

Péptidos bioactivos presentes en la leche: revisión

Bioactive peptides present in milk: review

Luis Collado¹, Tatiana García², Víctor Paredes², M^a José Ciudad^{1*}, Elena Garicano Vilar², Ismael San Mauro²

¹Departamento de Medicina Facultad de Medicina Universidad Complutense de Madrid. Plaza de Ramón y Cajal s/n, 28040. Madrid, España.

²Centros de Investigación en Nutrición y Salud (Grupo CINUSA). Madrid. España.

*mjciudad@ucm.es

Artículo de Revisión

Recibido: 10-05-2017

Aceptado: 04-10-2017

Resumen

Los péptidos bioactivos son un conjunto de moléculas de naturaleza proteica presentes en la leche de forma natural, con potenciales efectos beneficiosos en el organismo humano. El objetivo es realizar una revisión actualizada de la literatura científica sobre la acción de estos compuestos en el organismo. Se realizó una revisión bibliográfica con la base de datos MEDLINE como fuente de información. Selección de artículos científicos de las últimas 2 décadas y, de entre ellos, los artículos más relevantes sobre los diferentes compuestos y sus múltiples acciones biológicas. Se ha encontrado multitud de publicaciones recientes que registran las acciones biológicas de estos compuestos en el ser humano y muestran sus capacidades de protección de la salud y prevención de diversas patologías.

Palabras clave: leche, proteína, péptido, bioactivo.

Abstract

Bioactive peptides are a set of molecules of protein nature present in milk in natural form, with potential beneficial effects on the human body. The objective is to perform an updated review of the scientific literature on the action of these compounds in the human body. A bibliographic review was carried out with the MEDLINE database as an information source. Scientific articles from the last two decades were selected and, among them, the most relevant articles on the different compounds and their multiple biological actions. Many recent publications that record the biological actions of these compounds in the human being have been found and they show their capacities of protection of the health and prevention of diverse pathologies.

Key words: milk, protein, peptide, bioactive.

Introducción

Desde la aparición de la ganadería en la humanidad hace unos 5.000 años¹, la leche y los productos lácteos están presentes en la mayoría de las civilizaciones y culturas. Constituyen así uno de los pilares básicos de la alimentación² aportando numerosos beneficios tanto en la salud del niño como en la del adulto³ por lo que se recomiendan en todas las etapas de la vida. Esto lo convierte en un alimento básico en la sociedad occidental actual⁴.

En cuanto a las propiedades nutricionales, la leche de vaca (de ahora en adelante leche), en la que se centrará esta revisión, destaca entre otros alimentos por su alta concentración de nutrientes y su bajo poder calórico¹. Tiene gran adaptabilidad a las preferencias del consumidor en cuanto a su contenido en lípidos, y por presentar proteínas de alta biodisponibilidad y valor biológico debido a la presencia de todos los aminoácidos esenciales⁴. Refiriéndonos a su contenido lipídico, gracias al cual se vehiculizan las vitaminas liposolubles, destacan los ácidos grasos esenciales como el linoleico y el linolénico, así como otros componentes bioactivos de interés como son la esfingomiélna, y los ácidos grasos *trans* presentes de forma natural, cuyo perfil de isómeros es diferente al de las grasas elaboradas por procesos tecnológicos, relacionadas con las enfermedades cardiovasculares⁵. Estas grasas *trans* son precursoras del ácido linolénico conjugado (CLA) y poseen potenciales efectos beneficiosos para la salud a nivel cardiovascular, antitumoral, y de reducción de peso⁵⁻⁷.

Otro de sus beneficios es su contenido en vitaminas tan importantes como la vitamina A, beneficiosa en lo que respecta a mucosas, piel y visión⁸; y la vitamina D necesaria para la absorción del calcio y con un efecto muy importante en la salud ósea y en la reducción de fracturas⁹. Además, en el sector de los alimentos funcionales es uno de los productos más desarrollados comercialmente y estudiados, lo que aumenta aún más esa adaptabilidad al consumidor¹⁰. Por último, cabe mencionar que existen otros componentes minoritarios en la leche, pero cada vez con mayor interés para la comunidad científica, como son los péptidos bioactivos de los que va a tratar esta revisión y que ejercen efectos beneficiosos en la salud.

Estos efectos se van a producir sobre los procesos de la digestión, la resistencia a enfermedades, el desarrollo de órganos específicos, la inmunidad, etc. Los péptidos bioactivos son pequeñas fracciones proteicas que son liberados bien por acción de enzimas proteolíticas presentes en la leche, por enzimas de bacterias ácido lácticas o procedentes de fuentes exógenas durante la digestión gastrointestinal. De entre todos ellos se destacan los que se mencionan en la Tabla 1¹¹.

Por ello cada vez el campo de conocimiento se va ampliando y es necesario recopilar dicha información de forma actualizada. Por tanto, el objetivo es realizar una revisión actualizada de la literatura científica sobre la acción de los péptidos naturales de la leche de vaca en el organismo.

