

J. Van Camp (1), D. Demeyer (1,2), A. Huyghebaert (1)

(1) Vakgroep Levensmiddelentechnologie en Voeding

(2) Vakgroep Dierlijke Productie

Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen

Universiteit Gent

Peptiden hebben een belangrijke regulerende functie in het metabolisme van mens en dier. Naast peptiden van endogene oorsprong is hierin mogelijk ook een rol weggelegd voor exogene peptiden afkomstig uit de voeding. In dit overzichtsartikel wordt stilgestaan bij de definitie van biologisch actieve peptiden uit de voeding, hun mogelijke functies, het behoud van hun activiteit tijdens het doorlopen van de maag-darm-tractus en tijdens de verdere absorptie in het lichaam, en bij de toepassingsmogelijkheden van deze peptiden in de voeding van de mens.



De primaire functie van eiwitten in de voeding is de aanbreng van stikstof en essentiële aminozuren. De nutritionele waarde van een eiwit reflecteert de mate waarin het de eiwitbehoefte van de mens via de voeding dekt en wordt niet alleen bepaald door de aminozuursamenstelling van het eiwit, maar ook door de beschikbaarheid van de aanwezige aminozuren. De huidige kennis van de behoefte (normen) aan stikstof en essentiële aminozuren evenals de benaderingswijze zijn sterk verschillend voor mensen en productiedieren. In de veevoeding worden voor varkens en kippen rechtstreekse aminozuurnormen gehanteerd (18,5). Bij herkauwers wordt via het DVE (darm verteerbaar eiwit)-systeem een onderscheid gemaakt tussen darmverteerbaar bestendig eiwit, darmverteerbaar microbieel eiwit, en darmverteerbaar metabool faecaal eiwit (22). Met betrekking tot de voeding van de mens werden aminozuurscores (bv. PDCAAS of proteïn digestibility corrected amino acid score) uitgewerkt die, gelet op de nog beperkte kennis omtrent de aminozuurbehoeften voor de mens, zeker voor discussie vatbaar zijn (zie Nutrinews, november 1995).

Een bijkomend criterium voor de beoordeling van de nutritionele waarde van een eiwit is de aanwezigheid van aminozuursequenties die een bepaalde functie uitoefenen die los staat van hun primaire rol als nutriënt. Deze zogenaamde biologisch actieve peptiden (BAP's) worden tijdens de bewerking en verwerking van levensmiddelen en/of tijdens de vertering vrijgesteld en kunnen hetzij in het verteringskanaal, hetzij na absorptie en transport via de bloedbaan naar specifieke doelorganen, een invloed uitoefenen op het metabolisme van mens en dier.

BAP's worden doorgaans ingedeeld op basis van hun activiteit. Tomé (23) maakt hierbij een onderscheid tussen peptiden die de vertering en de opname van nutriënten beïnvloeden (bv. caseïne fosfopeptiden, casomorfines) en peptiden die een beschermende functie uitoefenen (bv. angiotensin-converting enzyme (ACE)-remmers, immunomodulerende peptiden, anti-trombotische peptiden).

Hoewel BAP's zowel in plantaardige (tarwe, soja, maïs) als in dierlijke voedingseiwitten (zuivelproducten) worden aangetroffen, is voorlopig vooral onderzoek verricht bij melkeiwit. Het feit dat melk door het dier/de mens geproduceerd wordt, met de bedoeling om opnieuw door het dier/de mens gebruikt te worden, sterkte immers het vermoeden voor de eventuele aanwezigheid van BAP's in melkeiwit. Tabel 1 geeft een overzicht van de belangrijkste BAP's die afgeleid zijn van koemelkeiwit en die verder worden besproken. Zij worden ingedeeld volgens functie en met aanduiding van de naam, de positie in het oorspronkelijk melkeiwit en de aminozuursequentie. De lettercodes voor aminozuren worden nader toegelicht in tabel 2.

Tabel 1 : Biologisch actieve peptiden uit koemelkeiwit (naar Meisel, 1997).

