

PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE PÉPTIDOS DERIVADOS DEL COLÁGENO DE ORGANISMOS MARINOS

BIOLOGICAL PROPERTIES OF COLLAGEN-DERIVED PEPTIDES FROM MARINE RESOURCES

Ramírez-Guerra HE, Ramírez-Suárez JC* y Mazorra-Manzano MA

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Carretera a la Victoria, CP: 83304. Hermosillo, Sonora, México.

RESUMEN

Las especies marinas, así como los subproductos generados a partir de su industrialización representan una valiosa fuente de proteínas, entre las que se encuentra el colágeno. Típicamente, el colágeno se utiliza para la elaboración de gelatina, alimentos funcionales, películas para fotografía, empaques biodegradables, productos de cosmetología, entre otros. Sin embargo, otra forma de aprovechamiento poco explorada y novedosa de este material es la obtención de péptidos con actividad biológica (PABs). Los PABs derivados del colágeno y gelatina a partir de especies marinas tienen un enorme potencial, debido a que poseen excelentes propiedades biológicas, tales como antioxidantes, antihipertensivas, anticancerígenas, antimicrobianas, neuroprotectoras, así como inducir el crecimiento de tejido óseo y retardar el envejecimiento de la piel, propiedades que se han asociado frecuentemente a la presencia de aminoácidos prolina e hidroxiprolina en la secuencia del péptido y ciertas características estructurales. El presente trabajo recopila los hallazgos más recientes sobre los efectos benéficos de los PABs derivados de colágeno y gelatina de especies marinas, con énfasis en las características estructurales que definen sus propiedades antioxidantes, antihipertensivas, anticancerígenas y antimicrobianas.

Palabras clave: colágeno, gelatina, alimentos funcionales, péptidos bioactivos.

ABSTRACT

Marine resources and their processing byproducts are considered a source rich in proteins, such as collagen. Typically, collagen is used for gelatin production, functional foods, biodegradable food packaging and photographic films, as well as in cosmetology, etc. However, a recent, but still less explored approach is the generation of bioactive peptides (BAPs) from marine collagen. The use of BAPs derived from marine collagen or gelatin offers high potential in functional foods for health care due to their biological properties associated with their peptide structure and the presence of proline and hydroxyproline amino acids. Some biological properties associated with BAPs derived from marine collagen include antioxidant, antihypertensive, anticancerogenic, antimicrobial, neuroprotector, bone growth inductor and anti-aging skin activity. This review focuses on the new findings on the beneficial effects of BAPs derived from collagen or gelatin

from marine species, emphasizing in the structural features that define its antioxidant, antihypertensive, anticancer and antimicrobial properties.

Keywords: collagen, gelatin, functional foods, bioactive peptides.

INTRODUCCIÓN

A través de la dieta, los organismos marinos proveen al cuerpo una considerable cantidad de componentes biofuncionales, tales como proteínas, ácidos grasos poli-insaturados, polisacáridos, minerales, vitaminas y enzimas (Kim y Mendis, 2006; Kim y Wijesekara, 2010). Normalmente, estos componentes son digeridos por el organismo, absorbidos e incorporados en algún proceso metabólico. Los roles fisiológicos que estos componentes asumen son variados, y sus funciones pueden ser tan simples como servir únicamente de reserva energética o tan complejas como sus implicaciones en el funcionamiento del sistema nervioso central, la estimulación del sistema inmune o la regulación del metabolismo en organismos pluricelulares (Erdman *et al.*, 2008).

Por otro lado, la industrialización de especies marinas se ha intensificado en los últimos años y con ello también el incremento en la generación de subproductos derivados de su procesamiento (Agyei y Danquah, 2011; Harnedy y FitzGerald, 2012). Estos desechos orgánicos incluyen vísceras, cabezas, piel, escamas, hueso, cartílago etc., los cuales representan un foco de contaminación sino son tratados adecuadamente (Guerard *et al.*, 2010). Tradicionalmente, este material orgánico, rico en proteínas, se ha utilizado para la formulación de alimento para consumo animal. Sin embargo, investigaciones recientes han propuesto otras alternativas de aprovechamiento para consumo humano. La generación de hidrolizados proteicos funcionales y/o bioactivos es probablemente una de las principales formas de aprovechamiento de esta materia proteica, hoy en día subutilizada. Por ejemplo, normalmente los subproductos del procesamiento de especies marinas representan una fuente valiosa de colágeno, que puede ser utilizada para la obtención de péptidos con actividad biológica (PABs) (Mendis *et al.*, 2005b; Ngo *et al.*, 2010; Zhuang *et al.*, 2010; Alemán *et al.*, 2011b; Lee *et al.*, 2011; Ngo *et al.*, 2011a; Kumar y Nazeer, 2012). Los PABs o péptidos bioactivos se definen como aquellos componentes derivados de los alimentos, que además de su valor nutricional, ejercen un efecto fisiológico en el organismo (Ryan

et al., 2011). Los PABs pueden mostrar un efecto benéfico en la salud, debido a las propiedades biológicas que presentan. Éstos, pueden ser utilizados como agentes farmacológicos para el tratamiento de enfermedades crónicas degenerativas, tales como enfermedades cardiovasculares, inflamatorias y cáncer (Kim y Mendis, 2006; Picot *et al.*, 2006; Zhu *et al.*, 2010; Han *et al.*, 2011; Zhuang *et al.*, 2012). El conocimiento que se tiene respecto al potencial biológico del colágeno y la gelatina de especies marinas, así como de sus hidrolizados, es limitado por el número de los estudios realizados sobre ello. Bajo este contexto, la presente revisión tiene como objeto mostrar información reciente acerca de la obtención de PABs derivados del colágeno y gelatina obtenidas a partir de diversas especies marinas, profundizando particularmente en las propiedades antioxidantes, antihipertensivas, anticancerígenas, antimicrobianas, además de otras propiedades biológicas poco exploradas.

FUENTES Y APLICACIONES DEL COLÁGENO

El colágeno es el componente proteico mayoritario de la piel, tendones, ligamentos y huesos de organismos multicelulares (Whitford, 2005). Las características estructurales únicas del colágeno lo hacen un componente extracelular esencial para el organismo. Este componente posee funciones estructurales y de soporte, que a su vez también le permiten ser utilizado para desarrollar nuevas formas estructurales de interés tecnológico, nutricional y biomédico (Lee *et al.*, 2001; Giménez *et al.*, 2009; Shoulders y Raines, 2009; Kumar *et al.*, 2011; Sripriya *et al.*, 2011). A la fecha, el colágeno que se obtiene a nivel industrial proviene en su gran mayoría de piel y huesos de mamíferos terrestres, como el puerco y la res (Zhang *et al.*, 2006). Sin embargo, el consumo de colágeno procedente de esas fuentes ha disminuido en los últimos años, por problemas asociados a brotes de enfermedades, tales como la encefalopatía espongiiforme bovina, fiebre aftosa y fiebre porcina, así como por aspectos socioculturales de algunos grupos religiosos y restricciones en su comercialización en algunos países (Karim y Bhat, 2009; Gómez-Guillén *et al.*, 2011; Harnedy y FitzGerald, 2012). Lo anterior ha incentivado el aprovechamiento de fuentes alternativas de colágeno más seguras y saludables, como son algunas especies marinas o los subproductos provenientes de su industrialización, como la piel, cartílago, escamas y huesos (Nagai *et al.*, 2004; Karim y Bhat, 2009; Ferraro *et al.*, 2010).

El creciente interés por la valorización económica de los subproductos generados por la industria pesquera se ha intensificado en los últimos 15 años y conducido al estudio y aprovechamiento de las propiedades tecno-funcionales de proteínas como el colágeno (Karim y Bhat, 2008, 2009). Este tipo de colágeno comparte similitudes estructurales a las del colágeno de mamíferos terrestres; no obstante, el comportamiento fisicoquímico entre ambos difiere considerablemente, lo que puede deberse en gran parte a las diferencias presentes en su estructura primaria (presencia y distribución de aminoácidos) que le permiten a la molécula adoptar otras

formas e interacciones fisicoquímicas distintas. Dichas características lo hacen atractivo y, a la vez, permite emplear al colágeno de origen marino como un material tecno-funcional capaz de retener agua, ser soluble, gelificar, formar coloides, emulsiones y espumas estables. Dichas propiedades se han aprovechado para la elaboración de alimentos funcionales, materiales de empaque biodegradable, películas fotográficas, productos de cosmetología y algunas otras aplicaciones en alimentos y medicina (Montero y Gómez-Guillén, 2000; Kim y Park, 2004; Bower *et al.*, 2006; Giménez *et al.*, 2009; Bama *et al.*, 2010; Arias-Moscoso *et al.*, 2011).