Material y métodos

El presente estudio se centra en la revisión de la literatura científica sobre el beneficio de péptidos activos presentes en la leche en diferentes enfermedades y circunstancias. Para ello, se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en la base de datos MEDLINE a través de su motor de búsqueda PubMed.

Tabla 1. Principales componentes proteicos de la leche

Proteína	Porcentaje
Caseínas	80
Fracciones péptido-proteosa	
Fosfoglicoproteínas	
Proteínas séricas menores: transferrina y albúmina sérica	5–10
Proteínas del suero de la leche	
–lactoglobulina	50–55
–lactalbúmina	20–25
Inmunoglobulinas	10–15
Glicomacropéptido	10–15
Lactoferrina	1–2
Lactoperoxidasa	0,5
Factores de crecimiento	

Para recuperar los estudios más relevantes se diseñaron distintas estrategias de búsqueda combinando las palabras clave según el tipo de estudio que se deseaba encontrar, con la mayor evidencia científica posible. La estrategia de búsqueda fue la siguiente: (bioactive[All Fields] AND ("peptides"[MeSH Terms] OR "peptides"[All Fields]) AND ("milk, human"[MeSH Terms] OR ("milk"[All Fields] AND "human"[All Fields]) OR OR "milk"[All Fields] OR "milk"[MeSH Terms])). A partir de estos resultados se realizó una segunda selección por dos revisores independientes, eligiendo los estudios dentro de un rango de 20 años, dando preferencia a los más recientes, y descartando aquellos estudios que no estaban relacionados con el objeto de esta revisión. Se siguió el mismo proceso para cada compuesto y el resto de problemas de salud.

Resultados

Péptidos en general

De la digestión de las proteínas ingeridas en la dieta se liberan aminoácidos libres y péptidos, que ejercen determinadas actividades biológicas tras su liberación mediante hidrólisis química o enzimática¹². Se establece que estos pueden atravesar el epitelio intestinal y llegar a tejidos periféricos por circulación sistémica, teniendo una acción específica a nivel local, en el tracto gastrointestinal, o en tejidos más distantes. Además, pueden alterar el metabolismo celular y actuar como vasorreguladores, factores de crecimiento, inductores hormonales y neurotransmisores¹³. Toda fuente de proteína es susceptible de aportar péptidos, y se pueden encontrar numerosos estudios basados en los diferentes péptidos bioactivos de distintos tipos de alimentos, como lácteos, pescado, soja o maíz. Algunos de ellos poseen funciones potencialmente tan importantes como antihipertensivos o estimulantes del sistema inmune¹⁴.

Péptidos en la leche

La fracción proteica de la leche contiene un gran número de compuestos bioactivos.

Caseínas

La caseína es una fosfoproteína que constituye la principal proteína de la leche (80 %). En la leche se encuentra en fase soluble asociada al calcio en un complejo denominado caseinógeno. Los principales componentes de la familia de caseínas bovinas son la κ -caseínas y α_1 -caseínas y de las caseínas humana- α y β -caseínas. El grupo de Artym y col.,¹⁵ llevó a cabo una extensa revisión sobre los péptidos bioactivos en la leche y observaron que algunos derivados de la caseína, se utilizaban para tratar el cáncer o el síndrome de la boca seca. Por otro lado, los hidrolizados de caseína, que contienen tripéptidos activos, se han utilizado en el manejo de la hipertensión y en el de diabetes tipo 2. Asimismo, el polipéptido rico en prolina (PRP), se introdujo a la terapia de los pacientes con enfermedad de Alzheimer y su valor terapéutico fue probado en varios ensayos clínicos.

Se han observado variaciones del efecto en el organismo de ciertas caseínas asociados con las diferencias genéticas que vienen determinadas por algunos polimorfismos propios de la conformación de la proteína. En este sentido, Kami ski y col.,¹⁶ observaron polimorfismos genéticos para la beta-caseína, con un total de 13 alelos diferentes que le otorgan diferencias en su presentación química y función biológica. Por ejemplo, en Nueva Zelanda, el consumo de beta-caseína A1 se asoció con mayores tasas de mortalidad de la cardiopatía isquémica mientras que las poblaciones que consumían leche que contiene altos niveles de beta-caseína A2, tenían una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo II. Por otro lado, la ingesta de leche de vaca en general, y en particular el péptido bioactivo beta-casomorphin 7 (BCM-7) ha sido sugerido como una posible asociación con el autismo y la esquizofrenia^{16,17}. Por otro lado, se han encontrado homologías entre un fragmento de la κ -caseína bovina llamado casoplatelina y la cadena del fibrinógeno humano, por lo que podría ésta favorecer una actividad antitrombótica inhibiendo la unión plaquetaria¹⁸.

Fracciones péptido-proteosa

Las fracciones péptido-proteasa (*proteose-peptone, p-p*) son proteínas termorresistentes y solubles en medio ácido¹⁹. La mayoría de estos compuestos son fosfopéptidos, productos de degradación de la digestión de las caseínas por acción de la plasmina, una proteasa natural de la leche. Una clasificación aceptada trata de agruparlos en, al menos, 3 componentes electroforéticamente diferentes: PP3, PP5 y PP8. En leche fresca de calidad, la fracción p-p representa un 10 % de la proteína del suero¹⁹. La PP3 (lactoforina) es una proteína fosforilada formada por 7 componentes polipeptídicos (LP1-7), de entre 17 y 67 kDa. La lactoforina ha sido encontrada en la leche de vaca y otros rumiantes, pero no se expresa en leche humana^{20, 21}.

