



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

Área de Nutrición y Bromatología

Departamento de Pediatría, Inmunología, Obstetricia y
Ginecología, Nutrición y Bromatología, Psiquiatría e Historia de
la Ciencia

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

Curso académico 2013-2014

INHIBIDORES DE PROTEASAS EN LEGUMINOSAS

Autora: CRISTINA GARCÍA ESTEBAN

Tutor: TOMÁS GIRBÉS JUAN

Índice de contenido

1. INTRODUCCION/JUSTIFICACION.....	1
2. OBJETIVO	6
3. DESARROLLO DEL TEMA ESTRUCTURADO.....	7
A) Mecanismo de acción de los inhibidores de proteasas	8
B) Inhibidor de Tripsina.....	8
C) Calor-cocción.....	10
D) Cáncer.....	13
1) Constituyentes de la soja con actividad anticancerígena.	13
2) Mezclas de compuestos de soja capaces de suprimir la carcinogénesis <i>in vivo</i>	15
3) Efectos potencialmente tóxicos de los inhibidores de proteasa de la soja.	16
4) Posibles mecanismos de acción anticancerígenos.	17
E) Propiedades anti-inflamatorias	17
F) Digestión y absorción.....	19
G) Propiedades anti-oxidantes	19
H) Prevención de la pérdida de cabello	20
I) Propiedades anti-fúngicas.....	21
J) Propiedades anti-bacterianas.....	22
K) Posible toxicidad de los inhibidores de proteasa.....	22
4. CONCLUSIONES.....	22
5. CONSIDERACIONES FINALES.....	24
6. BIBLIOGRAFIA.....	24

1. INTRODUCCION/JUSTIFICACION

En nuestra alimentación diaria, junto a los nutrientes que ingerimos con los alimentos, encontramos otros elementos que producen un efecto contrario; las sustancias antinutrientes, que, al interferir en la utilización o función de los nutrientes, afectan a su biodisponibilidad o aprovechamiento digestivo. El término de sustancias antinutrientes o antinutrientes fue definido por Gontzea y Sutzescu en 1968; se trata de compuestos que están presentes de forma natural en los alimentos y actúan provocando una pérdida de nutrientes esenciales o interfiriendo en su utilización y función metabólica.

Las sustancias antinutrientes están ampliamente distribuidas y, aunque en la mayoría de los casos no constituyen un peligro inmediato para la salud humana, no puede ignorarse su presencia, especialmente en los países en desarrollo donde la escasez de alimentos lleva a estados de malnutrición o en los países desarrollados si la dieta no es equilibrada y se consumen alimentos que contienen gran cantidad de estas sustancias. La compensación de los nutrientes deficitarios puede llevar a una mejora rápida del estado general.

Desde el punto de vista nutricional, las sustancias antinutrientes de origen natural, se clasifican en función del tipo de nutriente con el que interfieren. Se distinguen:

- Inhibidores de proteasas: sustancias que interfieren en la utilización digestiva o metabólica de las proteínas.
- Inhibidores de glucosidasas: inhibidor de alfa amilasa de la soja.
- Lectinas
- Sustancias antiminerales: sustancias que interfieren con la asimilación de elementos minerales.
- Sustancias antivitaminas: sustancias que inactivan o aumentan la necesidad de vitaminas.
- Otros

SUSTANCIAS ANTINUTRIENTES

Tóxicos	Alimentos	Sintomatología
Inhibidores de proteasas digestivas	Leguminosas	Depresión del crecimiento en animales
Lectinas	Leguminosas	Interfieren con la absorción de aminoácidos
Saponinas	Semilla de soja, cacahuete, espinacas	Inhibe el crecimiento de animales
Polifenoles (gospol)	Semillas de algodón	Interfiere con la absorción del Fe, infertilidad e interfiere en la absorción de la lisina

Tabla I. Antinutrientes que interfieren con la absorción de proteínas y aminoácidos.
(Fuente: Universidad Autónoma de Madrid)

Una de las sustancias antinutrientes más importantes son los inhibidores de proteasas digestivas, que son sustancias que interfieren con la digestión de las proteínas, en la absorción o utilización metabólica de los aminoácidos.

Las proteasas (o peptidasas) son enzimas fundamentales en el control de una gran variedad de procesos fisiológicos en el organismo humano. Su funciones catalizar la ruptura de enlaces peptídicos, la hidrólisis de proteínas, y permitir así la digestión y utilización de los aminoácidos.

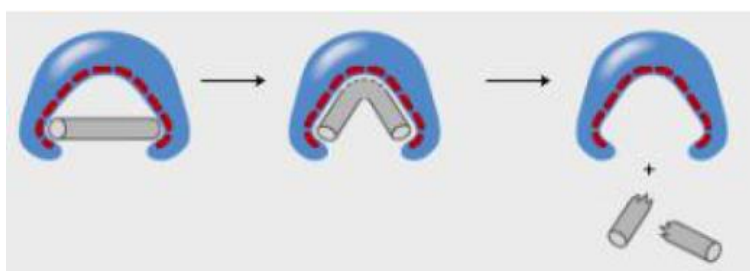


Figura 1: Fragmentación de proteínas en unidades de menor tamaño catalizada por proteasas.