Por otro lado, la gelatina se produce a partir de la hidrólisis parcial del colágeno. Es una proteína soluble en agua con capacidad de formar geles termorreversibles (Norziah *et al.*, 2009; Khiari *et al.*, 2011). La aplicación tecno-funcional de la gelatina es mucho más heterogénea que la del colágeno, relacionándose principalmente con sus propiedades fisicoquímicas, térmicas y reológicas, que a su vez están estrechamente relacionadas con el contenido de aminoácidos como prolina e hidroxiprolina (Karim y Bhat, 2009; Gómez-Guillén *et al.*, 2011). A menudo, el uso industrial de la gelatina proveniente de especies marinas se ve limitado, principalmente porque experimenta temperaturas de gelificación (T_g) y fusión (T_m) menores que la gelatina de mamíferos terrestres ($T_g < 30^\circ\text{C}$); sin embargo, estas propiedades pueden ser muy variables y dependientes de varios factores, como la especie, el método de extracción y el tipo de colágeno utilizado (Karim y Bhat, 2008).

Aun cuando las propiedades fisicoquímicas del colágeno y gelatina de especies marinas les permiten tener algunas aplicaciones convencionales (micro-encapsuladores, agentes emulsificantes, gelificantes, espesantes), su uso más reciente y que ha llamado la atención de la comunidad científica y biomédica, es la generación de péptidos con actividad biológica (PABs) a través de su hidrólisis. Las características de los PABs derivados de este tipo de proteína se han asociado a un gran número de funciones fisiológicas, tales como propiedades antihipertensiva, antioxidante, inmunomoduladora, antimicrobiana, prebiótica y antitrombótica (Kim y Wijesekara, 2010; Ryan *et al.*, 2011), ejercidas a través de distintos mecanismos como los mostrados en la Figura 1, y cuyas propiedades dependen de las características estructurales de los péptidos producidos.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE HIDROLIZADOS DE COLÁGENO Y GELATINA DE ESPECIES MARI-NAS

Comparado con otras fuentes proteicas como cereales, leche, huevo y carne, las especies marinas también son un excelente candidato viable para la obtención de PABs. Los PABs de origen marino han sido obtenidos principalmente por hidrólisis enzimática del músculo de especies marinas (Ren *et al.*, 2008; Ryan *et al.*, 2011). Sin embargo, los subproductos pesqueros también constituyen una fuente importante de colágeno y gelatina y han servido para la obtención de

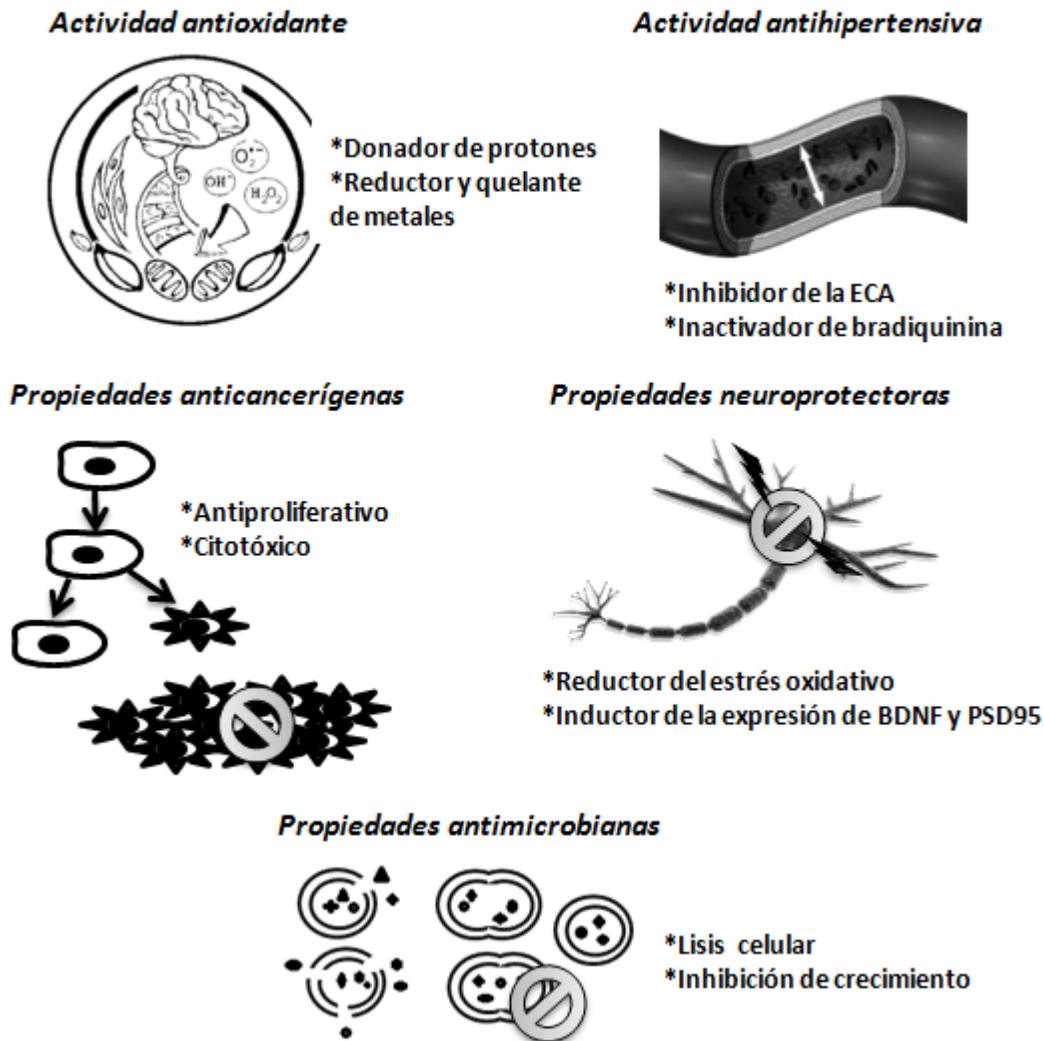


Figura 1. Propiedades biológicas de hidrolizados de colágeno y gelatina de especies marinas. BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro, PSD95: Proteína de densidad postsináptica 95.
Figure 1. Nutraceutical and biological properties of collagen hydrolysates from marine species. BDNF: brain-derived neurotrophic factor, PSD95: postsynaptic density protein 95.

hidrolizados proteicos mediante el uso de diversas enzimas proteolíticas comerciales (ej., tripsina, quimiotripsina, pepsina, alcalasa, properasa E, pronasa, collagenasa y papaína), proceso mediante el cual los PABs pueden ser liberados (Gómez-Guillén *et al.*, 2010; Alemán *et al.*, 2011b; Alemán *et al.*, 2011c; Mahmoodani *et al.*, 2012).

A nivel fisiológico, la liberación de PABs puede darse eventualmente durante el proceso de digestión de proteínas proveniente de los alimentos durante su paso por el tracto gastrointestinal, y mediado principalmente por las enzimas digestivas como pepsina, tripsina y quimiotripsina. Una vez liberados, estos péptidos pueden ser absorbidos en el intestino e ingresar al sistema circulatorio donde pueden incidir en numerosas funciones fisiológicas del organismo (Ngo *et al.*, 2011b).

Los PABs son fragmentos de proteínas que generalmente constan de secuencias peptídicas de 2 a 20 ami-

noácidos. Su obtención a nivel laboratorio incluye procesos hidrolíticos seguidos de procesos de purificación a través de sistemas de ultrafiltración en combinación con métodos cromatográficos (Lin y Li, 2006; Bourseau *et al.*, 2009; Picot *et al.*, 2010; Kim y Senevirathne, 2011). Cabe aclarar que el tipo de proteasa involucrada en su liberación tiene un efecto decisivo sobre el tamaño, carga neta, hidrofobicidad, composición, secuencia, y por tanto en la actividad biológica de cada péptido (Kim y Wijesekara, 2010). Esto es, la producción de PABs requiere de un estricto control y optimización de variables de proceso, tales como tipo de enzima, pH, temperatura, relación enzima/substrato y grado de hidrólisis (Mendis *et al.*, 2005b; Lin y Li, 2006; Zhuang *et al.*, 2009). Un procedimiento general para el aislamiento y purificación de PABs a partir de material colagenoso proveniente de organismos marinos, se describe en la figura 2.