La lactoforina es el péptido correspondiente al fragmento 113-135 del terminal C- de la PP3 (PP3 f(113-135)). Es capaz de interactuar con bicapas lipídicas (como las membranas bacterianas) y se cree que, gracias a ello, presenta una actividad inhibitoria del crecimiento de bacterias gram-positivas y gram-negativas, llegando a inhibir al 100 % el crecimiento de la cepa no patógena de *Streptococcus thermophilus* durante un ensayo, sin producir hemólisis de eritrocitos humanos a las concentraciones utilizadas²⁵. Kim y col.,²² otorgaron a este compuesto diversas funcionalidades biológicas como antimicrobiano, inhibidor de la lipólisis, actividad mitogénica e inmunoestimuladora. Algunas investigaciones apuntan que con las células hibridoma HB4C5 diseñadas para la producción de histonas e IgM en cultivo celular el PP3 purificado de leche desnatada aumenta la producción celular de IgM²³, lo que se asocia

de forma inicial con la protección frente a una infección de rotavirus humano²⁴. A pesar de existir estudios sobre sus propiedades morfoquímicas, aún existe escasa evidencia sobre la funcionalidad biológica de estos componentes en humanos. Pero aún faltan estudios de un escalado en la evidencia científica mayor, que trasladen y comprueben dichos resultados en humanos.

Fosfoglicoproteínas

A pesar de que ya se ha comentado el papel de la lactoforina como componente de la fracción péptido-proteasa, otras fosfoglicoproteínas presentes en la leche son:

Osteopontina (OPN): es una fosfoglicoproteína ácida de 300 aminoácidos, con 28 de ellos fosforilados, altamente presentes en tejido óseo, aunque también puede observarse en otros tejidos y fluidos, sobre todo en la leche. La osteopontina bovina parece inducir *in vitro* la expresión de citoquinas IL-12 en linfocitos T1-helper, esto, es especialmente importante en el neonato ya que estimula esta producción en células inmunitarias intestinales²⁶. Se conocen diferentes acciones de este péptido, tales como: colaborar en la migración, adhesión y señalización celular²⁷, en el desarrollo de tumores y metástasis, tener un valor pronóstico en el cáncer de mama²⁸⁻³⁰, o regular la calcificación ósea y ectópica³¹. La osteopontina está presente en las calcificaciones patológicas, y en las renales de oxalato cálcico, también parece tener acción en la inhibición de la formación de hidroxapatita³². Sin embargo, los estudios más recientes han demostrado que al contrario que la osteopontina ósea (38 % fosforilada), la de la leche está casi completamente fosforilada (96 %) y podría promover la formación de este mineral dentario³³. Por otro lado, y debido a su fosforilación serviría para prevenir la calcificación de tejidos blandos³⁴. También se ha asociado negativamente con la anormal respuesta inmunológica en enfermedad de Crohn, y de forma beneficiosa en el mantenimiento de la homeostasis inmunitaria y reparación de la mucosa intestinal³⁵.

Proteínas séricas menores

Albúmina sérica bovina (BSA)

La albúmina sérica bovina no se sintetiza en la glándula mamaria, sino que pasa desde el torrente sanguíneo a la leche. Inhibe el crecimiento de células mamarias tumorales³⁶.

Proteínas del suero

-lactoglobulina (-LG)

La -LG representa aproximadamente la mitad del total de las proteínas del suero de la leche. Además de ser una fuente esencial es conocida por unir ligandos hidrófobos como ácidos grasos, vitaminas esteroideas, retinoides, vitamina D y colesterol³⁷⁻³⁹. Igualmente presenta un potencial efecto modulador de la respuesta linfática⁴⁰. También se han estudiado sus posibles interacciones con algunos ácidos cítricos como la narginina⁴¹. Se ha demostrado, en ratones, que la -LG funciona como ligando del -caroteno llegando a ser tan eficiente como una emulsión. Esto podría hacernos pensar que la -LG podría ser un buen reservorio de -caroteno empleándose, por ejemplo, para la producción de alimentos enriquecidos⁴².

-lactalbúmina (-LA)

La -LA es una proteína del tipo albúmina presente en un 20-25 % en las proteínas del suero de la leche y con fuerte capacidad de unión del calcio. En su composición destacan aminoácidos esenciales como el triptófano y la cisteína además de aminoácidos de cadena ramificada. Además, la -LA purificada se utiliza en la fabricación de fórmulas infantiles ya que contiene la mayor parte del perfil de proteínas, estructuralmente similares, a la leche materna⁴³.

