologicznymi, naukowcy prowadzą coraz więcej badań nad składnikami żywności w aspekcie profilaktyki chorób cywilizacyjnych, w tym zespołu metabolicznego. Do takich składników zaliczane są peptydy bioaktywne o aktywności inhibitora enzymów DPP-IV, ACE, α -glukozydazy oraz aktywności antyoksydacyjnej. Niektóre z peptydów aktualnie obecnych na rynku produktów/preparatów żywnościowych mają naukowo udokumentowany prozdrowotny wpływ na organizm (np. peptydowe inhibitory ACE). Pozostałe są obiektem badań eksperymentalnych, a wyniki dotyczące ich aktywności biologicznej są obiecujące. Białka żywności stanowią podstawowy składnik diety, a z punktu widzenia dietetyków, technologów żywności można je uznać za relatywnie łatwo dostępny surowiec do produkcji peptydów aktywnych biologicznie. Istnieją peptydy o działaniu wielofunkcyjnym. Takie peptydy mogą być wyzwaniem dla naukowców zajmujących się wzbogacaniem żywności w bioaktywne peptydy i kreowaniem tzw. novel food. Pacjenci cierpiący na zespół metaboliczny powinni mieć świadomość, że choć sama dieta nie zastąpi leczenia farmakologicznego, to peptydy pochodzące z białek żywności mogą wspomagać działania terapeutyczne związane z zespołem metabolicznym.

Podziękowania

Pracę sfinansowano ze środków Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (nr tematu: 17.610.014-300).

LITERATURA

- Abu-Salem F.M., Mahmoud M.H., Gibriel Y., Abou-Arab A., 2013. Characterization of antioxidant peptides of soybean protein hydrolysate. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 79, 249–253.
- Amerongen A., van Beelen M.J.C., Wolbers L.A.M., Gilst W.H., van Buikema J.H., Nelissen J.W.P.M., 2009. Egg protein hydrolysates. Pobrano z: <http://edepot.wur.nl/53713>.
- Babij K., Dąbrowska A., Szołtysik M., Pokora M., Zambrowicz A., Chrzanowska J., 2014. The evaluation of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV, α -glucosidase and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of whey proteins hydrolyzed with serine protease isolated from Asian Pumpkin (*Cucurbita ficifolia*). *Int. J. Pept. Res. Ther.* 20, 483–491.
- Di Bernardini R., Harnedy P., Bolton D., Kerry J., O'Neill E., Mullen A.M., Hayes M., 2011. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chem.* 124, 1296–1307.
- Borawska J., Darewicz M., Iwaniak A., Minkiewicz P., 2014. Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności jako czynniki prewencji wybranych chorób dietozależnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2, 230–236.
- Darewicz M., Borawska J., Minkiewicz P., Iwaniak A., Starowicz P., 2015. Biologicznie aktywne peptydy uwalniane z białek żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 21, 26–41.
- 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.
- Gallego M., Aristoy M.C., Toldrá F., 2014. Dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Meat Sci.* 96, 757–761.
- Ghribi A.M., Sila A., Przybylski R., Nedjar-Arroume N., Makhoulf I., Blecker C., Attia H., Dhulster P., Bougateff A., Besbes S., 2015. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate. *J. Funct. Foods* 19, 1029–1035.
- Harnedy P.A., FitzGerald R.J., 2012. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *J. Funct. Foods* 4, 6–24.
- Hoppe A., 2010. Examination of egg white proteins and effects of high pressure on select physical and functional properties. *Dissertations & Theses in Food Science and Technology. University of Nebraska. Paper No 7.* Pobrano z: <http://digitalcommons.unl.edu/foodsci-diss/7/>.
- Hikida A., Ito K., Motoyama T., Kato R., Kawarasaki Y., 2013. Systematic analysis of a dipeptide library for inhibitor development using human dipeptidyl peptidase IV produced by a *Saccharomyces cerevisiae* system. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 430, 1217–1222.
- Hsu K.-C., Tung Y.-S., Huang S.-L., Jao C.-L., 2013. Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity of peptides in porcine skin gelatin hydrolysates. W: *Bioactive Food Peptides in Health and Disease. Taiwan: InTech.* Pobrano z: <http://www.intechopen.com/books/bioactive-food-peptides-in-health-and-disease/dipeptidyl-peptidase-iv-inhibitory-activity-of-peptides-in-porcine-skin-gelatin-hydrolysates>.
- Huang S., Jao C., Ho K., Hsu K., 2012. Dipeptidyl-peptidase IV inhibitory activity of peptides derived from tuna cooking juice hydrolysates. *Peptides* 35, 114–121.
- Iwaniak A., Darewicz M., Minkiewicz P., 2013. Peptydowe inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę jako składniki żywności wspomagające terapię nadciśnienia tętniczego. *Lekarz Wojskowy* 92(1), 89–95.
- Iwaniak A., Darewicz M., Minkiewicz P., Protasiewicz M., Borawska J., 2014a. Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności jako składniki diety o właściwościach kardioprotekcyjnych. *Pol. Merkur. Lek.* 36, 403–406.

- Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M., 2014b. Food-originating ACE inhibitors, including anti-hypertensive peptides, as preventive food components in blood pressure reduction. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13(2), 114–134.
- Jasik M., 2010. Inhibitory dipeptydylopeptydazy 4 (DPP-4) ze szczególnym uwzględnieniem sytuacji. *Wybrane Probl. Klin.* 1, 220–229.
- Je J.-Y., Park P.-J., Kim S.-K., 2005. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. *Food Res. Int.* 38, 45–50.
- Kim S.K., Wijesekara I., 2010. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. *J. Funct. Foods* 2, 1–9.
- Kluz J., Adamiec R., 2006. New therapeutic approach in patients with type 2 diabetes based on glucagon-like peptide 1 (GLP-1) and gastric inhibitory peptide (GIP). *Post. Hig. Med. Dośw.* 60, 15–23.
- Korhonen H., Pihlanto A., 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* 16, 945–960.
- Kostyra H., Kostyra E., 1992. Biologically active peptides derived from food proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 4, 5–12.
- Kostyra H., Kostyra E., 2014. Bioaktywne peptydy uwalniane z białek żywności. W: *Żywność prozdrowotna*, Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 235–249.
- Kulbacka J., Saczko J., Chwiłkowska A., 2009. Oxidative stress in cells damage processes. *Pol. Merkur. Lekarski* 27, 44–47.
- Lacroix I.M.E., Li-Chan E.C.Y., 2015. Comparison of the susceptibility of porcine and human dipeptidyl-peptidase IV to inhibition by protein-derived peptides. *Peptides* 69, 19–25.
- Lan V.T.T., Ito K., Ito S., Kawarasaki Y., 2014. Trp-Arg-Xaa tripeptides act as uncompetitive-type inhibitors of human dipeptidyl peptidase IV. *Peptides* 54, 166–170.
- Li-Chan E.C.Y., 2015. Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Curr. Opin. Food Sci.* 1, 28–37.
- Li-Chan E.C.Y., Hunag S.-L., Jao C.-L., Ho K.-P., Hsu K.-C., 2012. Peptides derived from Atlantic salmon skin gelatin as dipeptidyl-peptidase IV inhibitors. *J. Agric. Food Chem.* 60, 973–978.
- Matsui T., Li Ch.-H., Tanaka T., Maki T., Osajima Y., Matsumoto K., 2000. Depressor effect of wheat germ hydrolysate and its novel angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide, Ile-Val-Tyr, and the metabolism in rat and human plasma. *Biol. Pharm. Bull.* 23(4), 427–431.
- Matuszek B., Lenart-Lipińska M., Nowakowski A., 2007. Hormony inkretynowe w leczeniu cukrzycy typu 2 Część I: Wpływ insulinotropowych hormonów jelitowych (inkretyn) na metabolizm glukozy. *Endokrynol. Pol.* 58, 522–528.
- McIntosh C.H.S., Demuth H.-U., Pospisilik J.A., Pederson R., 2005. Dipeptidyl peptidase IV inhibitors: how do they work as new antidiabetic agents? *Regul. Pept.* 128, 159–65.
- Minkiewicz P., Dziuba J., Darewicz M., Iwaniak A., Dziuba M., Nałęcz D., 2008. Food peptidomics. *Food Technol. Biotechnol.* 46, 1–10.
- Mkele G., 2013. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Their role in the management of type 2 diabetes. *S. Afr. Fam. Pr.* 55, 508–510.
- Nakamura K., Oe H., Kihara H., Shimada K., Fukuda S., Watanabe K., Takagi T., Yunoki K., i in., 2014. DPP-4 inhibitor and alpha-glucosidase inhibitor equally improve endothelial function in patients with type 2 diabetes: EDGE study. *Cardiovasc. Diabetol.* 13: 110. Pobrano z: <http://www.cardiab.com/content/13/1/110>.