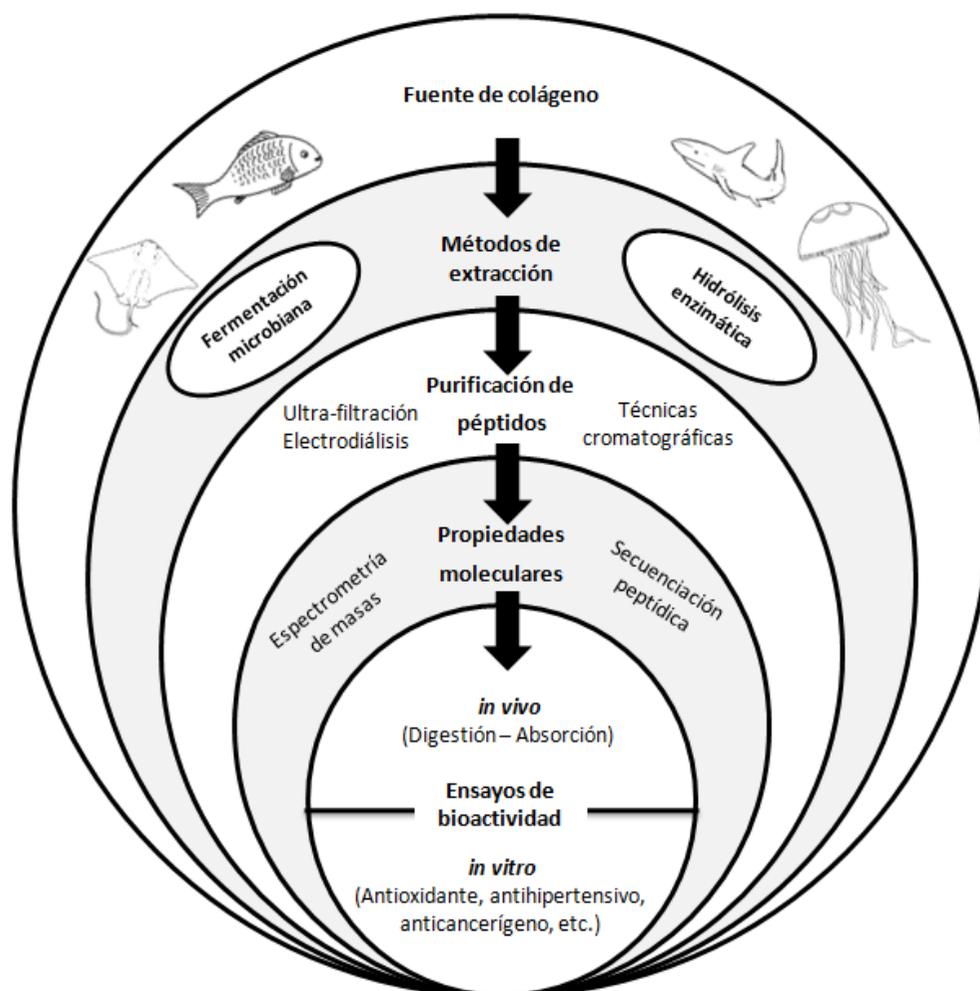


Figura 2. Aislamiento e identificación de péptidos bioactivos derivados de colágeno de origen marino.
Figure 2. Isolation and identification of bioactive collagen-derived peptides from marine resources.

Entre las propiedades bioactivas que más se han estudiado en hidrolizados de colágeno y gelatina producidos a partir de especies marinas se encuentran la actividad antioxidante y actividad antihipertensiva (Nam *et al.*, 2008; Alemán *et al.*, 2011a; Lin *et al.*, 2012). No obstante, algunos estudios también han confirmado, *in vivo* e *in vitro*, otras propiedades biológicas relacionadas con efectos citotóxicos, antiproliferativos, antibacterianos, neuroprotectores, inmunomoduladores e inducción de crecimiento celular en tejido óseo (Picot *et al.*, 2006; Nagai *et al.*, 2007; Liang *et al.*, 2010; Pei *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Alemán *et al.*, 2011c).

En los siguientes apartados se realizará una descripción de las principales propiedades biológicas de algunos péptidos obtenidos a partir de las hidrolisis del colágeno y gelatina de origen marino.

Propiedades Antioxidantes

Los PABs se han considerado excelentes candidatos para ser utilizados en la elaboración de alimentos funcionales, nutraceuticos y farmaceuticos, ya que por sus propiedades bioactivas pueden auxiliar en el tratamiento y prevención de enfermedades (Agyei y Danquah, 2011; Najafian y Babji, 2012).

Por más de cinco décadas se ha demostrado que, péptidos obtenidos de la hidrólisis de proteínas de origen animal y vegetal, poseen un enorme potencial antioxidante. En dichas fuentes se encuentra la soya (Chen *et al.*, 1998), huevo (Dávalos *et al.*, 2004), leche (Hernández-Ledesma *et al.*, 2007), puerco (Saiga *et al.*, 2003), pollo (Wu *et al.*, 2005) y recientemente diversas especies marinas (Jun *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2006; Dong *et al.*, 2008; Nazeer *et al.*, 2012).

La actividad antioxidante de péptidos obtenidos de colágeno se encuentra estrechamente relacionada con su composición, estructura y masa molecular (Kittiphattanabawon *et al.*, 2010; Ngo *et al.*, 2010; Ngo *et al.*, 2011a). La composición de péptidos de colágeno y gelatina obtenidos de especies marinas suele ser rica en aminoácidos Gly, Ala, Pro, Hyp, Glx y Asx, y su presencia parece ser crucial en la actividad antioxidante del péptido (Gómez-Guillén *et al.*, 2010; Gómez-Guillén *et al.*, 2011). La tabla 1 muestra la secuencia de algunos péptidos con poder antioxidante, provenientes del colágeno de especies marinas. El poder antioxidante que presentan estos péptidos se encuentra relacionado con el alto contenido de aminoácidos hidrofóbicos, los cuales son capaces de proteger a los ácidos grasos poliinsaturados, do-

Tabla 1. Péptidos de colágeno con actividad antioxidante
Table 1. Antioxidant collagen-derived peptides

Fuente	Secuencia	Tratamiento	Actividad	Referencia
Gelatina de abadejo de alaska (<i>Alaska Pollak</i>)	Gly-Glu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly	Digestión seriada (Alcalasa, Pronasa E, Colagenasa)	Inhibición de peroxidación lipídica	(Kim <i>et al.</i> , 2001)
Gelatina de merluza (<i>Johnius belengerii</i>)	His-Gly-Pro-Leu-Gly-Pro-Leu	Tripsina	Inhibición de peroxidación lipídica, Captación de radicales libres	(Mendis <i>et al.</i> , 2005b)
Gelatina de calamar (<i>Dosidicus gigas</i>)	Phe-Asp-Ser-Gly-Pro-Ala-Gly-Val-Leu Asn-Gly-Pro-Leu-Gln-Ala-Gly-Gln-Pro-Gly-Glu-Arg	Tripsina	Inhibición de peroxidación lipídica, Captación de radicales libres	(Mendis <i>et al.</i> , 2005a)
Gelatina de calamar (<i>Dosidicus eschrichtii Steenstrup</i>)		Digestión seriada (Properasa E, Pepsina)	Captación de radicales libres	(Kim y Mendis, 2006)
Gelatina de calamar (<i>Dosidicus gigas</i>)	Gly-Pro-Leu-Gly-Leu-Leu-Gly-Phe-Leu-Gly-pro-Leu-Gly-Leu-Ser	Alcalasa	Captación de radicales libres, agente reductor de hierro	(Alemán <i>et al.</i> , 2011b)
Gelatina de estamas de Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Asp-Pro-Ala-Leu-Ala-Thr-Glu-Pro-Asp-Pro-Met-Pro-Phe	Alcalasa, Pronasa E, Tripsina y Pepsina	Captación de radicales libres	(Ngo <i>et al.</i> , 2010)
Gelatina de piel de bacalao (<i>Gadus macrocephalus</i>)	Thr-Cys-Ser-Pro Thr-Gly-Gly-Gly-Asn-Val	Papaina	Captación de radicales libres	(Ngo <i>et al.</i> , 2011a)
Colágeno de macarela (<i>Magalaspis cordyla</i>) Colágeno de corvina (<i>Otholites ruber</i>)	Asn-His-Arg-Tyr-Asp-Arg Gly-Asn-Arg-Gly-Phe-Ala Cys-Arg-His-Ala	Digestión simulada (Pepsina, tripsina y α -quimiotripsina)	Captación de radicales libres, agente reductor, agente quelante	(Kumar y Nazeer, 2012) (Kumar y Nazeer, 2012)