Antagonistas de opioides: Una de las propiedades que destaca en la α -LA (y también en la β -LG) es la de ser antagonistas de opioides ya que se comportan como ligandos que compiten por sus receptores, aunque este efecto es mucho mayor en las α -caseínas y β -caseínas. Esto es debido al residuo de tirosina en el extremo N-terminal acompañado de un residuo aromático (fenilalanina, Phe o tirosina, Tyr) en la 3ª o 4ª posición del péptido, característica similar a los opioides^{44,45}. Solo una minoría de sus efectos bioactivos se ha podido demostrar en estudios en humanos. Por ello se necesitan más estudios para probar dichos efectos en seres humanos y, ver su posible beneficio en la salud de los mismos⁴⁵.

Antihipertensiva (inmunomoduladora): Por otra parte, se ha visto que en la simulación del proceso digestivo, ciertos péptidos bioactivos como α -LA y β -LG presentan una función antihipertensiva debido a su efecto inhibitorio de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)⁴⁶. Además, al actuar como inhibidores de la ECA promueven una mayor producción fisiológica de bradiquinina, un péptido vasodilatador e inmunoestimulante que favorece la migración de linfocitos y la secreción de linfoquinas⁴⁷. Determinadas fracciones de casoquininas (α y β caseína) y lactoquininas (α -LA y β -lactoglobulina) tienen capacidad de inhibir la ECA, con un efecto fundamentalmente antihipertensivo pero también con acción inmunomoduladora y reguladora del sistema nervioso⁴⁸.

Antiulcerosa, anti-Helicobacter: Se ha demostrado, en modelo animal con ratas, una actividad antiulcerosa de la α -LA observándose hasta un 82 % de reducción de úlceras causadas por etanol. También, en ratas, parece poseer propiedades anti-Helicobacter⁴⁹ y una fuerte actividad antiulcerosa en úlceras producidas por estrés. Tanto en este caso como en el anterior, en los estudios *in vivo* como *in vitro* se observó que fortalece la capa de gel mucoso de mediante la estimulación de la producción de mucina siendo este efecto independiente de la mejora endógena prostaglandina E-2 (PGE-2), por ello, se sugiere que presenta una gran actividad gastroprotectora⁵⁰.

Antitumoral: Se ha visto recientemente que presenta propiedades antiinflamatorias basadas en la inhibición de la ciclooxigenasa 2, además de su eficacia en carcinogénesis en colon⁵¹.

Inmunomoduladora: También la α -LA tanto en su estado natural como hidrolizada, mejora la respuesta de anticuerpos frente a la estimulación por antígenos⁵². También se ha observado un efecto directo sobre la función de los linfocitos B, así como la supresión de la respuesta de células T-dependiente e -independiente⁵³.

Inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas (Ig) gamma-globulinas que se encuentran en concentraciones de un 10-15 % en la leche. Existen cinco tipos diferentes de anticuerpos IgA, IgD, IgE, IgG, y IgG. La leche de vaca por su contenido en Ig (IgG, IgA, IgM), ha mostrado eficacia en la prevención de las infecciones por bacterias, virus y protozoos¹⁰. Un estudio *in vitro* demostró que la concentración de IgG en leche bovina oscila entre 0,6-0,9 mg/mL lo que podría conferir cierto grado de inmunidad a los humanos al ingerirla⁵⁴.

Caseinfosfopéptidos

Los caseinfosfopéptidos son productos derivados de la digestión de las caseínas por la tripsina del páncreas, y se consideran transportadores de minerales gracias a su capacidad de fijar y solubilizar iones calcio, además interactúan con los receptores o canales celulares para permitir su paso a las células⁵⁶. En ocasiones se utilizan como productos añadidos a leches fermentadas a fin de aumentar la absorción de calcio. Junto con otros productos como

inulinofructanos y suplementos de Ca se ha demostrado que reducen la resorción ósea nocturna gracias a un posible aumento de su absorción intestinal⁵⁷; sin embargo, no existe evidencia de su efectividad y en algunos casos es incluso contradictoria^{58,59}. En mujeres postmenopáusicas los caseinfosfopéptidos presentes en la leche no ayudan a mejorar el metabolismo de cálcico⁶⁰.

Lactoferrina

La lactoferrina (LF) es una glicoproteína ligadora de hierro de la familia de las transferrinas, estando presente en diversas secreciones como saliva, lágrimas, leche, semen y secreciones mucosas. Posee una alta afinidad por los iones Fe^{3+} aunque la unión es reversible. Todavía no existe evidencia suficiente de que la lactoferrina juegue un papel principal en el transporte o el metabolismo del hierro, sin embargo, sí que influye sobre su disponibilidad⁶¹. Algunas de sus funciones más recientemente estudiadas son las funciones, morfogénicas, antiinflamatorias y antitumorales, debido a la capacidad de la LF de regular diferentes vías de señalización celular, ya que es capaz de unirse a un gran número de células epiteliales e inmunitarias. Esta regulación a nivel molecular es todavía, en gran parte, desconocida. Sus potenciales usos terapéuticos como antimicrobiano, antiinflamatorio y prevención-tratamiento del cáncer están siendo estudiados *in vivo* en la actualidad⁶².