Peptiden	Nr (a)	Naam	Fragment	Aminozuursequentie (b)
casomorfines	1	β -casomorfine-11	β -CN(f60-70)	YFPFGPIPNSL
	2	β -casomorfine-5	β -CN(f60-64)	YFPFG
	3	α -caseïne exorfine	α_{s1} -CN(f90-96)	RYLGYLE
	4	α -caseïne exorfine	α_{s1} -CN(f90-95)	RYLGYL
fosfopeptiden	5	caseïne fosfopeptide	β -CN(f1-25)4P	RELEELNVPGEIVES*LS*S*S*EESITR
	6	caseïne fosfopeptide	α_{s1} -CN(f59-79)5P	QMEAES*IS*S*S*EEIVPNS*VEQK
ACE-remmers	7	β -casokinine-7	β -CN(f177-183)	AVPYPQR
	8	α_{s1} -casokinine-5	α_{s1} -CN(f23-27)	FFVAP
	9	α_{s1} -casokinine-6	α_{s1} -CN(f194-199)	TTMPLW
immunomodulator	10	immunopeptide	β -CN(f63-68)	PGPIP
anti-trombotisch	11	casoplateline	κ -CN(f106-116)	MAIPPCKNQDK
	12		I-TF(f39-42)	KRDS

(a) het nummer verwijst naar het peptide aangehaald in de tekst

(b) de weergegeven sequentie loopt van amino- naar carboxyluiteinde. Lettercombinaties zijn verduidelijkt in tabel 2.

Tabel 2 : Lettercodes voor aminozuren (naar Ariyoshi, 1993).

A	Alanine	G	Glycine	M	Methionine	S	Serine
C	Cysteine	H	Histidine	N	Asparagine	S*	Fosfoserine
D	Asparaginezuur	I	Isoleucine	P	Proline	T	Threonine
E	Glutaminezuur	K	Lysine	Q	Glutamine	V	Valine
F	Fenylalanine	L	Leucine	R	Arginine	W	Tryptofaan
						Y	Tyrosine

Peptiden met invloed op vertering en opname van nutriënten

Casomorfines

In verschillende melkeiwitten zijn aminozuursequenties aangetoond met opiate werking : dit zijn peptiden met een werkingsmechanisme dat vergelijkbaar is met morfine. Door interactie met morfine-gevoelige receptoren kunnen zij de activiteit van verschillende doelorganen (bv. darmwand, hersenen) beïnvloeden (15). Hun activiteit wordt geïnhibeerd door de antagonist naloxone. De termen 'exorfines' of 'formonen' (van 'food hormones') worden gebruikt om een onderscheid te maken met opiate peptiden van endogene oorsprong (bv. endorfines en dynorfines).

β -casomorfines zijn belangrijke agonisten met opiate activiteit. Zij worden geïsoleerd uit de sequentie 60-70 van β -caseïne (peptiden 1 en 2 in tabel 1). Ook exorfines uit α_{s1} -caseïnes (peptiden 3 en 4 in tabel 1) vertonen een behoorlijke agonistische activiteit, in tegenstelling tot κ -caseïnefragmenten (de 'casoxines'), die zich gedragen als opiate antagonisten (3). Uit wei-eiwitten werden α -lactorfine (uit α -lactalbumine), β -lactorfine (uit β -lactoglobuline), en serorfine (uit serum albumine) geïsoleerd. Zij vertonen een eerder zwakke agonistische activiteit in vergelijking met de casomorfines (14).

Casomorfines worden vaak in verband gebracht met een veranderde motiliteit in het spijsverteringskanaal. Exorfines (waaronder β -casomorfine) vertragen immers de maaglediging en

verhogen de transittijd van de voedselbrij. Het mechanisme houdt mogelijk verband met een directe interactie van β -casomorfines met opiate receptoren in de darmwand, maar het kan eveneens het gevolg zijn van een indirecte vrijstelling van endogene opiate peptiden die op hun beurt inwerken op de darmwand (8). Een transepitheliaal transport van pro-casomorfines of hun derivaten doorheen de darmmucosa zou bij dit laatste noodzakelijk zijn (4). Een mogelijk verder transport van β -casomorfines naar de hersenen staat nog ter discussie (8).

Exorfines worden verder ook in verband gebracht met de stimulatie van de postprandiale secretie van insuline en somatostatine, met de inductie van een verzadigingsgevoel en een verhoging van de netto absorptie van water en electrolyten in de dunne en de dikke darm (cfr. verminderen van diarree).