nando protones a los radicales peroxilo evitando la oxidación durante la peroxidación lipídica (Mendis *et al.*, 2005a). En algunos casos dicha capacidad antioxidante puede igualar o superar a las del α -tocoferol y butil hidroxitolueno (BHT) (Mendis *et al.*, 2005b). Aminoácidos como Cys y Phe, los cuales eventualmente forman parte de estos péptidos, han sido asociados con su actividad antioxidante (Kumar y Nazeer, 2012). Aunque los mecanismos de acción antioxidante no han sido del todo entendidos, estudios han demostrado que además de ser inhibidores de la oxidación de lípidos, pueden participar en la quelación y reducción de iones metálicos (Khantaphant y Benjakul, 2008; Giménez *et al.*, 2009; Kumar y Nazeer, 2012), así como en la inhibición de tirosinasa y elastasa, enzimas involucradas en los procesos de melanización y envejecimiento, respectivamente (Nam *et al.*, 2008; Zhuang *et al.*, 2009).

Los péptidos derivados del colágeno y gelatina también han mostrado capacidad antioxidante efectiva frente a radicales libres mediadores del daño oxidativo celular, ya que se ha demostrado la protección *in vitro* de diferentes líneas

celulares y de biomoléculas como el ADN (Ngo *et al.*, 2010). La capacidad de neutralizar radicales libres es un mecanismo antioxidante importante de los péptidos, ya que mejora la viabilidad celular frente a la muerte celular inducida por oxidación (Gómez-Guillén *et al.*, 2011). Además, pueden verse implicados en el mantenimiento del balance redox del ambiente celular induciendo la expresión de enzimas antioxidantes como glutatión peroxidasa (GPx), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) en células cancerígenas de hígado de humanos (Mendis *et al.*, 2005b).

En alimentos, el uso de péptidos con actividad antioxidante obtenidos del colágeno y gelatina de especies marinas, parece ser una alternativa más saludable que el uso de antioxidantes sintéticos tales como BHT, Butil hidroxianisol (BHA), Terbutil hidroxiquinona (TBHQ) y al Propil galato (PG), los cuales se encuentran estrictamente regulados por sus posibles efectos adversos a la salud (Samaranayaka y Li-Chan, 2011; Najafian y Babji, 2012). Esta opción es de gran relevancia, ya que los mecanismos para prevenir el deterioro de los alimentos por oxidación lipídica son semejantes (Yongliang *et al.*, 2009). Sin embargo, aun se requieren estudios

donde se evalúe la actividad antioxidante de estos péptidos dentro de una matriz de algún alimento, donde la complejidad y naturaleza del sistema puede ser una condicionante decisiva de dicha actividad.

Propiedades Antihipertensivas

La hipertensión arterial es un trastorno crónico considerado como uno de los principales factores de riesgo en el padecimiento de enfermedades cardiovasculares, además de una de las principales causas de muerte a nivel mundial (Feig *et al.*, 2010; Hernández-Ledesma *et al.*, 2011). La actividad de la enzima convertidora de angiotensina (EC 3.4.15.1; ECA) tiene un rol importante en la regulación de la presión sanguínea mediante la regulación del sistema renina-angiotensina. Su mecanismo de acción es a través de la conversión de angiotensina I al potente vasoconstrictor angiotensina II, ó mediante la inactivación del vasodilatador bradiquinina (Barbosa-Filho *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007; Wijesekara y Kim, 2010). El reciente interés por la prevención de enfermedades cardiovasculares (como la hipertensión) ha conducido hacia la búsqueda de compuestos naturales capaces de inhibir a la ECA. Lo anterior, debido a que los fármacos sintéticos como captopril, enalapril, alcacepril, lisinopril, etc., utilizados con este fin, se encuentran asociados a efectos secundarios como tos, erupciones cutáneas o edemas angioneuróticos (Ondetti *et al.*, 1977; Cushman y Ondetti, 1999; Feig *et al.*, 2010).

Entre las fuentes naturales más importantes para la obtención de péptidos inhibidores de la ECA se encuentran los productos lácteos (Pripp *et al.*, 2004; Hernández-Ledesma *et al.*, 2005; Hernández-Ledesma *et al.*, 2007; Korhonen, 2009), huevo y carne (Fujita *et al.*, 2000; Nakashima *et al.*, 2002; Vercruyssen *et al.*, 2005; Amaya, 2006) y los productos marinos (Jun *et al.*, 2004; He *et al.*, 2007; Bougatef *et al.*, 2008; Lahogue *et al.*, 2010). Los hidrolizados de colágeno de especies marinas han mostrado actividad antihipertensiva mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. Aquellos péptidos que han mostrado ser capaces de inhibir a la ECA en ensayos enzimáticos *in vitro* han sido aislados de piel de abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*) (Byun y Kim, 2001, 2002; Park *et al.*, 2009), piel

de salmón (*Salmo salar L.*) (Gu *et al.*, 2011), gelatina de piel de calamar (*Dosidicus gigas*) (Alemán *et al.*, 2011b; Alemán *et al.*, 2011c), piel y cartílago de salmón (*Oncorhynchus keta*) (Nagai y Nagashima, 2006) y escamas de besugo (Fahmi *et al.*, 2004) (Tabla 2).

No obstante, para extrapolar el efecto antihipertensivo de los PABs hacia modelos animales y humanos (estudios *in vivo*), es necesario considerar su biodisponibilidad, entendiéndose ésta como la proporción del PAB que puede ser absorbido y utilizado por el organismo. La biodisponibilidad del PAB deberá entonces estar determinada en gran parte por las propiedades fisicoquímicas que incluyen tamaño molecular, hidrofobicidad, pKa, carga y solubilidad del péptido; además de otros factores fisiológicos intrínsecos de cada especie biológica, como son motilidad y permeabilidad gastrointestinal, así como el pH del medio, biomoléculas transportadoras y enzimas involucradas en el proceso de absorción (Ryan *et al.*, 2011). Debido al gran número de factores involucrados en la biodisponibilidad de los PABs, a la fecha no ha sido posible establecer una relación directa entre la potencia antihipertensiva *in vitro* de los PABs con su efecto *in vivo* (Vercruyssen *et al.*, 2005). No obstante, la administración oral de péptidos de colágeno y gelatina disminuyen la presión sanguínea e inhiben significativamente la formación de Angiotensina II en riñón de ratas con hipertensión renovascular, lo que confirma su potencial farmacéutico en animales modelo (Zhao *et al.*, 2007; Zhuang *et al.*, 2012).