Proliferación celular: Se ha visto en ensayos con ratones *in vitro* e *in vivo* que aumenta la diferenciación de los enterocitos, interviniendo en la regulación de la expresión genes relacionados con la proliferación y diferenciación celular. La suplementación con lactoferrina bovina aumentó el tamaño de los villi yeyunales y la expresión de diferentes enzimas en el borde en cepillo de las células intestinales, reduciéndose la apoptosis espontánea de este linaje celular⁶³. La lactoferrina bovina también estimula la proliferación celular de las criptas *in vivo*, promoviendo la expresión de β -catenina a través de la vía de señalización Wnt⁶⁴.

Sistema inmune: La lactoferrina secuestra el hierro, reduciendo el estrés oxidativo y alterando la cantidad de citoquinas producidas. Asimismo es capaz de modular el sistema inmune promoviendo la polarización de células *T-helpers*, la maduración de células B y la producción de ROS intracelulares, activando y dirigiendo la respuesta del sistema inmune⁶⁵. La administración oral de lactoferrina en modelo animal también tiene efectos protectores contra diversas enfermedades, induciendo la respuesta inmune sistémica y periférica frente a patógenos, reduciendo además los síntomas y manteniendo la homeostasis durante una infección⁶⁶. El grupo de Wakabayashi y col.⁶⁷, revisó extensamente el papel de la lactoferrina en diferentes enfermedades de tipo vírico, y observaron que no hay eficacia significativa contra la hepatitis C pero sí contra otras infecciones víricas comunes: resfriado común, influenza, gastroenteritis viral, resfriado de verano (producidos por enterovirus) y herpes.

Morfogénesis y ósea: La lactoferrina es una de las glicoproteínas responsables en la regulación del metabolismo óseo. Activa la proliferación de osteoblastos y la secreción de la matriz ósea, inhibiendo la apoptosis de los osteoblastos y la osteoclastogénesis. La administración de lactoferrina en roedores previene la pérdida ósea y acelera su curación⁶⁸, lo que debería favorecer estudios futuros para su utilización en la osteoporosis como tratamiento o prevención de la misma.

Cáncer: La lactoferrina ha demostrado tener actividad potencialmente anticancerígena, aunque se desconoce su mecanismo de acción a este nivel. Durante un estudio *in vitro*⁶⁹, se observó que permanece estable en un grupo panel de células mamarias cancerígenas y además fue capaz de internalizarse en ellas, e inhibir de manera selectiva el crecimiento de células cancerígenas frente a células normales. Se cree que la lactoferrina es capaz de

detener el ciclo celular (sin inducir la apoptosis) y que, además, la exposición a la misma aumenta los niveles celulares de fosfo-AMPK y disminuye los de mTOR (*mammalian target of rapamycin*), indicando una posible vía de acción relacionada con la inducción del estrés nutriente-energético⁶⁹.

Lactoperoxidasa

La lactoperoxidasa es una importante enzima en la fracción del suero de la leche que permanece tras el proceso de la formación del cuajo. Representa un 0,25-0,50 % de la proteína total encontrada en el suero. Presenta la capacidad de catalizar ciertas moléculas como por ejemplo, la reducción de hidrógeno peróxido⁷⁰, lo que supondría una ventaja en el control de la oxidación celular. No se inactiva durante el proceso de pasteurización, por lo que presenta estabilidad térmica como conservante. También cataliza la peroxidación de tiocinato y algunos haluros como el yodo y el bromo, que generaran productos inhibidores de ciertas especies bacteriana, por lo que tiene una actividad antibacteriana⁷¹.

Factores de crecimiento

Betacelulina

La betacelulina es una hormona de la familia de los factores de crecimiento epidérmicos (EGF, por sus siglas en inglés), expresada en diversos tejidos, que promueve el crecimiento de diferentes células en el cuerpo humano. Esta hormona también ha sido encontrada en leche de vaca con un importante papel en el de crecimiento y desarrollo del tracto gastrointestinal neonatal⁷². Esta hormona parece prevenir la apoptosis de las células de los islotes pancreáticos, además de promover el crecimiento y diferenciación de células⁷³; por otro lado, también puede tener un rol importante en el desarrollo del cáncer pulmonar, por su capacidad de estimular una sobreproducción de interleuquinas, unido a su efecto de un cierto aumento de la resistencia a algunas terapias antitumorales⁷⁴.

Conclusiones

La leche de vaca y derivados lácteos contienen numerosas secuencias peptídicas que determinan funciones fisiológicas importantes y modulan diferentes procesos regulatorios. Las investigaciones realizadas sobre péptidos bioactivos en productos lácteos y derivados indican que, aunque el mecanismo fisiológico de estos péptidos aún no es claro, ofrecen un gran potencial para el desarrollo de alimentos funcionales. Hay distintas áreas donde parece haber una posible función y beneficio para el humano, tales como a nivel antiplaquetario, del sistema nervioso, antagonistas de opioides, antiulceroso y antitumoral. Pero aún son estudios con un grado de evidencia modesta, y son necesarios profundizar en más ensayos, realizados en humanos.