- Nakashima Y., Arihara K., Sasaki A., Mio H., Ishikawa S., Itoh M., 2002. Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. *J. Food Sci.* 67, 434–437.
- Nongonierma A.B., FitzGerald R.J., 2013. Dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidative properties of milk protein-derived dipeptides and hydrolysates. *Peptides* 39, 157–63.
- Pacholczyk M., Ferenc T., Kowalski J., 2008. Zespół metaboliczny. Część III: postępowanie prewencyjne i terapeutyczne w zespole metabolicznym. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 62, 559–570.
- Patil P., Mandal S., Tomar S.K., Anand S., 2015. Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes. *Eur. J. Nutr.* 54, 863–880.
- Prupp A.H., 2008. Effect of peptides derived from food proteins on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Food Nutr. Res.* 52, 1–9.
- Ryan J.T., Ross R.P., Bolton D., Fitzgerald G.F., Stanton C., 2011. Bioactive peptides from muscle sources: Meat and fish. *Nutrients* 3, 765–791.
- Sarmadi B.H., Ismail A., 2010. Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides* 31, 1949–56.
- Silva S. V., Malcata F.X., 2005. Caseins as source of bioactive peptides. *Int. Dairy J.* 15, 1–15.
- Szczepaniak A., Czekalska B., Glura M., Stankowiak-Kulpa H., Grzymisławski M., 2009. The prevalence of metabolic syndrome and associated signs in 30–65 years old people from lubuskie province. *Now. Lek.* 78, 3–7.
- Umezawa H., Aoyagi T., Ogawa K., Naganawa H., Hamada M., Takeuchi T., 1984. Diprotins A and B, inhibitors of dipeptidyl aminopeptidase IV, produced by bacteria. *J. Antibiot. (Tokyo)* 37, 422–425.
- Velarde-Salcedo A.J., Barrera-Pacheco A., Lara-González S., Montero-Morán G.M., Díaz-Gois A., González de Mejia E., Barba de la Rosa A.P., 2013. In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus L.*) proteins. *Food Chem.* 136, 758–64.
- Wang Y., Landheer S., van Gilst W.H., van Amerongen A., Hammes H.P., Henning R.H., Deelman L.E., Buikema H., 2012. Attenuation of renovascular damage in Zucker diabetic fatty rat by NWT-03, an egg protein hydrolysate with ACE- and DPP4-inhibitory activity. *PLoS One* 7, 1–11.
- Wasilewska J., Sienkiewicz-Szlapka E., Kuźbida E., Jarmołowska B., Kaczmarski M., Kostyra E., 2011. The exogenous opioid peptides and DPPIV serum activity in infants with apnoea expressed as apparent life threatening events (ALTE). *Neuropeptides* 45, 189–195.
- WHO, 2014. European food and nutrition action plan 2015–2020. Pobrano z: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0008/253727/64wd14e_FoodNutAP_140426.pdf?ua=1.
- Yu Z., Yin Y., Zhao W., Liu J., Chen F., 2012. Anti-diabetic activity peptides from albumin against α -glucosidase and α -amylase. *Food Chem.* 135, 2078–2085.
- Yu Z., Yin Y., Zhao W., Yu Y., Liu B., Liu J., Chen F., 2011. Novel peptides derived from egg white protein inhibiting alpha-glucosidase. *Food Chem.* 129, 1376–1382.
- Zambrowicz A., Pokora M., Setner B., Dąbrowska A., Szołtysik M., Babij K., Szewczuk Z., Trziszka T., Lubec G., Chrzanowska J., 2015. Multifunctional peptides derived from an egg yolk protein hydrolysate: isolation and characterization. *Amino Acids* 47, 369–380.

THE APPLICATION OF FOOD-DERIVED BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES IN THE PROPHYLAXIS OF METABOLIC SYNDROME

Summary. The consumption of high-dense energy food, stress and lack of physical activity contribute to the increase of occurrence of diseases which are defined as metabolic syndrome. Metabolic syndrome includes for example cardiovascular diseases and type 2 diabetes. Thus, the change of lifestyle is recommended to prevent humans from the distribution of metabolic syndrome worldwide. Such change of lifestyle should include e.g.: more intense physical activity, body mass control, application of rational diet according to the guidelines of food pyramid as well as stress avoiding. Apart from their nutritional value, food proteins possess the unique properties which may have an application in the prophylaxis of metabolic syndrome. These properties are related to the specific fragments of proteins called bioactive peptides. Biological activity of peptides acting as food components which are helpful in metabolic syndrome treatment include inhibitors of: dipeptidylpeptidase IV (DPP-IV), α -glucosidase, angiotensin converting enzyme (ACE) and antioxidant peptides. The action of these peptides is related to the regulation of concentration of glucose in blood, regulation of blood pressure and maintaining the oxidation balance in the body, respectively.

The aim of this work was to characterize food protein-derived peptides with above-mentioned activities. We briefly described the mechanisms of actions of enzymes i.e. dipeptidylpeptidase IV (DPP-IV), α -glucosidase, angiotensin converting enzyme (ACE) and then we discussed the role of their peptide inhibitors as well as antioxidant peptides found in food proteins and having potential in metabolic syndrome treatment. The examples of functional foods containing bioactive peptides from foods and possessing FOSHU status (Food for Specified Health Uses) are also presented in this paper.

The results concerning the identification in food proteins peptides helpful in metabolic syndrome treatment are promising. It is well-known that proteins are important diet components, but taking into attention dietary and technological value of proteins, they can be considered as relatively easily accessible material for production of biologically active peptides. Multifunctional peptides i.e. peptides with more than one of above-mentioned biological activities are the challenge for the scientists working on the enrichment of foods with biologically active peptides and/or creating "novel food". Moreover, patients should be aware that although diet cannot substitute a pharmacological treatment, but it may play a supportive role in the therapy of metabolic syndrome.

Key words: bioactive peptides, metabolic syndrome, DPP-IV, ACE, α -glucosidase, antioxidant activity