La potencia o capacidad que poseen los péptidos para inhibir a la ECA se expresa en IC_{50} , valor que corresponde a la concentración del péptido requerida para reducir la actividad *in vitro* de la ECA en un 50 % (Wijesekara y Kim, 2010). El peso molecular y la estructura conformacional de los péptidos son características directamente asociadas a su capacidad inhibitoria. Los péptidos que contienen de 2 a 11 aminoácidos pueden acomodarse fácilmente en el sitio activo de la ECA e inhibirla debido a la afinidad de la secuencia C-terminal de estos péptidos con la enzima (Cushman y Ondetti, 1999). La ECA ha mostrado tener mayor afinidad por aquellos péptidos con aminoácidos hidrofóbicos (residuos

Tabla 2. Péptidos de colágeno con actividad antihipertensiva
Table 2. Antihypertensive collagen-derived peptides

Fuente	Secuencia	Actividad ACE	Referencia
Gelatina de abadejo de Alaska (<i>Theragra chalcogramma</i>)	Gly-Pro-Leu Gly-Pro-Met	$IC_{50} = 2.6 \mu M$ $IC_{50} = 17.13 \mu M$	(Byun y Kim, 2001)
Gelatina de piel de bacalao (<i>Gadus macrocephalus</i>)	Thr-Cys-Ser-Pro Thr-Gly-Gly-Gly-Asn-Val	ND ND	(Ngo <i>et al.</i> , 2011a)
Gelatina de tunicas de calamar (<i>Dosidicus gigas</i>)	Gly-Pro-Leu-Gly-Leu-Leu-Gly-Phe-Leu- Gly-Pro-Leu-Gly-Leu-Ser	$IC_{50} = 360 \mu M$	(Alemán <i>et al.</i> , 2011b)
Colágeno de piel de salmón (<i>Salmo salar L.</i>)	Ala-Pro Val-Arg	$IC_{50} = 0.060 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$ $IC_{50} = 0.332 \pm 0.005 \text{ mg/mL}$	(Gu <i>et al.</i> , 2011)
Escamas de besugo	Val-Ile-Tyr	$IC_{50} = 0.003 \text{ mg/mL}$	(Fahmi <i>et al.</i> , 2004)

ND: no determinado.

aromáticos o ramificados) en cada una de las tres últimas posiciones del extremo C-terminal (Cheung *et al.*, 1980). Por ejemplo, cuando prolina o arginina están presentes en la posición C-terminal, la inhibición de la ECA se incrementa (Alemán *et al.*, 2011b; Gu *et al.*, 2011).

La información generada al momento, deja claro que los sub-productos derivados de la industrialización de especies marinas, como el colágeno, son una fuente importante y muy variada de péptidos con potencial antihipertensivo. No obstante, aun se requiere profundizar en el estudio de las características fisicoquímicas (secuencia, tamaño, carga, etc.) que definen la propiedad antihipertensiva de un péptido y su interacción con la ECA.

Propiedades Anticancerígenas

El cáncer es una enfermedad crónico-degenerativa de enorme variabilidad etiológica. Éste se origina por el crecimiento de células anormales en diversos tejidos del organismo, volviéndose sumamente difícil su diagnóstico y prevención. Numerosos estudios señalan que factores ambientales tales como el tabaco, poca actividad física y dieta inadecuada se asocian fuertemente con el riesgo de padecer cáncer (Michels, 2005). Existen muchas razones que sustentan la importancia del rol de la nutrición en la etiología del cáncer y las propiedades biológicas de algunos nutrientes. Los PABs contenidos en los alimentos, recientemente han sido considerados candidatos adecuados para coadyuvar en la prevención de esta patología. Los péptidos con propiedades antioxidantes y citotóxicas protegen al ADN de daños causados por el estrés celular oxidativo, además pueden disminuir la proliferación de líneas celulares cancerígenas de algunos tipos de cáncer como lo han demostrado diversos estudios tanto *in vivo* como *in vitro* (Picot *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2011).

Los productos lácteos, la proteína de huevo, la carne y los cereales como la soya y el trigo, son las fuentes proteicas que más se han utilizando para la obtención de péptidos con actividad anticancerígena. No obstante, la tendencia al uso de fuentes proteicas como el pescado y los subproductos de la industria pesquera se han convertido en una opción atractiva (Picot *et al.*, 2006; Alemán *et al.*, 2011c; Han *et al.*, 2011). Si bien, en hidrolizados de pescado, los estudios de citotoxicidad y antiproliferación de células cancerígenas son escasos, algunos de ellos han mostrado resultados favorables empleando músculo de especies como bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), bacalao (*Gadus morhua*) y salmón (*Salmo salar*), los cuales inhiben el crecimiento de células de adenocarcinoma mamario MCF-7/6 y MDA-MB-231 *in vitro* (Picot *et al.*, 2006).

Por otro lado, se ha observado que los hidrolizados de piel de atún (*Thunnus orientalis*) inhiben *in vitro*, en un 50 y 38 % la proliferación de células de cáncer de hígado (Hep-G2) y cáncer cérvico-uterino (HeLa), respectivamente (Han *et al.*, 2011). Asimismo, los hidrolizados de gelatina de piel de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) también han mostrado propiedades anticancerígenas *in vitro* (Alemán *et al.*, 2011c),

lo que demuestra su potencial como fuente de PABs. El tipo de enzima utilizada en la generación de este tipo de péptidos es determinante, como se observó en un estudio en el que utilizaron siete enzimas comerciales (Protamex, Tripsina, Neutrasa, Sabinasa, NS37005, Esperasa y Alcalasa), siendo Esperasa la más adecuada para producir péptidos con mejores propiedades citotóxicas hacia células cancerígenas MCF-7 y U87 (Alemán *et al.*, 2011c). Los bajos valores de IC_{50} , en el orden de 0,13 y 0,10 mg.mL⁻¹, para inhibir la proliferación de células MCF-7 y U87, respectivamente, confirman el alto poder antiproliferativo de PABs provenientes de piel de calamar. De igual manera, el uso de otras especies marinas como la medusa *Rhizostoma pulpo* han mostrado un efecto citotóxico y de adhesión celular comparable al colágeno tipo I de especies mamíferas (Addad *et al.*, 2011). La biodisponibilidad y las propiedades biológicas que presenta el colágeno de medusa reportado, sugiere que este organismo marino puede ser una buena fuente de PABs para futuras aplicaciones biomédicas (Addad *et al.*, 2011).

Propiedades Antimicrobianas

Frente a la emergente y constante aparición de nuevos microorganismos patógenos resistentes a antibióticos convencionales, así como la tendencia a minimizar el consumo de fármacos para combatir enfermedades causadas por virus, hongos y bacterias con compuestos y alternativas de procesamiento más saludables, recientes investigaciones han incursionado en la generación de hidrolizados proteicos que cumplan con esta finalidad. La actividad antimicrobiana ha sido poco estudiada en péptidos derivados del músculo y piel de especies marinas. No obstante, los hidrolizados proteicos a partir de músculo de anchoveta (*Setipinna taty*), piel de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) y atún (*Thunnus sp.*) (Gómez-Guillén *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2011) han mostrado actividad antimicrobiana.

Los péptidos con actividad antimicrobiana generalmente se encuentran constituidos por menos de 50 aminoácidos (< 10 kDa) y cerca del 50 % de ellos son de carácter hidrofóbico (Najafian y Babji, 2012). Las características de composición de aminoácidos, estructura conformacional, carga y el tamaño de los péptidos, son características que determinan su mecanismo de acción y efectividad. Además, la variabilidad de las características morfológicas de las diferentes membranas celulares bacterianas también determina la actividad bactericida de los péptidos y su efectividad hacia determinadas bacterias (Smith *et al.*, 2010). Fracciones peptídicas de 1-10 kDa y < 1 kDa extraídas a partir de colágeno de piel de calamar (*Dosidicus gigas*) y atún (*Thunnus sp.*), pudieron inhibir el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis*, *Shewanella putrefaciens* y *Photobacterium phosphoreum* (Gómez-Guillén *et al.*, 2010). Los mecanismos de inhibición son poco entendidos; sin embargo, se conoce que el tipo de interacción entre los péptidos y la membrana celular bacteriana define dicho mecanismo. Se ha sugerido que la interacción mediada por fuerzas electrostáticas entre péptidos cargados posi-

vamente y componentes estructurales de la pared celular, cargados negativamente, está relacionada con su efectividad antimicrobiana, siendo este mecanismo mediante el cual los péptidos se pueden insertar o atravesar la membrana celular, resultando en un deterioro de la célula bacteriana (Smith *et al.*, 2010).

Otras Propiedades Biológicas

La alimentación sana y balanceada disminuye los factores de riesgo que se asocian a diversas enfermedades crónicas. Desafortunadamente, los constantes cambios en los estilos de vida, sedentarismo y otros factores intrínsecos de la vida urbana, han sido motivos de una reducción de las expectativas de vida del siglo XXI, incrementando con esto las posibilidades de padecer una o varias enfermedades crónico-degenerativas. La osteoporosis, es una afección que se presenta en el tejido óseo y se produce por una deficiencia en la ingesta y absorción de minerales como el calcio y el zinc. Dicha enfermedad se presenta con frecuencia en adultos mayores y mujeres amenorreicas postmenopáusicas, manifestándose en huesos quebradizos y susceptibles de fracturas (Borer, 2005). Un incremento en el nivel de ejercicio y el suministro de fármacos ricos en minerales, son algunas de las estrategias que se han utilizado para el tratamiento y prevención de esta enfermedad. Debido a las propiedades nutracéuticas que presentan las proteínas de pescado, estas se han comenzado a utilizar como materia prima para la obtención de péptidos inductores de crecimiento del tejido óseo (Xu *et al.*, 2010).

