



ARTÍCULO ESPECIAL

## El efecto antihipertensivo de las leches fermentadas

Karina N. Domínguez González<sup>a,\*</sup>, Alma E. Cruz Guerrero<sup>a</sup>,  
Humberto González Márquez<sup>b</sup>, Lorena C. Gómez Ruiz<sup>a</sup>, Mariano García-Garibay<sup>a,c</sup>  
y Gabriela M. Rodríguez Serrano<sup>a</sup>

<sup>a</sup> División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Biotecnología, Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana, México, D. F., México

<sup>b</sup> División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Ciencias de la Salud, Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana, México, D. F., México

<sup>c</sup> División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Ciencias de la Alimentación, Unidad Lerma, Universidad Autónoma Metropolitana, Lerma de Villada, Edo. de México, México

Recibido el 26 de junio de 2013; aceptado el 6 de febrero de 2014

### PALABRAS CLAVE

Leches fermentadas;  
Actividad  
antihipertensiva;  
Bacterias ácido  
lácticas;  
Meta-análisis

### Resumen

Existe una gran variedad de leches fermentadas con bacterias lácticas, con propiedades que promueven la salud. Recientemente se ha comunicado que las proteínas de los alimentos pueden, además, ejercer otras funciones *in vivo*, por medio de sus péptidos con actividad biológica. Estos péptidos se encuentran encriptados dentro de la estructura primaria de las proteínas y pueden ser liberados por fermentación de la leche, hidrólisis enzimática, o bien durante el tránsito gastrointestinal. Las funciones que presentan son diversas, ya que pueden actuar en diferentes sistemas del cuerpo humano: el cardiovascular, el digestivo, el endocrino, el inmune y el nervioso. Los péptidos bioactivos que presentan un efecto en el sistema cardiovascular (antihipertensivo, antitrombótico, antioxidante o hipocolesterolémico) pueden reducir los factores de riesgo para la manifestación de enfermedades crónicas y ayudar a mejorar la salud humana. Los péptidos bioactivos más estudiados son aquellos que ejercen un efecto antihipertensivo a través de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE). Este documento se enfoca en la producción de péptidos antihipertensivos inhibidores de la ACE en leches fermentadas, en su historia, y en las pruebas *in vivo* realizadas en ratas y en humanos, donde se ha demostrado su efecto hipotensor.

© 2013 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: karinanatalydg@gmail.com (K.N. Domínguez González).

**KEYWORDS**

Fermented milks;  
Antihypertensive  
activity;  
Bioactive peptides;  
Meta-analysis

**The antihypertensive effect of fermented milks****Abstract**

There is a great variety of fermented milks containing lactic acid bacteria that present health-promoting properties. Milk proteins are hydrolyzed by the proteolytic system of these microorganisms producing peptides which may also perform other functions *in vivo*. These peptides are encrypted within the primary structure of proteins and can be released through food processing, either by milk fermentation or enzymatic hydrolysis during gastrointestinal transit. They perform different activities, since they act in the cardiovascular, digestive, endocrine, immune and nervous systems. Bioactive peptides that have an antihypertensive, antithrombotic, antioxidant and hypocholesterolemic effect on the cardiovascular system can reduce the risk factors for chronic disease manifestation and help improve human health. Most studied bioactive peptides are those which exert an antihypertensive effect by inhibiting the angiotensin-converting enzyme (ACE). Recently, the study of these peptides has focused on the implementation of tests to prove that they have an effect on health. This paper focuses on the production of ACE-inhibitory antihypertensive peptides from fermented milks, its history, production and *in vivo* tests on rats and humans, on which its hypotensive effect has been shown.

© 2013 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

El valor de las proteínas en la dieta, desde el punto de vista nutricional, se debe a su contenido de aminoácidos esenciales. Recientemente se ha comunicado que las proteínas de los alimentos pueden, además, ejercer otras funciones *in vivo*, por medio de sus péptidos con actividad biológica<sup>28</sup>. Las proteínas de la leche son la fuente principal de estos péptidos, los cuales pueden ser liberados de la secuencia proteica por la acción de enzimas digestivas durante el tránsito intestinal o durante el procesamiento del alimento, como en la fermentación de la leche o la maduración de los quesos<sup>18</sup>. Una vez liberados, estos péptidos pueden ejercer un efecto fisiológico en el organismo<sup>11</sup>. Los microorganismos tradicionalmente empleados para la fermentación de la leche son las bacterias ácido lácticas (BAL), que tienen la capacidad de hidrolizar las proteínas de la leche mediante su sistema proteolítico. Entre las actividades biológicas de los péptidos comunicadas se encuentran la actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), la antitrombótica, la antimicrobiana, la antioxidante, la inmunomoduladora y la opioide, entre otras<sup>28</sup>. Los péptidos bioactivos pueden producir efectos locales en el tracto gastrointestinal o bien pueden ser absorbidos, entrar al torrente sanguíneo y alcanzar intactos el órgano donde ejercen su efecto.

Los péptidos inhibidores de la ACE son de gran importancia debido al aumento en la incidencia de enfermedades cardiovasculares, consideradas la principal causa de muerte en los Estados Unidos y otros países<sup>9</sup>.