De activiteit van opiate peptiden wordt ten slotte onder meer bepaald door de aanwezigheid van een tyrosineresidu ter hoogte van de terminale aminogroep en een tweede aromatisch aminozuur (Fenylalanine of Tyrosine) op positie drie of vier vanaf de terminale aminogroep (15,14).

Fosfopeptiden

Diverse fosfopeptiden afgeleid uit α_{s1-} , α_{s2-} en β -caseïnes staan bekend om hun complexvorming met mineralen (calcium) en sporenelementen (ijzer, zink en koper) als gevolg van de aanwezigheid van negatief geladen fosfaatgroepen ter hoogte van serineresten, al dan niet in combinatie met glutaminezuurrestiduen (peptiden 5 en 6 in tabel 1). Dankzij deze sterke negatieve lading van de peptiden wordt de vorming van onoplosbaar calciumfosfaat in aanwezigheid van anorganisch fosfaat verhinderd, en wordt het peptide bovendien resistent tegen verdere hydrolyse in het verteringskanaal.

Defosforylatie van de peptiden of verlaging van de pH (i.e. verlaging van de dissociatiegraad van fosfoserylrestiduen) vermindert *in vitro* de bindingsaffiniteit voor calcium (2). Over de invloed van fosfopeptiden op de calciumabsorptie *in vivo* blijft onduidelijkheid bestaan (15). Een studie bij kuikens met radio-actief calcium suggereert evenwel dat fosfopeptiden de calciumopname *in vivo* verhogen zonder tussenkomst van vitamine D (17).

Peptiden met een beschermende functie

ACE-remmers

Het 'angiotensin-converting enzyme' (ACE) maakt deel uit van het renine-angiotensinesysteem dat een belangrijke rol speelt bij de regulatie van de bloeddruk en de water-electrolyt (natrium) huishouding. Het ACE wordt aangetroffen in verschillende weefsels (o.a. in longen, bloedvaten en de darmwand), en zorgt enerzijds voor de omzetting van het inactieve decapeptide angiotensine I in het actieve octapeptide angiotensine II, en anderzijds voor de inactivatie van het nonapeptide bradykinine (6). Een ACE-inhibitor verlaagt dus de productie van angiotensine II (een sterke vasoconstrictor) en spaart bradykinine, dat op zijn beurt de productie van stikstofoxide stimuleert (NO is een vasodilatant en potentieel inhibitor van de bloedplaatjesactiviteit) (13).

Diverse peptiden met een ACE-inhibitorische activiteit zijn aanwezig in voedingseiwit (o.a. in gelatine, caseïne, visewit en α -zeïne) (1). Casokinines geïsoleerd uit β -caseïne en α_{s1} -caseïne (peptiden 7, 8 en 9 in tabel 1) zijn vrij actief *in vitro*, in tegenstelling tot β -lactorfine en de hiervan afgeleide dipeptiden, die een eerder zwakke inhibitorische activiteit vertonen. Verschillende ACE-remmers bezitten proline of een positief geladen aminozurrest van Lysine of Arginine aan het carboxyluiteinde. Vervanging van Arginine aan het einde van de peptideketen kan het inhibitorische effect volledig neutraliseren (14). Bovendien kan de inhibitorische activiteit van een peptide verschillen naargelang de oorsprong van het ACE (1).

Aangezien bradykinine de activiteit van macrofagen en lymfocyten kan beïnvloeden, kunnen ACE-remmers ook optreden als potentiële immunomodulators (7). Migliore-Samour et al. (1989) toonden aan dat α_{s1} -casokinine-6 (peptide 9 in tabel 1) *in vitro* de fagocytose van rode bloedcellen door macrofagen vergroot. Het immunopeptide (peptide 10 in tabel 1), met een gelijkaardige

immunomodulatorische activiteit, maakt deel uit van de β -casomorfines (cfr. peptide 1 in tabel 1). Het vermoeden bestaat dat opiate peptiden de immunoreactiviteit van macrofagen en lymfocyten beïnvloeden via een opiate receptor (14).