Recientemente se ha reportado que una suplementación adecuada de péptidos derivados de piel de salmón (*Oncorhynchus keta*) puede asumir un rol importante en el desarrollo de músculo esquelético (hueso femoral) durante el crecimiento de ratas Sprague-Dawley de ambos sexos (Xu *et al.*, 2010). En dicho estudio, se observó un incremento de la densidad ósea, contenido mineral, recambio de tejido óseo y un incremento en las propiedades biomecánicas del hueso femoral. Los efectos benéficos de los péptidos sobre la deposición de mineral en el tejido óseo son de gran trascendencia biomédica, debido a la similitudes que existe entre el metabolismo del tejido óseo de humanos y de ratas (Xu *et al.*, 2010).

De igual manera, ha crecido el interés por la aplicación del potencial nutracéutico de los hidrolizados de colágeno de origen marino en el mantenimiento y estructura integral de la piel. La administración oral de colágeno en ratas Sprague-Dawley parece tener un efecto significativo en la regulación homeostática del envejecimiento cronológico de la piel, incrementando los niveles de expresión de colágeno tipo I y III, principales formas de colágeno de la dermis (Liang *et al.*, 2010). Estos resultados sugieren que el consumo oral de hidrolizados de piel de colágeno de salmón puede ser una propuesta saludable para la prevención y tratamiento de complicaciones clínicas en la piel.

Otros estudios de bioactividad de péptidos se relacionan con el efecto neuroprotector, ya que al suministrar

hidrolizados de colágeno de piel de salmón (*Oncorhynchus keta*) en dieta de ratones, éstos facilitaron el aprendizaje y mejoraron su memoria. Este mecanismo neuroprotector parece ser producto de la reducción del daño oxidativo en las células neuronales causado por el estrés, incrementando los niveles de expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y la proteína de densidad postsináptica 95 (PSD95) (Pei *et al.*, 2010). Lo anterior debido a que dichas proteínas se encuentran implicadas en el mantenimiento, crecimiento y desarrollo de neuronas, así como también de la actividad sináptica y la comunicación intracelular (Craven *et al.*, 1999; Suzuki *et al.*, 2004). Además, la adición de colágeno de piel de salmón ha sido considerada como una buena opción de aplicación médica en la regeneración de tejidos celulares, ya que puede inducir el crecimiento de fibroblastos de ligamento periodontal humano (HPdLFs) *in vitro*, en mucho mayor proporción que con el colágeno de origen porcino (Nagai *et al.*, 2007). De igual manera, se ha observado que la expresión de RNAm del colágeno tipo I y la actividad de la enzima fosfatasa alcalina (ALP) se incrementaron sin experimentar cambios en sus funciones de diferenciación celular (Nagai *et al.*, 2007).

Las propiedades biológicas del colágeno y la gelatina provenientes de especies marinas, así como sus hidrolizados, han demostrado su posible uso potencial biomédico; sin embargo, requieren ser estudiadas con mayor intensidad para su futuro aprovechamiento.

CONCLUSIONES

El colágeno proveniente de organismos marinos es una fuente de proteína no convencional con gran potencial para la obtención de péptidos con actividad biológica. El estudio de estos péptidos, mediante modelos *in vitro* e *in vivo*, han demostrado su enorme potencial como agentes antioxidantes y antihipertensivos. La actividad biológica de los péptidos derivados del colágeno se encuentra asociada a las propiedades de composición, estructura y tamaño de los mismos. No obstante, las características inmunomodulatorias, antimicrobianas, anticancerígenas, antivirales y antihelmínticas de los péptidos derivados del colágeno de especies marinas son propiedades que requieren ser exploradas a mayor profundidad. La búsqueda y estudio de nuevos péptidos permitirá un mejor entendimiento de sus mecanismos de acción y su relación con las propiedades estructurales. No obstante, los estudios reportados a la fecha demuestran el potencial que presentan los subproductos provenientes de especies marinas como una opción atractiva para la producción de péptidos con actividad biológica, que mejoren la salud y que puedan coadyuvar en la prevención y el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas.

REFERENCIAS

- Addad, S., Exposito, J.Y., Faye, C., Ricard-Brum, S. y Lethias, C. 2011. Isolation, Characterization and biological evaluation of jellyfish collagen for use in biomedical applications. *Marine Drugs*, 9, 967-983.

- Agyei, D. y Danquah, M.K. 2011. Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. *Biotechnology Advances*. 29, 272-277.
- Alemán, A., Giménez, B., Montero, P. y Gómez-Guillén, M.C. 2011a. Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *LWT - Food Science and Technology*. 44, 407-413.
- Alemán, A., Giménez, B., Pérez-Santín, E., Gómez-Guillén, M.C. y Montero, P. 2011b. Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chemistry*. 125, 334-341.
- Alemán, A., Pérez-Santín, E., Bordevane-Juchereau, S., Arnaudin, I., Gómez-Guillén, M.C. y Montero, P. 2011c. Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. *Food Research International*. 44, 1044-1051.
- Amaya, M.M. 2006. Antihypertensive peptides derived from egg proteins. *The Journal of Nutrition*. 136, 1457-1460.
- Arias-MoscOSO, J.L., Soto-Valdez, H., Plascencia-Jatomea, M., Vidal-Quintanar, R.L., Rouzaud-Sández, O. y Esquerre-Brauer, J.M. 2011. Composites of chitosan with acid-soluble collagen from jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by-products. *Polymer International*. 60, 924-931.
- Bama, P., Vijayalakshimi, M., Jayasimman, R., Kalaichelvan, P.T., Deccaraman, M. y Sankaranarayanan, S. 2010. Extraction of collagen from cat fish (*Tachysurus macalatus*) by pepsin digestion and preparation and characterization of collagen chitosan sheet. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2, (4):133-137.
- Barbosa-Filho, J.M., Martins, V.K.M., Rabelo, L.A., Moura, M.D., Silvia, M.S., Cunha, E.V.L., Souza, M.F.V., Almeida, R.N. y Medeiros, I.A. 2006. Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme (ACE). A review between 1980 - 2000. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 16, (3):421-446.
- Borer, K.T. 2005. Physical activity in the prevention and amelioration of osteoporosis in women. *Sports Medicine*. 35, (9):779-830.
- Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Ravallec-Plé, R., Leroy, Y., Guillochon, D., Barkia, A. y Nasri, M. 2008. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activities of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products protein hydrolysates obtained by treatment with microbial and visceral fish serine proteases. *Food Chemistry*. 111, 350-356.
- Bourseau, P., Vandanjon, L., Jaouen, P., Chaplain-Derouiniot, M., Massé, A., Guérard, F., Chabeaud, A., Fouchereau-Péron, M., Le Gal, Y., Ravallec-Plé, R., Bergé, J.P., Picot, L., Piot, J.M., Batista, I., Thorkelsson, G., Delannoy, C., Jakobsen, G. y Johansson, I. 2009. Fractionation of fish protein hydrolysates by ultrafiltration and nanofiltration: impact on peptidic populations. *Archive Institutionnelle de l'Ifremer*. 244, (1-3):303-320.
- Bower, C.K., Avena-Bustillos, R.J., Olsen, C.W., Mchugh, T.H. y Bechtel, P.J. 2006. Characterization of fish-skin gelatin gels and films containing the antimicrobial enzyme lysozyme. *Journal of Food Science*. 71, (5):141-154.
- Byun, H.G. y Kim, S.K. 2001. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. *Process Biochemistry*. 36, 1155-1162.
- Byun, H.G. y Kim, S.K. 2002. Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from alaskan pollack skin. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 35, (2):239-243.
- Craven, S.E., El-Husseini, A.E. y Bredt, D.S. 1999. Synaptic targeting of the postsynaptic density protein PSD-95 mediated by lipid and protein motifs. *Neuron*. 22, (3):497-509.
- Cushman, D.W. y Ondetti, M.A. 1999. Design of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Nature Medicine*. 5, (10):1110-1112.
- Chen, H.M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K. y Nokihara, K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 49-53.
- Chen, Q., Xuan, G., Fu, M., He, G., Wang, W., Zhang, H. y Ruan, H. 2007. Effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from rice dregs protein on antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *Asian Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16, (1):281-285.
- Cheung, H.S., Wang, F.L., Ondetti, M.A., Sabo, E.F. y Cushman, D.W. 1980. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*. 255, (2):401-407.
- Dávalos, A., Miguel, M., Bartolomé, B. y López-Fandiño, R. 2004. Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Protection*. 67, (9):1939-1944.
- Dong, S., Zeng, M., Wang, D., Liu, Z., Zhao, Y. y Yang, H. 2008. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*. 107, 1485-1493.
- Erdman, K., Cheung, B.W.Y. y 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.
- Fahmi, A., Morimura, S., Guo, H.C., Shigematsu, T., Kida, K. y Uemura, Y. 2004. Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sea bream scales. *Process Biochemistry*. 39, (10):1195-1200.
- Feig, P.U., Roy, S. y Cody, R.J. 2010. Antihypertensive drug development: current challenges and future opportunities. *Journal of the American Society of Hypertension*. 4, (4):163-173.
- Ferraro, V., Cruz, I.B., Jorge, R.F., Malcata, F.X., Pintado, M.E. y Castro, P.M.L. 2010. Valorisation of natural extracts from marine source focused on marine by-products: A review. *Food Research International*. 43, 2221-2233.
- Fujita, H., Yokoyama, K. y Yoshikawa, M. 2000. Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *Journal of Food Science*. 65, (4):564-569.
- Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M.C. y Montero, M.P. 2009. Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin. *Food Hydrocolloids*. 23, 1322-1327.
- Gómez-Guillén, M.C., Giménez, B., López-Caballero, M.E. y Montero, M.P. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*. 25, (8):1813-1827.
- Gómez-Guillén, M.C., López-Caballero, M.E., Alemán, A., López de Lacey, A., Giménez, B. y Montero, P. (2010). Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. En *Sea by-products as a raw material: New ways of application*. Bihan, E. L. y Koueta, N. (ed.), pp. 89-115. Transworld Research Network Signpost. Kerala, India.