**Las leches fermentadas y sus beneficios**

De acuerdo al Codex Standard, una leche fermentada es un producto de la leche obtenido por fermentación, con modificación de sus componentes por la acción de microorganismos

adecuados, o sin esta, y que redundan en la disminución del pH y, en ocasiones, con coagulación. Los microorganismos iniciadores deben ser viables, activos y abundantes durante la vida útil del producto, excepto cuando el producto es calentado después de la fermentación<sup>5</sup>.

Desde la antigüedad, las leches fermentadas fueron consideradas no solo como alimentos, sino también como medicamentos. Hipócrates y Galeno, entre otros, prescribieron leche fermentada para curar desórdenes del estómago e intestinos. En las leches fermentadas intervienen un gran número de BAL y levaduras. Algunas se conocen desde hace miles de años, por ejemplo, se sabe que el yogur ya se elaboraba en Mesopotamia hace unos 7000 años, cuando se descubrió que la leche fermentada era más estable que la leche fresca. En algunos países, el consumo de leches fermentadas es superior al de la leche fresca<sup>14,39</sup>.

A finales del siglo *xx* y principios del *xxi*, se demostró la presencia de diferentes microorganismos en las leches fermentadas, principalmente BAL pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Bifidobacterium*, las cuales producen ácidos orgánicos y, en consecuencia, la disminución del pH, contribuyendo así a la estabilidad e inocuidad del producto. Además se producen metabolitos antimicrobianos, como el peróxido de hidrógeno, las bacteriocinas, compuestos aromáticos, ácidos grasos, etc. La producción de estos metabolitos durante la fermentación de la leche con una microflora específica va acompañada de modificaciones para producir cambios en el sabor, la textura, la apariencia, el color, el aroma y las propiedades nutritivas de la leche, dando como resultado una amplia variedad de productos alimenticios. El consumo de leches fermentadas aporta beneficios a la salud debido a los productos metabólicos que se generan con las actividades biológicas de las BAL, capaces de inducir cambios en el ambiente intestinal<sup>9</sup>. Entre los productos con actividad biológica derivados de la acción del sistema proteolítico de

las BAL, se encuentran los péptidos bioactivos con actividad antihipertensiva (inhibidores de la ACE), péptidos antitrombóticos, antioxidantes, etc.<sup>26</sup>.

## Liberación de péptidos bioactivos

Los péptidos bioactivos son cadenas cortas de aminoácidos con actividad similar a las hormonas, que pueden regular funciones fisiológicas a través de interacciones con receptores específicos, para producir una respuesta que provoca un beneficio en la salud<sup>10</sup>. Estos se encuentran encriptados en las proteínas de la leche y son liberados durante la fermentación debido a la acción del sistema proteolítico de las BAL. Este sistema está compuesto de proteasas y peptidasas localizadas en la pared, la membrana celular y en el citoplasma<sup>41</sup>, y su función es proveer de aminoácidos al microorganismo. Otras ventajas tecnológicas de la proteólisis son la de liberar péptidos bioactivos y aminoácidos precursores de sabor; dar estructura al producto (textura) e incrementar el valor nutricional. Por otra parte, se ha demostrado que las caseínas aportan la mayor cantidad de péptidos bioactivos. Estos se han identificado en una variedad de productos fermentados, como quesos madurados y leches fermentadas<sup>28</sup>.

## Péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) en leches fermentadas

En la tabla 1 se muestran algunas secuencias de péptidos inhibidores de la ACE reportadas en leches fermentadas.

Cabe resaltar que entre las caseínas, la  $\beta$ -caseína es la proteína de la leche que contiene el mayor número de fragmentos con actividad inhibitoria de la ACE. La mayoría de los péptidos que han demostrado tener actividad inhibitoria de la ACE contienen prolina en su estructura. Este aminoácido le confiere resistencia a la hidrólisis por proteasas digestivas<sup>48</sup>. Dos de las secuencias reportadas, ampliamente estudiadas en leches fermentadas con actividad inhibitoria de la ACE, son valina-prolina-prolina (VPP) e isoleucina-prolina-prolina (IPP). Estos son conocidos como lactotripéptidos<sup>7</sup> y tienen un valor de concentración inhibitoria del 50 % (IC<sub>50</sub>) de 9,0 y 5,0  $\mu$ mol, respectivamente<sup>10</sup>. Además de los péptidos presentados en la tabla 1, en un estudio de 2006 se reportó que los péptidos LHLPLP, LVYPPGPIPNLSL-PQ-NIPP, VLGPVRGPFP y VRGPFPPIV pueden ser los responsables del efecto hipotensor de una leche fermentada con *Enterococcus faecalis*<sup>32</sup>.

Los primeros estudios del efecto de la inhibición de la ACE en leches fermentadas fueron publicados por Yamamoto *et al.*<sup>50</sup> y Nakamura *et al.*<sup>35,36</sup>. Desde entonces, se han publicado numerosos trabajos sobre el empleo de microorganismos iniciadores para producir péptidos inhibidores de la ACE a partir de la fermentación de la leche. La tabla 2 muestra los microorganismos empleados en la producción de estos péptidos por fermentación; el género más empleado ha sido *Lactobacillus*<sup>19,38,40</sup>, seguido por *Lactococcus*<sup>15,38,41</sup>, debido a que estos microorganismos poseen un sistema proteolítico capaz de generar una diversa gama de péptidos durante la fermentación. Por otra parte, dentro de las especies utilizadas (tabla 2), sobresalen aquellas con carácter probiótico, como son: *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, y *Bifidobacterium lactis*.

