

## **Uklanjanje slobodnih radikala, postizanje redoks ravnoteže i cijeljenje rana pomoću bioaktivnih peptida dobivenih hidrolizom kolagena iz kože bijelog glavaša (*Hypophthalmichthys molitrix*) potpomognutom proteinazom K**

### **SAŽETAK**

*Pozadina istraživanja.* U posljednje se vrijeme sve više ispituju postupci enzimske hidrolize nusproizvoda obrade ribe radi dobivanja proizvoda obogaćenih funkcionalnim i biološkim svojstvima važnim u proizvodnji hrane, kozmetike i medicinskih preparata. Osim toga, na taj se način smanjuju količina otpada industrijske proizvodnje i pritisak na okoliš. Svrha je ovoga rada bila osmisliti učinkoviti postupak dvostupanjske enzimske hidrolize kože slatkododne ribe i ispitati učinak dobivenih bioaktivnih peptida na uklanjanje slobodnih radikala, redoks ravnotežu, te proliferaciju i migraciju fibroblasta.

*Eksperimentalni pristup.* Kolagen razgradljiv pomoću pepsina izoliran je iz kože bijelog glavaša (*Hypophthalmichthys molitrix*) i hidroliziran u kontroliranim uvjetima pomoću proteinaze K. Molekulska masa permeata dobivenog ultrafiltracijom određena je pomoću elektroforeze s gradijentom i gel-filtracijske kromatografije. Biološka aktivnost peptida srednje i male veličine ispitana je *in vitro* simulacijom oksidacijskog stresa i oštećenja kože.

*Rezultati i zaključci.* Riblji kolagen je hidroliziran pomoću proteinaze K, najučinkovitijeg enzima koji cijepa primarnu strukturu molekule, što je potvrđeno prethodnim ispitivanjem *in silico*. Pri optimalnim uvjetima povećali su se specifičnost enzima i prinos reakcije. U usporedbi s ribljim kolagenom, bioaktivni su peptidi imali bitno veću sposobnost uklanjanja slobodnih i hidroksilnih radikala, često prisutnih *in vivo*. Ovisno o koncentraciji, stimulirali su metabolizam fibroblasta i migraciju stanica pri cijeljenju modelne rane. Prethodna obrada fibroblasta optimalnim koncentracijama ribljih peptida spriječila je porast sinteze reaktivnih spojeva kisika pri induciranju oksidacijskog stresa. Možemo zaključiti da bioaktivni peptidi kože bijelog glavaša imaju važna svojstva, kao što su održavanje redoks ravnoteže i pospješivanje cijeljenja rana, što upućuje na njihovu moguću primjenu u razvoju farmaceutika i nutraceutika.

*Novina i znanstveni doprinos.* U ovom je radu provedena enzimska hidroliza izoliranog proteina, za razliku od dosadašnjih istraživanja u kojima je korišten otpad različitog sastava. Dobiveni bioaktivni peptidi nisu djelovali samo kao antioksidacijski agensi, već i kao regulatori oksidacijskog stresa i cijeljenja kože u staničnom modelu. Zbog svojih svojstava mogu se preporučiti za primjenu u proizvodnji kozmetičkih pripravaka koji suzbijaju starenje kože.

**Ključne riječi:** peptidi iz ribe; proteinaza K; antioksidacijska aktivnost; migracija stanica; oksidacijski stres