Las proteasas están involucradas, tanto directa como indirectamente, en todos los procesos fisiológicos del organismo que incluyen a nivel celular, el crecimiento, la diferenciación, la muerte programada (apoptosis), la nutrición, el recambio proteico intra y extracelular, la migración e invasión de las células, así como la fertilización e implantación del cigoto. Un sistema involucrado en funciones tan importantes requiere por tanto, de contrapartes reguladoras que sean muy efectivas.

Se encuentran de manera natural en organismos vivos, donde se usan para la digestión molecular y la reducción de proteínas no deseadas. Las proteasas pueden romper ya sea enlaces peptídicos específicos (Proteólisis limitada), dependiendo en la secuencia de aminoácidos de la proteína, o pueden reducir un péptido completo a aminoácidos (Proteólisis ilimitada).

Como las proteasas son en sí mismas péptidos, es natural preguntarse si las proteasas se pueden degradar. Es un hecho conocido que muchas proteasas se hidrolizan a sí mismas. Esto puede ser un método importante de regulación de la actividad de las proteasas.

En general, las proteasas se clasifican en dos subclases principales: endopeptidasas y exopeptidasas, dependen de cómo y dónde la proteasa escinde la proteína. Estas proteasas actúan como enzimas de digestión, para la reparación y el crecimiento de proteínas, y muchas otras funciones que requieren en última instancia, la degradación de las proteínas. A pesar de que estas enzimas son indispensables en la célula y los organismos en los que residen, pueden ser potencialmente perjudiciales cuando se sobreexpresan o están presentes en altas concentraciones. Por esta razón, estas enzimas deben estar estrictamente reguladas y controladas (Rawlings y cols., 2004).

En 1992, el Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB) reconoció cuatro clases de proteasas: aspárticas, serínicas, metaloproteasas y cisteínicas, según posean un residuo de aspartato, serina, grupo metálico o cisteínas en su sitio activo, respectivamente (Fan y cols., 2005). Se subdividen en exopeptidasas que actúan sobre aminoácidos ubicados en el N o C- terminal, y endopeptidasas, que rompen enlaces peptídicos internos de los polipéptidos (Leo y cols., 2002).

Las proteasas serina son hidrolasas que degradan enlaces peptídicos de péptidos y proteínas y que poseen en su centro activo un aminoácido de serina esencial para la catálisis enzimática. Las proteasas serínicas son la clase más estudiada de proteasas. Estas se agrupan en clanes que comparten similitudes estructurales. Las familias más importantes son las de quimiotripsina y de sublisina. La familia de quimiotripsina incluye enzimas de mamíferos, de las cuales, las tres más estudiadas son: quimiotripsina, tripsina y elastasa (Fan y cols., 2005). Estas tres proteasas son el resultado de un proceso de evolución divergente y difieren en su especificidad.

La función de las proteasas es inhibida por enzimas inhibidoras de proteasas. Los inhibidores de proteasas son compuestos de naturaleza proteica que inhiben los

enzimas proteolíticos al unirse al sitio activo del enzima, inhibiendo parcial o totalmente la hidrólisis de las proteínas de la dieta. Además, las proteasas también son cruciales en la propagación de enfermedades (VIH), al encontrarse involucradas en los mecanismos de replicación e infectividad de muchos patógenos para las personas, plantas y animales, por lo que los inhibidores de estas proteasas han emergido con utilidades terapéuticas efectivas.

Nombre botánico	Nombre español	Concentración	
		máxima	Enzima inhibido
<i>Arachis hypogea</i>	Cacahuete	Semilla	Tripsina, plasmina
<i>Avena sativa</i>	Avena	Raíz	Tripsina
<i>Beta vulgaris</i>	Remolacha roja	Raíz	No bien definida
<i>Brassica rapa</i>	Nabo	Semilla	No bien definida
<i>Cajanus cajan e inducues</i>	Guisante del Congo	Semilla	Tripsina
<i>Cicer arietinum</i>	Garbanzo	Semilla	
<i>Faba vulgaris</i>	Haba	Todas partes	Tripsina (débil)
<i>Glycine max.</i>	Soja	Semilla	Tripsina α -Quimiotripsina Quimiotripsina B Elastasa Plasmina Tromboplastina
<i>Ipomea batatas</i>	Batata	Tubérculos	Hojas Tripsina
<i>Oryza sativa</i>	Arroz	Semillas	Tripsina
<i>Phaseolus aureus</i>	Judía Mungo	Semillas, sojas	Tripsina, quimiotripsina
<i>Phaseolus coccineus</i>	Judía escarlata	Semillas	
<i>Phaseolus lunatus</i>	Judía de Lima	Semillas	α -Quimiotripsina Quimiotripsina, Plasmina
<i>Phaseolus mungo</i>	Judía negra	Semillas	Tripsina, quimiotripsina
<i>Phaseolus vulgaris</i> (numerosas variedades)	Judía blanca Judía francesa Judía arriñonada	Semillas	Tripsina, elastasa, plasmina
<i>Pisum sativum</i>	Guisante	Semillas	No bien definida
<i>Solanum tuberosum</i>	Patata	Tubérculos, hojas	Papaína, tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasa B, elastasa, calicreína
<i>Triticum vulgare</i>	Trigo	Semilla, germen	Tripsina
<i>Vicia faba</i>	Haba	Germen	No bien definida
<i>Zea mays</i>	Maíz	Semilla	Tripsina

Tabla II. Según Liener y Kakade (1991)

Aunque los inhibidores de proteasas más estudiados han sido los de legumbres, también se han encontrado en otros alimentos tanto de origen animal como vegetal.