**Tabla 1** Secuencias de péptidos inhibidores de la ACE encontrados en leche de vaca fermentada

| Caseína                 | Fracción | Secuencia        | IC <sub>50</sub> ( $\mu$ mol) | Referencia |
|-------------------------|----------|------------------|-------------------------------|------------|
| $\alpha$ S <sub>1</sub> | 146-147  | YP               | 720,00                        | 10         |
|                         | 194-199  | TTMPLW           | 51,00                         | 10         |
|                         | 142-147  | LAYFYP           | 65,00                         | 10         |
|                         | 157-164  | DAYPSGAW         | 98,00                         | 10         |
| $\alpha$ S <sub>2</sub> | 19-23    | TYKEE            | 12,41 <sup>a</sup>            | 6          |
| $\beta$                 | 114-115  | YP               | 720,00                        | 10         |
|                         | 74-76    | IPP              | 5,00                          | 6,11       |
|                         | 84-86    | VPP              | 9,00                          | 6,11       |
|                         | 25-29    | RINKK            | 12,05 <sup>a</sup>            | 6          |
|                         | 69-73    | SLPQN            | 5,29 <sup>a</sup>             | 6          |
|                         | 193-198  | YQEPVL           | 280,00                        | 6          |
|                         | 108-113  | EMPPFK           | 423,00                        | 10         |
|                         | 177-183  | AVPYPQR          | 274,00                        | 10         |
|                         | 73-82    | NIPPLTQTPV       | 179,98 <sup>a</sup>           | 15,19      |
|                         | 11-20    | LVYPPGPIH        | 89,00                         | 40         |
|                         | 11-26    | LVYPPGPIPNLSLPQN | 71,00                         | 40         |
|                         | 58-59    | YP               | 720,00                        | 10         |
|                         | 108-110  | IPP              | 5,00                          | 10         |
| $\kappa$                | 96-100   | ARHPH            | 9,64 <sup>a</sup>             | 6          |

<sup>a</sup>  $\mu$ g/ ml.

**Tabla 2** Microorganismos utilizados para la producción de péptidos bioactivos en leches fermentadas

| Género                 | Especie                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Referencia |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <i>Lactobacillus</i>   | <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> SSI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 15         |
|                        | <i>L. plantarum</i> CECT 4645, <i>L. rhamnosus</i> CECT 287, <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> CECT 4055, <i>L. helveticus</i> CECT 402, <i>L. casei</i> CECT 475, <i>L. johnsonii</i> CECT 289                                                                                                                                                                                                        | 19         |
|                        | <i>L. helveticus</i> MI 1198 (CH3), <i>L. helveticus</i> MI 1264 (IL430), <i>L. helveticus</i> MI 1263 (NCDO262), <i>L. helveticus</i> MI 1169 (CNRZ32), <i>L. acidophilus</i> CHCC 3777, <i>L. helveticus</i> MI 1262 (CIP5715), <i>L. helveticus</i> CHCC 637, <i>L. helveticus</i> CHCC 4080, <i>L. helveticus</i> S5                                                                                            | 38         |
|                        | <i>L. raffinolactis</i> ATCC 43920, <i>L. acidophilus</i> + <i>B. infantis</i> 16, <i>L. casei</i> 17, <i>L. helveticus</i> 89, <i>L. helveticus</i> CNRZ32, <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469, <i>L. reuteri</i> ATCC 23272, <i>L. acidophilus</i> ATCC 4356, <i>L. brevis</i> ATCC 14869, <i>L. curvatus</i> ATCC 25601, <i>L. helveticus</i> ATCC 15009, <i>L. jensenii</i> ATCC 25258, <i>L. reuteri</i> ATCC 55730 | 40         |
|                        | <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> Lb1466, <i>L. acidophilus</i> La 4962, <i>L. casei</i> Lc 229, <i>L. acidophilus</i> L10, <i>L. paracasei</i> L26                                                                                                                                                                                                                                                    | 7          |
|                        | <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> FT4                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 13         |
|                        | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CHCC 3906, <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> F3, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CHCC 3923, <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> W5                                                                                                                                                                                                                            | 38         |
| <i>Lactococcus</i>     | <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 601, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 41, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 71, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetyllactis</i> 63, <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 24, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetyllactis</i> 12                                       | 40         |
|                        | <i>S. thermophilus</i> CECT 801                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 19         |
|                        | <i>S. thermophilus</i> S2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 38         |
|                        | <i>S. thermophilus</i> S1342                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 7          |
| <i>Streptococcus</i>   | <i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> 356, <i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> 358                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 40         |
|                        | <i>B. lactis</i> B94, <i>B. longum</i> B1 536                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 7          |
| <i>Bifidobacterium</i> | <i>B. infantis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 40         |

Los lactobacilos han mostrado tener la mayor capacidad para producir péptidos bioactivos, posiblemente debido a las características de su sistema proteolítico, aunque se demostró que tiempos prolongados de fermentación con *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y con *Lactococcus lactis* llevaron a la obtención de péptidos con actividad antihipertensiva capaces de resistir la hidrólisis por proteasas digestivas<sup>15</sup>.