Anti-trombotisch

De bloedstolling vertoont gelijkenis met de coagulatie van melkeiwit. Daarnaast werden ook structurele overeenkomsten tussen runder κ -caseïne en de γ -keten in fibrinogeen bij de mens beschreven. Fibrinogeen draagt bij tot de aggregatie van bloedplaatjes via een dodecapeptide aan het carboxyluiteinde van de α -keten, en via één of twee tetrapeptiden in de α -keten. Binding aan de bloedplaatjes gebeurt ter hoogte van receptoren die geactiveerd worden door ADP (adenosine-difosfaat) (12). Een undecapeptide uit runder κ -caseïne (peptide 11 in tabel 1) en een tetrapeptide afkomstig uit lactotransferrine bij de mens (peptide 12 in tabel 1) vertonen beide een inhiberend effect op de bloedplaatjesaggregatie en verlagen dus de bindingsaffiniteit van fibrinogeen met ADP-geactiveerde bloedplaatjes (12,7). Het effect is vermoedelijk toe te schrijven aan een competitie tussen de anti-trombotische peptiden en de actieve aminozuursequenties uit fibrinogeen voor de receptoren op de bloedplaatjes (14).

Invloed op zowel microbiële als dierlijke en humane cellen

Peptiden kunnen ten slotte ook een invloed hebben op zowel microbiële als dierlijke en humane cellen.

Van lactoferricine, een basisch antimicrobieel peptide van 25 aminozuren afgeleid van lactoferrine, is een anti-microbiële werking aangetoond door de verhoging van de permeabiliteit van de microbiële celmembraan (14).

Na incubatie met een yoghurtfractie van 500 tot 10.000 Dalton, bekomen door membraandialyse, vertoonden IEC-6 cellen (geïsoleerd uit de darmwand bij ratten) en caco-2 cellen (geïsoleerd uit het colon bij de mens) een significante daling in celdelingsactiviteit (9). Verder onderzoek zal echter moeten uitwijzen of peptiden deel uitmaken van de werkzame component van deze yoghurtfractie.

Tabel 3: Mogelijk werkingsmechanisme van biologisch actieve peptiden uit koemelkeiwit

Peptiden	Mogelijk werkingsmechanisme
casomorfines	<ul style="list-style-type: none"> • opiate werking • invloed op de motiliteit in het spijsverteringskanaal • stimulatie van de postprandiale secretie van insuline en somatostatine • inductie van de postprandiale secretie van insuline en somatostatine • inductie van een verhoging van de netto absorptie van water en electrolyten in de dunne en de dikke darm
fosfopeptiden	<ul style="list-style-type: none"> • complexvorming met mineralen en sporenelementen • verhindert de vorming van onoplosbaar calciumfosfaat in aanwezigheid van anorganisch fosfaat
ACE-remmers	<ul style="list-style-type: none"> • potentieel inhibitor van de bloedplaatjesactiviteit • potentiële immunomodulatoren

Worden biologisch actieve peptiden intact geabsorbeerd ?

De vraag blijft in welke mate BAP's in vivo tijdens de vertering worden vrijgesteld en in welke mate ze verder ongeschonden en met behoud van activiteit worden geabsorbeerd en getransporteerd naar de plaats van werking.

De aanwezigheid van BAP's in zuivelproducten is aangetoond: gerijpte kazen accumuleren casomorfines (15) en fosfopeptiden (19), gefermenteerde melk bevat peptiden met ACE-inhibitorische werking (27).

In het spijsverteringskanaal van Göttingen minipigs werd het β -casomorfine-11 (peptide 1 in tabel 1) en het α_{s1} -caseïne fragment 66-74 uit een caseïne fosfopeptide (peptide 6 in tabel 1) aangetoond na het voederen van een caseïnerijk dieet (14).

Wat betreft de intacte absorptie van peptiden blijven twijfels bestaan. In de darmwand zijn immers peptidasen aanwezig die peptiden hydrolyseren tot vrije aminozuren. Specifieke carriers voor peptiden zijn beschikbaar, maar deze beperken zich hoofdzakelijk tot het transport van di- en tripeptiden (24). Kwantitatieve gegevens omtrent de absorptie van intacte peptiden vanuit het darmlumen naar de bloedbaan zijn eveneens schaars. Dit komt doordat geschikte methodes voor de identificatie van een veelvoud aan peptiden in het bloed ontbreken (25). Daarnaast bestaat de kans dat geabsorbeerde peptiden zowel in vivo (4,15) als ex vivo (10) snel worden afgebroken. Ten slotte is het moeilijk om een onderscheid te maken met peptiden afkomstig van de eiwit-turnover (24). Meer wetenschappelijk onderzoek is dus vereist om hierover meer duidelijkheid te verschaffen.