- Gu, R.Z., Li, C.Y., Liu, W.Y., Yi, W.X. y Cai, M.Y. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of low-molecular-weight peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) skin. *Food Research International*. 44, 1536-1540.
- Guerard, F., Decourcelle, N., Sabourin, C., Floch-Laizet, C., Laurent, L.G., Pascal, L.F., Florence, G., Ronan, L.D., Pascal, J. y Patrick, B. 2010. Recent developments of marine ingredients for food and nutraceutical applications: a review. *Journal des sciences Halieutique et Aquatique*. 2, 21-27.
- Han, S.H., Mariyama, T. y Kawamura, Y. 2011. Effect of collagen and collagen peptides from bluefin tuna abdominal skin on cancer cells. *Health*. 3, (3):129-134.
- Harnedy, P.A. y FitzGerald, R.J. 2012. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *Journal of Functional Foods*. 4, 6-24.
- He, H.L., Chen, X.L., Wu, H., Sun, C.Y., Zhang, Y.Z. y Zhou, B.C. 2007. High throughput and rapid screening of marine protein hydrolysates enriched in peptides with angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity by capillary electrophoresis. *Bioresource Technology*. 98, 3499-3505.
- Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Recio, I. y Bartolomé, B. 2007. ACE-inhibitory and radical-scavenging activity of peptides derived from β -lactoglobulin f(19-25). Interactions with ascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 3392-3397.
- Hernández-Ledesma, B., Contreras, M.M. y Recio, I. 2011. Antihypertensive peptides: Production, bioavailability and incorporation into foods. *Advances in Colloid and Interface Science*. 165, 23-35.
- Hernández-Ledesma, B., Miralles, B., Amigo, L., Ramos, M. y Recio, I. 2005. Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85, 1041-1048.
- Jun, S.Y., Park, P.J. y Jung, W.K. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *European Food Research and Technology*. 219, 20-26.
- Karim, A.A. y Bhat, R. 2008. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology*. 19, 644-656.
- Karim, A.A. y Bhat, R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. 23, 563-576.
- Khantaphant, S. y Benjakul, S. 2008. Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 151, 410-419.
- Khiari, Z., Rico, D., Martin-Diana, A.B. y Barry-Ryan, C. 2011. The extraction of gelatine from mackerel (*Scomber scombrus*) heads with the use of different organic acids. *Journal of FisheriesSciences.com*. 5, (1):52-63.
- Kim, J.-S. y Park, J.W. 2004. Characterization of acid-soluble collagen from pacific whiting surimi processing byproducts. *Journal of Food Science*. 69, (8):637-642.
- Kim, S., Kim, Y., Byun, H., Nam, K., Joo, D. y Shahidi, F. 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Alaska pollack skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, (4):1984-1989.
- Kim, S.K. y Mendis, E. 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts – A review. *Food Research International*. 39, 383-393.
- Kim, S.K. y Senevirathne, M. 2011. Membrane bioreactor technology for the development of functional materials from sea-food processing wastes and their potential health benefits. *Membranes*. 1, 327-344.
- Kim, S.K. y Wijesekara, I. 2010. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. *Journal of Functional Foods*. 2, 1-9.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W. y Shahidi, F. 2010. Effect of extraction temperature on functional properties and antioxidative activities of gelatin from shark skin. *Food and Bioprocess Technology*. 5, (7):2646-2654.
- Korhonen, H. 2009. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*. 1, 177-187.
- Kumar, N.S.S. y Nazeer, R.A. 2012. Purification and identification of antioxidant peptides from the skin protein hydrolysate of two marine fishes, horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). *Amino Acids*. 42, 1641-1649.
- Kumar, R., Sriprya, R., Balaji, S., Kumar, M.S. y Sehgal, P.K. 2011. Physical characterization of succinylated type I collagen by Raman spectra and MALDI-TOF/MS and in vitro evaluation for biomedical applications. *Journal of Molecular Structure*. 994, 117-124.
- Lahogue, V., Réhel, K., Taupin, L., Haras, D. y Allaupe, P. 2010. A HPLC-UV method for the determination of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *Food Chemistry*. 118, 870-875.
- Lee, C.H., Singla, A. y Lee, Y. 2001. Biomedical applications of collagen. *International Journal of Pharmaceutics*. 221, 1-22.
- Lee, J.K., Jeon, J.K. y Byun, H.G. 2011. Effect of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide purified from skate skin hydrolysate. *Food Chemistry*. 125, 495-499.
- Li, L., Wang, J., Zhao, M., Cui, C. y Jiang, Y. 2006. Artificial neural network for production of antioxidant peptides derived from bighead carp muscles with alcalase. *Food Technology and Biotechnology*. 44, (3):441-448.
- Liang, J., Pei, X., Zhang, Z., Wang, N., Wang, J. y Li, Y. 2010. The protective effects of long-term oral administration of marine collagen hydrolysate from chum salmon on collagen matrix homeostasis in the chronological aged skin of sprague-dawley male rats. *Journal of Food Science*. 75, (8):230-238.
- Lin, L. y Li, B.F. 2006. Radical scavenging properties of protein hydrolysates from Jumbo flying squid (*Dosidicus eschrichtii Steenstrup*) skin gelatin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86, 2290-2295.
- Lin, L., Lv, S. y Li, B.F. 2012. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory and antihypertensive properties of squid skin gelatin hydrolysates. *Food Chemistry*. 131, 225-230.
- Mahmoodani, F., Ghassem, M., Babji, A.S., Yusop, S.M. y Khosrokhavar, R. 2012. ACE inhibitory activity of pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) skin and bone gelatin hydrolysate. *Journal of food Science and Technology*. doi: 10.1007/s13197-012-0742-8
- Mendis, E., Rajapakse, N., Byun, H.G. y Kim, S.K. 2005a. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. *Life Sciences*. 77, 2166-2178.
- Mendis, E., Rajapakse, N. y Kim, S.K. 2005b. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 581-587.
- Michels, K.B. 2005. The role of nutrition in cancer development