En el estudio sobre la proteólisis de diversas BAL se demostró que es esencial la producción de aminoácidos y péptidos para promover el crecimiento de las BAL y mantener la viabilidad del cultivo<sup>7</sup>, y que es durante esta proteólisis cuando se producen los péptidos bioactivos. Estos autores comunicaron que *Bifidobacterium longum* B1 536 y *L. acidophilus* L10 son los organismos que producen la mayor cantidad de péptidos bioactivos inhibidores de la ACE<sup>7</sup>.

Es importante resaltar que, además de la cepa empleada durante la fermentación, se debe considerar el tiempo de fermentación, el cual determina el grado de hidrólisis, ya que existe en algunos casos una correlación directa con el porcentaje de inhibición de la ACE<sup>40</sup>. Otro factor importante es el pH final de la fermentación, relacionado con la cepa utilizada y con el tiempo de fermentación. Finalmente, la temperatura de almacenamiento también puede afectar el perfil de péptidos de una leche fermentada, ya que a 5 °C se han observado cambios en los perfiles de los péptidos producidos durante la fermentación<sup>16,39</sup>.

## Estudios *in vivo* de los péptidos inhibidores de la ACE

Existen estudios epidemiológicos que sugieren que el consumo de leche y de productos lácteos está inversamente relacionado con el riesgo de hipertensión<sup>24</sup>. Los péptidos inhibidores de la ACE de leches fermentadas, en general, tienen una menor actividad inhibitoria *in vitro* comparados con los fármacos. Para demostrar el efecto hipotensor *in vivo* del consumo de leches fermentadas con péptidos inhibidores de la ACE, se han realizado estudios en ratas. Se ha comunicado que solo unos pocos, entre el gran número de péptidos identificados como inhibidores de la ACE *in vitro*, hasta ahora han demostrado ser eficaces en la disminución de la presión arterial en estudios con animales y con humanos<sup>9,26,34,42</sup>.

En la tabla 3 se listan los estudios *in vivo* realizados en ratas espontáneamente hipertensas. Yamamoto *et al.*<sup>50</sup> y Nakamura *et al.*<sup>37</sup> comprobaron que suministrando en ratas 5 ml de leche fermentada/kg de peso corporal se disminuyó la presión arterial sistólica (PAS). Se encontró un efecto diferente en la disminución de la PAS en función de la BAL empleada en la fermentación. Por ejemplo, con *L. helveticus* CP790, *L. helveticus* CP611, *L. helveticus* CP615 y *L. helveticus* JMC1004 se obtuvieron disminuciones en la PAS de  $-27,4 \pm 13,3$ ;  $-20,0 \pm 9,6$ ,  $-23,0 \pm 13,4$  y  $-29,3 \pm 13,6$  mmHg, respectivamente<sup>51</sup>, en tanto que con leche fer-

**Tabla 3** Efecto hipotensor de algunas leches fermentadas en ratas espontáneamente hipertensas (SHR)

| Producto                                                              | Dosis            | Respuesta máxima (mmHg)                                                 | Referencia |
|-----------------------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------|
| Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )               | 5 ml/ kg de PC   | -21,8 ± 4,2 en PAS a las 6 h                                            | 35         |
| Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )               | 2,5 %peso/ peso  | -19,1 en PAS a las 23 sem                                               | 36         |
| Ameal S® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )              | 10 ml/ kg de PC  | -26,4 ± 3,1 en PAS a las 6 h                                            | 31         |
| Leche fermentada                                                      | 5 ml/ kg de PC   | -27,4 ± 13,3; -20,0 ± 9,6; -23,0 ± 13,4 y -29,3 ± 13,6 en PAS a las 4 h | 50         |
| <i>L. helveticus</i> CP790, CP611, CP615 y JMC1004                    |                  |                                                                         |            |
| Tipo yogurt ( <i>L. helveticus</i> CPN4)                              | 3 ml de suero    | -29,6 ± 9,5 en PAS a las 6 h                                            | 51         |
| Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)                                | Libre acceso     | -17 en PAS a las 12 sem                                                 | 45         |
| Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)                                | 27 ml/ d         | -21 en PAS a las 14 sem                                                 | 46         |
| Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> CHCC637)                      | 10 ml / kg de PC | -22 en FC                                                               | 12         |
| Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> CHCC641)                      |                  | -59 en FC                                                               |            |
| Leche fermentada enriquecida con caseína ( <i>L. helveticus</i> R211) | 2,5 g/ kg de PC  | -24,9 en PA media a las 7 h                                             | 30         |
| Leche fermentada enriquecida con caseína ( <i>L. helveticus</i> R389) | 0,5 g/ kg de PC  | -18,4 en PA media a las 6 h                                             |            |
| Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> CHCC637)                      | 10 ml/ kg de PC  | -30 ± 1,7 en PA                                                         | 13         |
| Leche fermentada contiene VPP e IPP                                   | Libre acceso     | -8,3 en PAS a las 9 sem                                                 | 24         |

PC: peso corporal; PAS: presión arterial sistólica; h: horas; sem: semana; d: día; FC: frecuencia cardíaca; PA: presión arterial; VPP: lactotripéptido Val-Pro-Pro; IPP: lactotripéptido Ile-Pro-Pro.

mentada con *L. helveticus* y *Saccharomyces cerevisiae*, la reducción fue de -21,8 ± 4,2 mmHg<sup>35</sup>. Se ha demostrado que estas leches fermentadas tienen los lactotripéptidos VPP e IPP. Spola *et al.*<sup>44,45</sup> estudiaron la leche Evolus® con dosis de 27 ml/ d y obtuvieron una disminución en la PAS a las 12 y 14 semanas de 21 y 22 mmHg, respectivamente. Jauhiainen *et al.*<sup>24</sup> demostraron que el libre acceso a una leche fermentada que contenía VPP e IPP disminuyó la PAS en 8,3 mmHg después de 9 semanas.