Zijn er toepassingen voor BAP's in de voeding van de mens ?

De belangstelling voor voedingsmiddelen met een 'gezondheidsbevorderend' effect neemt de laatste jaren duidelijk toe. Als reactie hierop worden functionele voedingsmiddelen ontwikkeld voorzien van biologisch actieve verbindingen die beantwoorden aan een begeleidende 'functionele claim' of een 'gezondheidsclaim' (20). Of ook biologisch actieve peptiden in de toekomst deel zullen kunnen uitmaken van functionele voedingsmiddelen, zal moeten blijken uit verder wetenschappelijk onderzoek. Studies naar de ontwikkeling van voedingsmiddelen met ACE-inhibitorische werking illustreren de complexiteit van het gegeven. Yamamoto et al. (26) toonden aan dat een caseïne hydrolysaat op basis van een *Lactobacillus helveticus* CP790 proteïnase in vitro een ACE-inhibitorische activiteit bezit en in vivo resulteert in verlaging van de bloeddruk bij hypertensieve (SHR) ratten. De studie geeft echter geen duidelijkheid over het feit of het effect veroorzaakt werd door één of door verschillende peptiden met ACE-inhibitorische activiteit. Bovendien blijkt uit dezelfde studie dat het bloeddrukverlagend effect niet optreedt bij een andere stam (WKY) ratten. Meer recent werd melding gemaakt van tripeptiden uit gefermenteerde melk (11) en van een dodecapeptide met ACE-inhibitorische activiteit, geïsoleerd uit een enzymatisch hydrolysaat van caseïne, die zowel bij hypertensieve ratten als bij hypertensieve vrijwilligers mogelijkheden boden in de behandeling van hypertensie (21).

De laatste jaren raken steeds meer gegevens bekend omtrent de potentiële effecten van BAP's op het metabolisme van mens en dier. De betekenis van deze effecten onder fysiologische condities in het lichaam en bij toediening van de peptiden via de voeding is voorlopig nog grotendeels onduidelijk. De reeds beschikbare informatie geeft echter wel indicaties dat ook peptidensequenties in de toekomst een rol gaan spelen bij de beoordeling van de nutritionele waarde van een eiwit.