Referencias bibliográficas

1. Jones BL, Raga TO, Liebert A, Zmarz P, Bekele E, Danielsen ET et al. Diversity of lactase persistence alleles in Ethiopia: signature of a soft selective sweep. *Am J Hum Genet.* 2013; 93(3):538-44.
2. Dapcich V, Salvador Castell G, Ribas Barba L, Pérez Rodrigo C, Araceta Bartrina J, Serra Majem L. *Consejos para una alimentación saludable*. Sociedad Española Nutrición Comunitaria, 2007.
3. Prentice AM. Dairy products in global public health. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99(5):1212S-6S.

4. Bonet B, Dalmau J, Gil I, Gil P, Juarez M, Matía PM, Ortega Anta R. *Libro blanco de los lácteos*. Ed. 1ª. Madrid, 2007. ISBN: 978-84-612-7466-6
5. Wang Q, Imamura F, Lemaitre RN, Rimm EB, Wang M, King IB et al. Plasma phospholipid trans-fatty acids levels, cardiovascular diseases, and total mortality: the cardiovascular health study. *J Am Heart Assoc*. 2014; 3(4)
6. Nunes JC, Torres AG. Conjugated linoleic acid (CLA) in cheese: Analysis, composition and dietary intake. *Handbook on Cheese: Production, Chemistry and Sensory Properties* 2013.
7. Park Y. Conjugated Linoleic Acid in Human Health Effects on Weight Control. En: *Nutrition in the Prevention and Treatment of Abdominal Obesity*. March 2014.
8. Chapman MS. Vitamin a: history, current uses, and controversies. *Semin Cutan Med Surg*. 2012; 31(1):11-6.
9. Rizzoli R. Dairy products, yogurts, and bone health. *Am J Clin Nutr*. 2014; 99(5):1256S-62S
10. San Mauro-Martin I, Collado- Yurrita L, Ciudad-Cabanás MJ, Cuadrado-Cenzual MC, Hernández-Cabria M, Calle-Purón ME. Manejo del riesgo de enfermedad cardiovascular con leche enriquecida en esteroles en población joven adulta; ensayo clínico controlado aleatorizado y cruzado. *Nutr Hosp*. 2014; 30(4):945-951.
11. Marshall K. Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev*. 2004; 9(2):136-56.
12. Meisel H. Overview on milk protein-derived peptides. *Int Dairy J*. 1998; 8:363-73.
13. Roberts PR, Zaloga GP. Dietary bioactive peptides. *New Horiz*. 1994; 2(2):237-43.
14. Kitts DD. Bioactive substances in food: identification and potential uses. *Can J Physiol Pharmacol*. 1994; 72(4):423-34.
15. Artym J, Zimecki M. Milk-derived proteins and peptides in clinical trials. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2013; 67:800-16.
16. Kami ski S, Ciesli ska A, Kostyra E. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *J Appl Genet*. 2007; 48(3):189-98.
17. Lucarelli S, Frediani T, Zingoni AM, Ferruzzi F, Giardini O, Quintieri F, Barbato M, D'Eufemia P, Cardi E. Food allergy and infantile autism. *Panminerva Med*. 1995; 37(3):137-41.
18. Haque E, Chand R, Kapila S. Biofunctional Properties of Bioactive Peptides of Milk Origin *Food Rev. Int*. 2008; 25(1):28-43.
19. Candioti MC. Respuesta de las proteínas del suero de la leche bovina a la acción de diversas enzimas proteolíticas de uso industrial [Tesis]. Santa Fe: Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral; 2012.
20. Fleminger G, Ragones H, Merin U, Silanikove N, Leitner G. Low molecular mass peptides generated by hydrolysis of casein impair rennet coagulation of milk. *Int. Dairy J*. 2013; 30(2):74-78.
21. Ohno F, Sugahara T, Kanda K, Nishimoto S. Proteose peptone fraction of bovine milk depressed IgE production in vitro and in vivo. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2010; 74(7):1332-7.
22. Kim Y, Atalla H, Mallard B, Robert C, Narrow N. Changes in Holstein cow milk and serum proteins during intramammary infection with three different strains of *Staphylococcus aureus*. *BMC Vet Res*. 2011; 7:51.
23. Sugahara T, Onda H, Shinohara Y, Horii M, Akiyama K, Nakamoto K et al. Immunostimulation effects of proteose-peptone component 3 fragment on human hybridomas and peripheral blood lymphocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1725(2):233-40.
24. Inagaki M, Xijier, Nakamura Y, Takahashi T, Yabe T, Nakagomi T et al. Production and functional properties of dairy products containing lactophorin and lactadherin. En: Y. El-Samragy (Ed.). *Food Additives*. InTech, Rijeka, Croatia; 2012. p. 49–64.