El mayor efecto se observó en el estudio realizado por Miguel *et al.*<sup>32</sup> con una leche fermentada con *Enterococcus faecalis* CECT 5728, en donde el libre acceso a la leche fermentada por 20 semanas condujo a una disminución de la PAS y la presión arterial diastólica (PAD) de 36,11 y 3,67 mmHg, respectivamente. Por otro lado, Fuglsang *et al.*<sup>12</sup> fermentaron leche con *L. helveticus* CHCC637; ellos observaron que el suministro de 10 ml/ kg de peso corporal de esta leche provocaba una disminución en la presión arterial de 30 mmHg.

En la tabla 4 se agrupan los estudios realizados en humanos que demostraron una reducción moderada o significativa de la presión arterial después del consumo de leches fermentadas. En 2008, se publicó un trabajo en el que se analizaron y discutieron los estudios realizados de 1996 al 2005 sobre el efecto de los lactotripéptidos sobre la disminución de la presión arterial en humanos<sup>49</sup>. Los resultados dieron evidencia de que los lactotripéptidos tienen efecto hipotensivo en sujetos pre-hipertensos e hipertensos.

La fermentación de leche con *L. helveticus* para la producción de péptidos antihipertensivos ha sido objeto de numerosos estudios *in vivo*, ya que durante la fermentación

con este microorganismo se producen los lactotripéptidos VPP e IPP. La formación de los lactotripéptidos en leches fermentadas se debe a que las caseínas, proteínas mayoritarias de la leche, son ricas en prolina<sup>10</sup>. Inoue *et al.*<sup>21</sup> encontraron el mayor efecto antihipertensivo en humanos con hipertensión leve al suministrarles 100 ml/ d de una leche fermentada con *L. casei* Shirota y *Lactococcus lactis* YIT 2027 con ácido gamma-aminobutírico (GABA); después de 12 semanas se obtuvo una disminución de la presión arterial sistólica y diastólica de 17,4 y 7,2 mmHg, respectivamente.

Las leches fermentadas con efecto antihipertensivo que se comercializan en la actualidad son Calpis® (Calpis Co. Ltd., Japan) y Evolus® (Valio, Oy, Finlandia). El producto Calpis®, preparado por fermentación de leche descremada con *L. helveticus* y *Saccharomyces cerevisiae*, ha demostrado tener la capacidad para disminuir la presión arterial sistólica y diastólica en sujetos con hipertensión<sup>18,31,35-37</sup>. Hata *et al.*<sup>18</sup> encontraron un mayor efecto, ellos comunicaron que con 95 ml/ d de Calpis® disminuyó la presión arterial sistólica y diastólica en 14,1 y 6,9 mmHg, respectivamente, después de 8 semanas. Evolus® es un producto fermentado con *L. helveticus* LBK-16H distribuido en Finlandia; recientemente la empresa Kaiku lo ha introducido en España con el nombre de Kaiku Vitabrand®. Su efecto en pacientes hipertensos ha sido evaluado por Seppo *et al.*<sup>43,44</sup> y Jauhiainen *et al.*<sup>26</sup>, quienes encontraron una disminución significativa en la presión sistólica y la diastólica en los sujetos de prueba después de consumir esta leche. Tuomilehto *et al.* encontraron el mayor efecto antihipertensivo al administrar 15 ml/ d de Evolus® en sujetos con hipertensión ligera, lo que condujo a una disminución en la presión sistólica de