Literatuur

1. Ariyoshi, Y. (1993). Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 4, 139-144.
2. Berrocal, R., Chanton, S., Juillerat, M.A., Pavillard, B., Scherz, J.-C. & Jost, R. (1989). Tryptic phosphopeptides from whole casein. II. Physicochemical properties related to the solubilization of calcium. *Journal of Dairy Research*, 56, 335-341.
3. Chiba, H., Tani, F. & Yoshikawa, M. (1989). Opioid antagonist peptides derived from -casein. *Journal of Dairy Research*, 56, 363-366.
4. Daniel, H., Vohwinkel, M. & Rehner, G. (1990). Effect of Casein and -casomorphins on Gastrointestinal Motility in Rats. *Journal of Nutrition*, 120, 252-257.
5. De Schrijver, R. & Vande Ginste, J. (1998). Behoeftenormen voor aminozuren bij vleesvarkens. Brochure Ministerie van Middenstand en Landbouw, DG6, Contractueel Onderzoek, Brussel, 39 p.
6. Dzau, V.J. & Chobanian, A.V. (1996). Renin-Angiotensin System and Atherosclerotic Vascular Disease. In: Fuster, V., Ross, R. & Topol, E.J. (eds.) *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*, Lippincott-Raven Publ., Philadelphia, pp. 237-242.
7. Fiat, A.-M., Migliore-Samour, D., Jollès, P., Drouet, L., Sollier, C.B.D. & Caen, J. (1993). Biologically Active Peptides from Milk Proteins with Emphasis on Two Examples Concerning Antithrombotic and Immunomodulating Activities. *Journal of Dairy Science*, 76, 301-310.
8. Froetschel, M.A. (1996). Bioactive Peptides in Digesta That Regulate Gastrointestinal Function and Intake. *Journal of Animal Science*, 74, 2500-2508.
9. Ganjam, L.S., Thornton, W.H., Jr., Marshall, R.T. & Macdonald, R.S. (1997). Antiproliferative Effects of Yoghurt Fractions Obtained by Membrane Dialysis on Cultured Mammalian Intestinal Cells. *Journal of Dairy Science*, 80, 2325-2329.
10. Gardner, M.L.G. (1998). Transmucosal passage of intact peptides. In: Grimble, G.K. & Backwell, F.R.C. (eds.) *Peptides in Mammalian Protein Metabolism*. Portland Press, Ltd, London, pp. 11-30.
11. Hata, Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K., Nakamura, Y. & Takano, T. (1996). A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64, 767-771.
12. Jollès, P., Lévy-Toledano, S., Fiat, A.-M., Soria, C., Gillessen, D., Thomaidis, A., Dunn, F.W. & Caen, J.P. (1986). Analogy between fibrinogen and casein. Effect of an undecapeptide isolated from -casein on platelet function. *European Journal of Biochemistry*, 158, 379-382.
13. Lüscher, T.F. & Yang, Z. (1993). Calcium Antagonists and ACE Inhibitors. *Drugs*, 46, suppl. 2, 121-132.
14. Meisel, H. (1997). Biochemical Properties of Regulatory Peptides Derived from Milk Proteins. *Biopolymers*, 43, 119-128.
15. Meisel, H. & Schlimme, E. (1990). Milk proteins: precursors of bioactive peptides. *Trends in Food Science & Technology*, August, 41-43.
16. Migliore-Samour, D., Floc'H, F. & Jollès, P. (1989). Biologically active casein peptides implicated in immunomodulation. *Journal of Dairy Research*, 56, 357-362.
17. Mykkänen, H.M. & Wassermann, R.H. (1980). Enhanced Absorption of Calcium by Casein Phosphopeptides in Rachitic and Normal Chicks. *Journal of Nutrition*, 110, 2141-2148.
18. National Research Council (1994). *Nutrient Requirements of Poultry*, Report National Research Council, 9th edition, 155 p.
19. Pellegrino, L., Ferranti, P. & Resmini, P. (1998). Accumulation of casein phosphopeptides in Parmesan cheese during ripening. Abstract International Dairy Federation Nutrition Week, Wellington, 9-11 March.
20. Stephen, A.M. (1998). Regulatory Aspects of Functional Products. In: Mazza, G. (ed.) *Functional Foods. Biochemical & Processing Aspects*. Technomic Publishing, Inc., Lancaster, pp. 403-438.
21. Sugai, R. (1998). ACE Inhibitors and Functional Foods. Abstract International Dairy Federation Nutrition Week, Wellington, 9-11 March.
22. Tamminga, S., Van Straelen, W.M., Subnel, A.P.J., Meijer, R.G.M., Steg, A., Wever, C.J.G. & Blok, M.C. (1994). The Dutch Protein Evaluation System: the DVE/OEB-system. *Livestock production science*, 40, 139-155.
23. Tomé, D. (1995). Bioactive peptides from bovine milk protein. Abstract International Workshop:

To Review the Nutritional Aspects of Milk Proteins in Comparison with Other Proteins. Utrecht, March 13 and 14.

24. Webb, K.E., Jr. (1990). Intestinal Absorption of Protein Hydrolysis Products: A Review. *Journal of Animal Science*, 68, 3011-3022.
25. Webb, K.E., Dirienzo, D.B. & Matthews, J.C. (1993). Recent Developments in Gastrointestinal Absorption and Tissue Utilization of Peptides: A Review. *Journal of Dairy Science*, 76, 351-361.
26. Yamamoto, N., Akino, A. & Takano, T. (1994). Antihypertensive Effect of the Peptides Derived from Casein by an Extracellular Proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *Journal of Dairy Science*, 77, 917-922.
27. Yamamoto, N. (1997). Antihypertensive Peptides Derived from Food Proteins. *Biopolymers*, 43, 129-134.