25. Campagna S, Mathot AG, Fleury Y, Girardet JM, Gaillard JL. Antibacterial activity of lactophorin, a synthetic 23-residues peptide derived from the sequence of bovine milk component-3 of proteose peptone. *J Dairy Sci.* 2004; 87(6):1621-6.
26. Schack L, Lange A, Kelsen J, Agnholt J, Christensen B, Petersen TE et al. Considerable variation in the concentration of osteopontin in human milk, bovine milk, and infant formulas. *J Dairy Sci.* 2009; 92(11):5378-85.
27. Weber GF, Zawaideh S, Hikita S, Kumar VA, Cantor H, Ashkar S.J. Phosphorylation-dependent interaction of osteopontin with its receptors regulates macrophage migration and activation. *Leukoc Biol.* 2002; 72(4):752-61.
28. Pang H, Lu H, Song H, Meng Q, Zhao Y, Liu N et al. Prognostic values of osteopontin-c, E-cadherin and β -catenin in breast cancer. *Cancer Epidemiol.* 2013; 37(6):985-92.
29. Bramwell VH, Tuck AB, Chapman JA, Anborgh PH, Postenka CO, Al-Katib W et al. Assessment of osteopontin in early breast cancer: correlative study in a randomised clinical trial. *Breast Cancer Res.* 2001; 16(1):R8.
30. Ramchandani D, Weber GF. An osteopontin promoter polymorphism is associated with aggressiveness in breast cancer. *Oncol Rep.* 2013; 30(4):1860-8.
31. Holt C, Sørensen ES, Clegg RA. Role of calcium phosphate nanoclusters in the control of calcification. *FEBS J.* 2009; 276(8):2308-23.
32. Standal T, Borset M, Sundan A. Role of osteopontin in adhesion, migration, cell survival and bone remodeling. *Exp Oncol.* 2004; 26(3):179-84.
33. Gericke A, Qin C, Spevak L, Fujimoto Y, Butler WT, Sørensen ES, Boskey AL. Importance of Phosphorylation for Osteopontin Regulation of Biomineralization. *Calcif Tissue Int.* 2005; 77(1): 45–54.
34. Pampena DA, Robertson KA, Litvinova O, Lajoie G, Goldberg HA, Hunter GK. Inhibition of hydroxyapatite formation by osteopontin phosphopeptides. *Biochem J.* 2004; 378(Pt 3):1083-7.
35. Agnholt J1, Kelsen J, Schack L, Hvas CL, Dahlerup JF, Sørensen ES. Osteopontin, a protein with cytokine-like properties, is associated with inflammation in Crohn's disease. *Scand J Immunol.* 2007; 65(5):453-60.
36. Pepe G, Tenore GC, Mastrocinque R, Stusio P, Campiglia P. Potential Anticarcinogenic Peptides from Bovine Milk. *J Amino Acids.* 2013; 2013:939804.
37. Le Maux S, Bouhallab S, Giblin L, Brodkorb A, Croguennec T. Bovine β -lactoglobulin/fatty acid complexes: binding, structural, and biological properties. *Dairy Sci Technol.* 2014; 94:409-426.
38. Kontopidis G, Holt C, Sawyer L. The ligand-binding site of bovine beta-lactoglobulin: evidence for a function? *J Mol Biol.* 2002; 318(4):1043-55
39. Kontopidis G, Holt C, Sawyer L. Invited review: beta-lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *J Dairy Sci.* 2004; 87(4):785-96.
40. Guimont C, Marchall E, Girardet JM, Linden G. Biologically active factors in bovine milk and dairy byproducts: influence on cell culture. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997; 37:393-410.
41. Sahihi M, Ghayeb Y. An investigation of molecular dynamics simulation and molecular docking: interaction of citrus flavonoids and bovine β -lactoglobulin in focus. *Comput Biol Med.* 2014; 51:44-50.
42. Mensi A, Borel P, Goncalves A, Nowicki M, Gleize B, Roi S, Chobert JM, Haertlé T, Reboul E. β -lactoglobulin as a vector for β -carotene food fortification. *J Agric Food Chem.* 2014; 62(25):5916-24.
43. Heine W.E., Klein P.D., Reeds P.J.: The importance of alpha-lactalbumin in infant nutrition. *J Nutr.* 1991; 121: 277-283
44. Teschemacher H, Koch G. Opioids in the milk. *Endocr Regul.* 1991;25(3):147-50.