**Tabla 4** Estudio del efecto hipotensor de los lactotripéptidos de leches fermentadas en humanos

| Producto                                                                          | Dosis         | Tipo de estudio                                                                                                                           | Respuesta máxima (mmHg)                      | Tiempo de respuesta (semanas)             | Referencia |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------|------------|
| Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )                           | 95 ml/ d      | Estudio controlado con placebo, en 30 sujetos hipertensos                                                                                 | -14,1 PAS<br>-6,9 PAD                        | 8                                         | 18         |
| Leche fermentada ( <i>L. casei</i> TMC0409 y <i>S. thermophilus</i> TMC1543)      | 2 x 200 ml/ d | Estudio simple ciego y paralelo con la leche fermentada y el placebo, en 20 voluntarios                                                   | -7,0 PAS                                     | 8                                         | 27         |
| Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )                           | 95 ml/ d      | Estudio en 18 sujetos con hipertensión.                                                                                                   | -7,6 PAS (NS)<br>-2,0 PAD (NS)               | 8                                         | 22         |
| Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )                  | 160 g/ d      | 2,53 mg VPP y 1,52 mg IPP; estudio placebo controlado, doble ciego, en personas que tenían hipertensión L o M no tratada con medicamentos | -13,7 PAS<br>-7,4 PAD                        | 8                                         | 27         |
| Leche fermentada ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )                  | 120 g/ d      | 2,66 mg VPP y 1,60 mg IPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, en 36 sujetos no tratados que tenían hipertensión L o M           | -14,5 PAS<br>-8,1 PAD (NS)                   | 8                                         | 20         |
| Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)                                            | 150 ml/ d     | 2,25 mg IPP + 3-3,75 mg VPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 17 sujetos con hipertensión L                  | -10,8 PAS<br>-6,9 PAD                        | 8                                         | 43         |
| Leche fermentada ( <i>L. casei</i> Shirota y <i>Lc. lactis</i> YIT 2027) con GABA | 100 ml/ d     | Estudio aleatorizado, controlado con placebo, simple ciego, en 39 sujetos con hipertensión L                                              | -17,4 PAS<br>-7,2 PAD                        | 12                                        | 21         |
| Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)                                            | 150 ml/ d     | Estudio aleatorizado controlado con placebo en 39 sujetos hipertensos                                                                     | -6,7 PAS<br>-3,6 PAD                         | 21                                        | 44         |
| Calpis® ( <i>L. helveticus</i> , <i>S. cerevisiae</i> )                           | 160 g/ d      | 1,15 mg IPP + 1,98 mg VPP; estudio doble ciego controlado aleatorizado, en 46 sujetos hipertensos                                         | -4,3 PAS<br>-5,2 PAS<br>-1,7 PAD<br>-2,0 PAD | 2-4                                       | 33         |
| Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)                                            | 15 ml/ d      | 2,4 a 2,7 mg IPP + 2,4 a 2,7 mg VPP; en 60 sujetos con hipertensión L                                                                     | -16,0<br>-11,0                               | En la 1.ª fase 8-10<br>En la 2.ª fase 5-7 | 47         |
| Tabletas de leche fermentada en polvo ( <i>L. helveticus</i> CM4)                 | 6 tabletas/ d | 4,7 mg IPP + 8,3 mg VPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 80 sujetos con hipertensión arterial NA o L        | -3,2 PAS (NA)<br>-11,2 PAS (L)               | 4                                         | 2          |
| Evolus® ( <i>L. helveticus</i> LBK16H)                                            | 2 x 150 ml/ d | 22,5 mg IPP + 30 mg VPP; estudio doble ciego, controlado con placebo, aleatorizado, en 94 sujetos con hipertensión L                      | -4,1 PAS<br>-1,8 PAD                         | 10                                        | 24         |

PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; NS: No significativo; VPP: lactotripéptido Val-Pro-Pro; IPP: lactotripéptido Ile-Pro-Pro; L: leve; M: moderada; GABA: ácido  $\gamma$ -aminobutírico.

16,0 mmHg en la primera fase, que duró de 8-10 semanas, y una disminución de 11,0 mmHg en la segunda fase, que duró de 5-7 semanas<sup>47</sup>. En el metanálisis publicado por Xu *et al.*<sup>49</sup>, en donde se incluyeron nueve estudios realizados entre 1996 y 2005, con un total de 623 participantes, se demostró que los lactotripéptidos tuvieron un efecto hipotensor en sujetos prehipertensos e hipertensos.

Es importante mencionar que los estudios realizados no han tomado en cuenta factores como etnias, estado de salud y edad. Se ha demostrado una tendencia en la prevalencia de hipertensión de acuerdo con el grupo étnico; por ejemplo, en Latinoamérica y el Caribe así como en países asiáticos (excepto Japón), la hipertensión tiene la menor incidencia<sup>3</sup>, mientras que las personas afroamericanas y

asiáticas de la zona sur tienen un alto índice de hipertensión<sup>29</sup>. Por otra parte, entre personas de color se ha identificado la tendencia a desarrollar hipertensión a una edad temprana<sup>4</sup>.

A pesar de los distintos estudios realizados que han demostrado el efecto de las leches fermentadas con lactotripeptidos en la disminución de la presión arterial, la EFSA (*European Food Safety Authority*) consideró que la evidencia sobre el efecto antihipertensivo de los lactotripeptidos es insuficiente, después del análisis de un gran número de solicitudes<sup>8</sup>. La EFSA argumenta que las investigaciones de estos alimentos funcionales con lactotripeptidos presentan, en general, una diferencia muy pequeña entre el tratamiento activo y el placebo en los estudios en humanos, por lo que sugieren contar con poblaciones de estudio más grandes para probar la eficacia de estos alimentos. Además, se recomienda dar mayor énfasis a los estudios preclínicos, con el fin de demostrar que los efectos se repiten varias veces y son registrados por varios grupos de investigación<sup>23</sup>.