- and prevention. International Journal of Cancer. 114, 163-165.
- Montero, P. y Gómez-Guillén, M.C. 2000. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus bosci*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. Journal of Food Science. 65, (3):434-438.
- Nagai, N., Mori, K., Satoh, Y., Takahashi, N., Yunoki, S., Tajima, K. y Munekata, M. 2007. In vitro growth and differentiated activities of human periodontal ligament fibroblasts cultured on salmon collagen gel. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 82, (2):395-402.
- Nagai, T., Izumi, M. y Ishii, M. 2004. Fish scale collagen. Preparation and partial characterization. International Journal of Food Science and Technology. 39, 239-244.
- Nagai, T. y Nagashima, T. 2006. Antioxidative activities and angiotensin I-converting enzyme inhibition of extracts prepared from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) catilage and skin. International Journal of Food Properties. 9, 813-822.
- Najafian, L. y Babji, A.S. 2012. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. Peptides. 33, 178-185.
- Nakashima, Y., Arihara, K., Sasaki, A., Mio, H., Ishikawa, S. y Itoh, M. 2002. Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. Journal of Food Science. 67, (1):434-437.
- Nam, K.A., You, S.G. y Kim, S.M. 2008. Molecular and physical characteristics of squid (*Todarodes pacificus*) skin collagens and biological properties of their enzymatic hydrolysates. Journal of Food Science. 73, (4):249-255.
- Nazeer, R.A., Kumar, N.S.S. y Ganesh, R.J. 2012. In vitro and in vivo studies on the antioxidant activity of fish peptide isolated from the croaker (*Otolithes ruber*) muscle protein hydrolysate. Peptides. 35, 261-268.
- Ngo, D.H., Qian, Z.J., Ryu, B., Park, J.W. y Kim, S.K. 2010. In vitro antioxidant activity of a peptide isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scale gelatin in free radical-mediated oxidative systems. Journal of Functional Foods. 2, 107-117.
- Ngo, D.H., Ryu, B., Vo, T.S., Himaya, S.W.A., Wijesekara, I. y Kim, S.K. 2011a. Free radical scavenging and angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) skin gelatin. International Journal of Biological Macromolecules. 49, 1110-1116.
- Ngo, D.H., Wijesekara, I., Vo, T.S., Ta, Q.V. y Kim, S.K. 2011b. Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: An overview. Food Research International. 44, 523-529.
- Norziah, M.H., Al-Hassan, A., Khairulnizam, A.B., Mordi, M.N. y Norita, M. 2009. Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: Thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties. Food Hydrocolloids. 23, 1610-1616.
- Ondetti, M.A., Rubin, B. y Cushman, D.W. 1977. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. Science. 196, (4288):441-444.
- Park, C.H., Kim, H.J., Kang, K.T., Park, J.W. y Kim, J.S. 2009. Fractionation and angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of gelatin hydrolysates from by-products of Alaska pollock surimi. Fisheries and Aquatic Science. 12, (2):79-85.
- Pei, X., Yang, R., Zhang, Z., Gao, L., Wang, J., Xu, Y., Zhao, M., Han, X., Liu, Z. y Li, Y. 2010. Marine collagen peptide isolated from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) skin facilitates learning and memory in aged C57BL/6J mice. Food Chemistry. 118, 333-340.
- Picot, L., Bordenave, S., Didelot, S., Arnaudin-Fruitier, I., Sannier, F., Thorkelsson, G., Bergé, J.P., Guérard, F., Chabeaud, A. y Piot, J.M. 2006. Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines. Process Biochemistry. 41, 1217-1222.
- Picot, L., Ravallec, R., Fouchereau-Péron, M., Vandanjon, L., Jaouen, P., Chaplain-Derouiniot, M., Guérard, F., Chabeaud, A., LeGal, Y., Martinez-Alvarez, O., Bergé, J.P., Piot, J.M., Batista, I., Pires, C., Thorkelsson, G., Delannoy, C., Jakobsen, G., Johansson, I. y Bourseau, P. 2010. Impact of ultrafiltration and nanofiltration of an industrial fish protein hydrolysate on its bioactive properties. Journal of the Science of Food and Agriculture. 90, (11):1819-1826.
- Pripp, A.H., Isaksson, T., Stepaniak, L. y Sorhaug, T. 2004. Quantitative structure-activity relationship modelling of ACE-inhibitory peptides derived from milk proteins. European Food Research and Technology. 219, 579-583.
- Ren, J., Zhao, M., Shi, J., Wang, J., Jiang, Y., Cui, C., Kakuda, Y. y Xue, S.J. 2008. Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. Food Chemistry. 108, 727-736.
- Ryan, J.T., Ross, R.P., Bolton, D., Fitzgerald, G.F. y Stanton, C. 2011. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. Nutrients. 3, 765-791.
- Saiga, A., Tanabe, S. y Nishimura, T. 2003. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51, (12):3661-3667.
- Samaranayaka, A.G.P. y Li-Chan, E.C.Y. 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. Journal of Functional Foods. 3, 229-254.
- Shoulders, M.D. y Raines, R.T. 2009. Collagen structure and stability. Annual Review of Biochemistry. 78, 929-958.
- Smith, V.J., Desbois, A.P. y Dyrinda, E.A. 2010. Conventional and unconventional antimicrobials from fish, marine invertebrates and micro-algae. Marine Drugs. 8, 1213-1262.
- Song, R., Wei, R., Zhang, B. y Wang, D. 2011. Optimization of the antibacterial activity of half-fin anchovy (*Setipinna taty*) hydrolysates. Food and Bioprocess Technology. 5, 1979-1989.
- Sripriya, R., Kumar, R., Balaji, S., Kumar, M.S. y Sehgal, P.K. 2011. Characterizations of polyanionic collagen prepared by linking additional carboxylic groups. Reactive & Functional Polymers. 71, 62-69.
- Suzuki, S., Numakawa, T., Shimazu, K., Koshimizu, H., Hara, T., Hatanaka, H., Mei, L., Lu, B. y Kojima, M. 2004. BDNF-induced recruitment of TrkB receptor into neuronal lipid rafts: Roles in synaptic modulation. The Journal of Cell Biology. 167, (6):1205-1215.
- Vercruyse, L., Camp, J.V. y Smagghe, G. 2005. ACE inhibitory peptides derived from enzymatic hydrolysates of animal muscle protein: a review. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 19, (53):8106-8115.
- Whitford, D. 2005. Proteins structure and function. John Wiley & Sons Ltd (ed.), England.
- Wijesekara, I. y Kim, S.K. 2010. Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitors from marine resources: prospects in the

- pharmaceutical industry. *Marine Drugs*. 8, 1080-1093.
- Wu, H.C., Pan, B.S., Chang, C.L. y Shiau, C.Y. 2005. Low-molecular-weight peptides as related to antioxidant properties of chicken essence. *Journal of Food and Drug Analysis*. 13, (2):176-183.
- Xu, Y., Han, X. y Li, Y. 2010. Effect of marine collagen peptides on long bone development in growing rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 1485-1491.
- Yongliang, Z., Bafang, L. y Xue, Z. 2009. The scavenging of free radical and oxygen species activities and hydration capacity of collagen hydrolysates from walleye pollock (*Theragra chalcogramma*) skin. *Journal of Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research)*. 8, (2):171-176.
- Zhang, Z., Li, G. y Shi, B. 2006. Physicochemical properties of collagen, gelatin, and collagen hydrolysate derived from bovine limited split wastes. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 90, 23-28.
- Zhao, Y., Li, B., Liu, Z., Dong, S., Zhao, X. y Zeng, M. 2007. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate. *Process Biochemistry*. 42, 1586-1591.
- Zhu, C.F., Li, G.Z., Peng, H.B., Zhang, F., Chen, Y. y Li, Y. 2010. Effect of marine collagen peptides on markers of metabolic nuclear receptors in type 2 diabetic patients with/without hypertension. *Biomedical and Environmental Sciences*. 23, 113-120.
- Zhuang, Y., Sun, L. y Li, B. 2010. Production of the angiotensin-I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptide from hydrolysates of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) collagen. *Food and Bioprocess Technology*. 5, (5):1622-1629.
- Zhuang, Y., Sun, L., Zhang, Y. y Liu, G. 2012. Antihypertensive effect of long-term oral administration of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) collagen peptides on renovascular hypertension. *Marine Drugs*. 10, 417-426.
- Zhuang, Y.L., Zhao, X. y Li, B.F. 2009. Optimization of antioxidant activity by response surface methodology in hydrolysates of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) umbrella collagen. *Journal of Zhejiang University Science B*. 10, (8):572-579.