45. Teschemacher H. Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Curr Pharm Des.* 2003;9(16):1331-44.
46. Hernández-Ledesma B, Amigo L, Ramos M, Recio I. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. Formation of peptides under simulated gastrointestinal digestion. *J Agric Food Chem.* 2004; 52(6):1504-10.
47. Haque E, Chand R, Kapila S. Biofunctional Properties of Bioactive Peptides of Milk Origin. *Food Rev Int.* 2008; 25(1):28-43.
48. Gobetti M, Stepaniak L, De Angelis M, Corsetti A, Di Cagno R. Latent Bioactive Peptides in Milk Proteins: Proteolytic Activation and Significance in Dairy Processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2002; 42(3):223-239.
49. Sachdeva A, Rawat S, Nagpal J. Efficacy of fermented milk and whey proteins in *Helicobacter pylori* eradication: a review. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(3):724-37.
50. Ushida Y, Shimokawa Y, Toida T, Matsui H, Takase M. Bovine alpha-lactalbumin stimulates mucus metabolism in gastric mucosa. *J Dairy Sci.* 2007; 90(2):541-6.
51. Yamaguchi M, Takai S, Hosono A, Seki T. Bovine milk-derived α -lactalbumin inhibits colon inflammation and carcinogenesis in azoxymethane and dextran sodium sulfate-treated mice. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2014; 78(4):672-9.
52. Bounous G, Kongshavn PA. Influence of dietary proteins on the immune system of mice. *J Nutr.* 1982; 112:1747-1755.
53. Bounous G, Kongshavn PA. Differential effect of dietary protein type on the B-cell and T-cell immune responses in mice. *J Nutr* 1985; 115:1403-1408.
54. Kulczycki A Jr, MacDermott RP. Bovine IgG and human immune responses: Con A-induced mitogenesis of human mononuclear cells is suppressed by bovine IgG. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985; 77:255-258.
55. Brody EP. Biological activities of bovine glycomacropeptide. *Br J Nutr* 2000; 84:S39-S46.
56. Cosentino S, Gravaghi C, Donetti E, Donida BM, Lombardi G, Bedoni M et al. Caseinphosphopeptide-induced calcium uptake in human intestinal cell lines HT-29 and Caco2 is correlated to cellular differentiation. *J Nutr Biochem.* 2010; 21(3):247-54.
57. Adolphi B, Scholz-Ahrens KE, de Vrese M, Açil Y, Laue C, Schrezenmeir J. Short-term effect of bedtime consumption of fermented milk supplemented with calcium, inulin-type fructans and caseinphosphopeptides on bone metabolism in healthy, postmenopausal women. *Eur J Nutr.* 2009; 48(1):45-53.
58. López-Huertas E, Teucher B, Boza JJ, Martínez-Férez A, Majsak-Newman G, Baró L et al. Absorption of calcium from milks enriched with fructo-oligosaccharides, caseinophosphopeptides, tricalcium phosphate, and milk solids. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83(2):310-6.
59. Mora-Gutierrez A, Farrell HM, Attaie R, McWhinney VJ, Wang C. Influence of bovine and caprine casein phosphopeptides differing in α 1-casein content in determining the absorption of calcium from bovine and caprine calcium-fortified milks in rats. *J Dairy Res.* 2007; 74(3):356-66.
60. Narva M, Kärkkäinen M, Poussa T, Lamberg-Allardt C, Korpela R. Caseinphosphopeptides in milk and fermented milk do not affect calcium metabolism acutely in postmenopausal women. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22(1):88-93.
61. Rodrigues L, Teixeira J, Schmitt F, Paulsson M, Månsson HL. Lactoferrin and cancer disease prevention. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2009; 49(3):203-17.
62. Ward PP, Paz E, Conneely OM. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62(22):2540-8.
63. Blais A, Fan C, Voisin T, Aattouri N, Dubarry M, Blachier F et al. Effects of lactoferrin on intestinal epithelial cell growth and differentiation: an in vivo and in vitro study. *Biometals.* 2014; 27(5):857-74.

64. Reznikov E, Comstock S, Yi C, Contractor N, Donovan S. Dietary Bovine Lactoferrin Increases Intestinal Cell Proliferation in Neonatal Piglets. *J. Nutr.* 2014; 144(9): 1401-1408.
65. Kruzel ML, Actor JK, Boldogh I, Zimecki M. Lactoferrin in health and disease. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2007; 61:261-7.
66. Teraguchi S, Wakabayashi H, Kuwata H, Yamauchi K, Tamura Y. Protection against infections by oral lactoferrin: Evaluation in animal models. *Biometals* 2004; 17:231-234.
67. Wakabayashi H, Oda H, Yamauchi K, Abe F. Lactoferrin for prevention of common viral infections, *J Infect Chemother* 2014; 20(11):666-671.
68. Włodarski KH, Galus R, Brodzikowska A, Włodarski PK, Wojtowicz A. The importance of lactoferrin in bone regeneration. *Pol Merkur Lekarski*. 2014; 37(217):65-7.
69. Zhanga Y, Nicolaub A, Limac C, Rodrigues L. Bovine Lactoferrin Induces Cell Cycle Arrest and Inhibits Mtor Signaling in Breast Cancer Cells. *Nutr. Cancer*. 2014; 66(8): 1371-1385.
70. Bjorck L. Antibacterial effect of the lactoperoxidase system on psychotrophic bacteria in milk. *J Dairy Res* 1978; 45:109-118.
71. Kussendrager KD, van Hooijdonk AC. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *Br J Nutr* 2000; 84:S19-S25.
72. Kilara A, Panyam D. Peptides from milk proteins and their properties. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2003; 43(6):607-33.
73. Song MY, Bae UJ, Jang KY, Park BH. Transplantation of betacellulin-transduced islets improves glucose intolerance in diabetic mice. *Exp Mol Med*. 2014; 46:e98.
74. Shi L, Wang L, Wang B, et al. Regulatory mechanisms of betacellulin in CXCL8 production from lung cancer cells. *J Transl Med*. 2014; 12:70.