## Conclusión

El consumo regular de leches fermentadas tiene un efecto positivo sobre la salud. El perfil de los péptidos bioactivos presentes en estos alimentos dependerá del tipo de microorganismos y de las actividades enzimáticas presentes. El género *Lactobacillus* ha sido el más utilizado como microorganismo iniciador (microorganismo que se añade a la leche para fermentarla) en leches fermentadas que han mostrado tener péptidos con actividad antihipertensiva, con un efecto inhibidor de la ACE *in vitro*. Entre éstos se han destacado los lactotripeptidos VPP e IPP. Los péptidos antihipertensivos derivados de las proteínas de estas leches representan un beneficio potencial para el consumidor, ya que podrían participar en la prevención de la manifestación temprana de la hipertensión, incluso podrían ser parte de un tratamiento combinado para el control de esta afección. En Japón y en la Comunidad Económica Europea ya se comercializan algunos productos fermentados que demostraron ser eficaces en este sentido, al disminuir la presión arterial en seres vivos bajo ciertas condiciones. Es recomendable promover el consumo de este tipo de productos, especialmente en aquellos países en los que existe una mayor incidencia de enfermedades cardiovasculares, dado el papel preponderante que juega la hipertensión arterial en estas afecciones.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Ahn JE, Park SY, Atwal A, Gibbs BF, Lee BH. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from whey fermented by *Lactobacillus* species. *J Food Biochem*. 2009;33:587-602.
2. Aihara K, Kajimoto O, Hirata H, Takahashi R, Nakamura Y. Effect of powdered fermented milk with *Lactobacillus helveticus* on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. *J Am Coll Nutr*. 2005;24:257-65.
3. Boelsma E, Klok J. Lactotripeptides and antihypertensive effects: a critical review. *Brit J of Nut*. 2009;101:776-86.
4. Brown M. Hypertension and ethnic group. *Brit Med J*. 2006;332:833-6.
5. CODEX STAN 243-2003. Codex standard for fermented milks.
6. Donkor ON, Henriksson A, Singh TK, Vasiljevic T, Shah NP. ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt. *Int Dairy J*. 2007;17:1321-31.
7. Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah NP. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and *in vitro* angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *Lait*. 2007;86:21-38.
8. EFSA. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to isoleucine-proline-proline (IPP) and valine-proline-proline (VPP) and maintenance of normal blood pressure (ID 661, 1831, 1832, 2891, further assessment) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2012;10:2715.
9. Erdmann K, Cheung BWY, Schroder H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *J Nutr Biochem*. 2008;19:643-54.
10. FitzGerald RJ, Murray BA. Bioactive peptides and lactic fermentations. *Int J Dairy Technol*. 2006;59:118-25.
11. Foltz M, Meynen EE, Bianco V, van Platerink C, Koning TMMG, Klok J. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from a lactotripeptide-enriched milk beverage are absorbed intact into the circulation. *J Nutr*. 2007;137:953-8.
12. Fuglsang A, Nilsson D, Nyborg NCB. Cardiovascular effects of fermented milk containing angiotensin-converting enzyme inhibitors evaluated in permanently catheterized, spontaneously hypertensive rats. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68:3566-9.
13. Fuglsang A, Rattray FP, Nilsson D, Nyborg NCB. Lactic acid bacteria: inhibition of angiotensin converting enzyme *in vitro* and *in vivo*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2003;83:27-34.
14. García-Garibay M, Quintero R, López-Munguía A. Productos lácteos. En: Noriega Editores. *Biología Alimentaria*. México D. F.: Limusa; 2009. p.153-223.
15. Gobbetti M, Ferranti P, Smacchi E, Goffredi F, Addeo F. Production of angiotensin-I-converting-enzyme-inhibitory peptides in fermented milks started by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT4. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66:3898-904.
16. González-Olivares G, Jiménez-Guzmán J, Cruz-Guerrero A, Rodríguez-Serrano G, Gómez-Ruiz L, García-Garibay M. Liberación de péptidos bioactivos por bacterias lácticas en leches fermentadas comerciales. *Rev Mex Ing Quim*. 2011;10:179-88.
17. Hartmann R, Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotechnol*. 2007;18:163-9.

18. Hata Y, Yamamoto M, Ohni M, Nakajima K, Nakamura Y, Takano T. Placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr.* 1996;64: 767-71.
19. Hernández-Ledesma B, Amigo L, Ramos M, Recio I. Application of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to the identification of biologically active peptides produced by milk fermentation and simulated gastrointestinal digestion. *J Chromatogr A.* 2004;1049:107-14.
20. Hirata H, Nakamura Y, Yada H, Moriguchi S, Kajimoto O, Takahashi T. Clinical effects of new sour milk drink on mild or moderate hypertensive subjects. *J New Rem & Clin.* 2002;51: 61-9.
21. Inoue K, Shirai T, Ochiai H, Kasao M, Hayakawa K, Kimura M, Sansawa H. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing gamma-aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:490-5.
22. Itakura H, Ikemoto S, Terada S, Kondo K. The effect of sour milk on blood pressure in untreated hypertensive and normotensive subjects. *J Jpn Soc Clin Nutr.* 2001;23:26-31.
23. Jäkälä P, Heikki V. Antihypertensive Peptides from Milk Proteins. *Pharmaceuticals.* 2010;3:251-72.
24. Jauhiainen T, Collin M, Narva M, Cheng ZJ, Poussa T, Heikki V, Korpela R. Effect of longterm intake of milk peptides and mineral on blood pressure and arterial function in spontaneously hypertensive rats. *Milchwissenschaft.* 2005;60:358-63.
25. Jauhiainen T, Vapaatalo H, Poussa T, Kyrönpalo S, Rasmussen M, Korpela R. *Lactobacillus helveticus* fermented milk lowers blood pressure in hypertensive subjects in 24-h ambulatory blood pressure measurement. *Am J Hypertens.* 2005;18: 1600-5.
26. Jauhiainen T, Korpela R. Milk peptides and blood pressure. *J Nutr.* 2007;137:825-9.
27. Kajimoto O, Nakamura Y, Yada H, Moriguchi S, Hirata H, Takahashi T. Hypotensive Effects of Sour Milk in Subjects with Mild or Moderate Hypertension. *J Jpn Soc Nutr Food Sci.* 2001;54:347-54.
28. Korhonen H. Milk-derived peptides: From science to applications. *J Funct Foods.* 2009;1:177-87.
29. Lane DA, Lip GYH. Ethnic differences in hypertension and blood pressure control in the UK. *Quart J Med.* 2001;94:391-6.
30. Leclerc PL, Gauthier SF, Bachelard H, Santure M, Roy D. Antihypertensive activity of casein-enriched milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *Int Dairy J.* 2002;12:995-1004.
31. Masuda O, Nakamura Y, Takano T. Nutrient metabolism antihypertensive peptides are present in aorta after oral administration of sour milk containing these peptides to spontaneously hypertensive rats. *J Nutr.* 1996;126:3063-8.
32. Miguel M, Muguerza B, Sánchez E, Delgado MA, Recio I, Ramos M, Aleixandre MA. Changes in arterial blood pressure in hypertensive rats caused by long-term intake of milk fermented by *Enterococcus faecalis* CECT 5728. *Br J Nutr.* 2005;94:36-43.
33. Mizushima S, Ohshige K, Watanabe J, Kimura M, Kadowaki T, Nakamura Y, Tochikubo O, Ueshima H. Randomized controlled trial of sour milk on blood pressure in borderline hypertensive men. *Am J Hypertens.* 2004;17:701-6.
34. Murray BA, Fitzgerald RJ. Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: biochemistry, bioactivity and production. *Curr Pharm Des.* 2007;13: 773-91.
35. Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Okubo A, Yamazaki S, Takano T. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J Dairy Sci.* 1995;78:777-83.
36. Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Okubo A, Yamazaki S, Takano T. Antihypertensive effect of sour milk and peptides isolated from it that are inhibitors to angiotensin I-converting enzyme. *J Dairy Sci.* 1995;78:1253-7.
37. Nakamura Y, Masuda O, Takano T. Decrease of tissue angiotensin I-converting enzyme activity upon feeding sour milk in spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1996;60:488-9.
38. Nielsen MS, Martinussen T, Flambard B, Sorensen KI, Otte J. Peptide profiles and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: Effect of bacterial strain, fermentation pH, and storage time. *Int Dairy J.* 2009;19: 155-65.
39. Oberman H, Libudzisz Z. Fermented milks. En: Wood BJB, editor. *Microbiology of fermented foods.* Vol. 1. 2.<sup>a</sup> ed. Gran Bretaña: Blackie Academy & Professional; 1998.
40. Pihlanto A, Virtanen T, Korhonen H. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. *Int Dairy J.* 2010;20:3-10.
41. Pritchard GG, Coolbear T. The physiology and the biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 1993;12:179-206.
42. Saito T. Antihypertensive peptides derived from bovine casein and whey proteins. *Adv Exp Med Biol.* 2008;606:295-317.
43. Seppo L, Kerojoki O, Suomalainen T, Korpela R. The effect of a *Lactobacillus helveticus* LBK-16H fermented milk on hypertension-a pilot study on humans. *Milchwissenschaft.* 2002;57:124-7.
44. Seppo L, Jauhiainen T, Poussa T, Korpela R. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. *Am J Clin Nutr.* 2003;77: 326-30.
45. Spola M, Finckenberg P, Santisteban J, Korpela R, Vapaatalo H, Nurminen ML. Long-term intake of milk peptides attenuates development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol.* 2001;52:745-54.
46. Spola M, Finckenberg P, Vapaatalo H, Pihlanto-Leppälä A, Korhonen H, Korpela R, Nurminen ML.  $\alpha$ -lactorphan and  $\beta$ -lactorphan improve arterial function in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.* 2002;71:1245-53.
47. Tuomilehto J, Lindstrom J, Hyrynen J, Korpela R, Karhunen ML, Mikkola L, Jauhiainen T, Seppo L, Nissinen A. Effect of ingesting sour milk fermented using *Lactobacillus helveticus* bacteria producing tripeptides on blood pressure in subjects with milk hypertension. *J Hum Hypertens.* 2004;18:795-802.
48. Tzakos AG, Galanis AS, Spyroulias GA, Cordopatis P, Manessi-Zoupa E, Gerathanassis IP. Structure-function discrimination of the N- and C- catalytic domains of human angiotensin-converting enzyme: implications for C- activation and peptide hydrolysis mechanisms. *Protein Eng.* 2003;16:993-1003.
49. Xu JY, Qin LQ, Wang PY, Li W, Chang C. Effect of milk tripeptides on blood pressure: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition.* 2008;24:933-40.
50. Yamamoto N, Akino A, Takano T. Antihypertensive effects of different kinds of fermented milk in spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1994;58:917-22.
51. Yamamoto N, Maeno M, Takano T. Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus* CPN4. *J Dairy Sci.* 1999;82:1388-93.