Fuentes animales	Fuentes vegetales
Huevo de gallina	Avena
	Arroz
Leche	Cacahuete
	Colza
Calostro	Garbanzo
	Guisante
Páncreas bovino	Haba
	Judía
	Maíz
	Patata
	Remolacha roja
	Soja

Tabla III. Principales fuentes animales y vegetales de inhibidores de proteasas.

La soja tiene un alto contenido en inhibidores de proteasas; los más importantes son la antitripsina de Kunitz y el inhibidor Bowman-Birk, estos tienen actividad antitripsina y antiquimiotripsina. La mayoría de los productos de la soja muestran inhibidores de la tripsina en el rango de 2-6 mg/ml.

Las legumbres se caracterizan por contener altos niveles de inhibidores de la proteasa. En la dieta, el arroz, el maíz y los frijoles, los cuales contienen altos niveles de inhibidores de la proteasa se asocian con una menor incidencia de colon, mama y próstata. La ingesta de panes y cereales, fuentes de alimentos que también se sabe que contienen altos niveles de inhibidores de la proteasa, se ha asociado con una menor incidencia de los cánceres orales y faríngeos.

Los inhibidores de proteasas se inactivan total o casi totalmente por acción del calor, dado que son proteínas. El grado de inhibición depende de la temperatura, el tiempo de tratamiento, el volumen del alimento y el contenido de agua y de sales del mismo.

Gran parte de esta revisión se centra en las características de BBI como el inhibidor de la proteasa anticancerígeno, ya que es el inhibidor de la proteasa que se ha llegado a la etapa de estudios en humanos como un agente quimiopreventivo del cáncer humano.

2. OBJETIVO

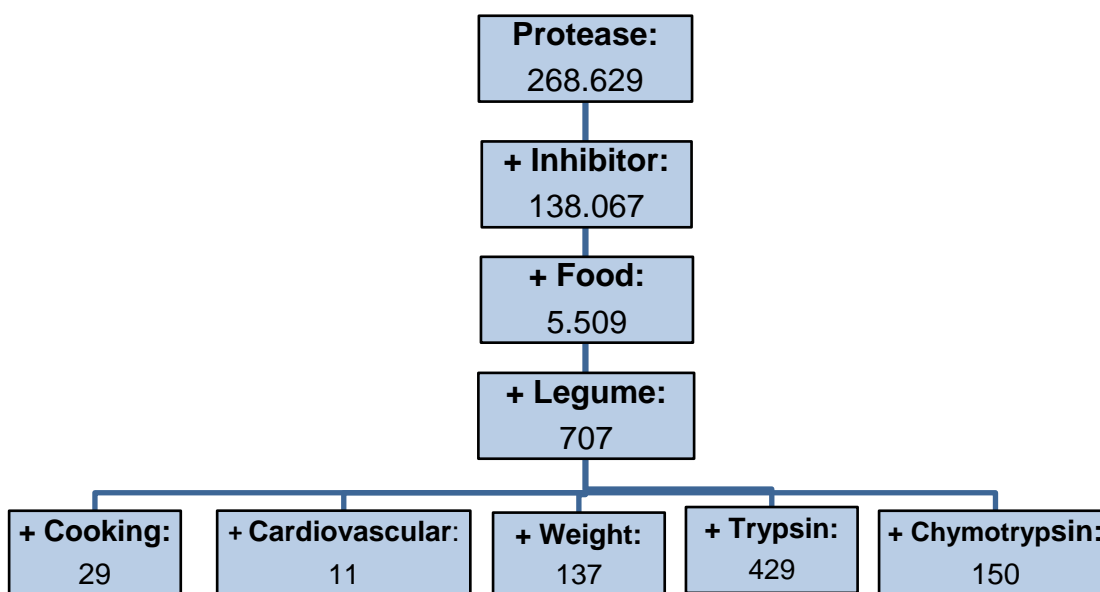
Desde hace varios años se ha hecho hincapié en el estudio de los inhibidores de proteasas de las legumbres, en especial de la soja, y sus posibles funciones biológicas sobre el organismo humano. Las proteasas son importantes para digerir las proteínas, degradándolas a aminoácidos para su posterior absorción en intestino. El procesado por calor de las legumbres es imprescindible ya que al contener inhibidores de proteasas, los cuales no permiten una digestión adecuada de las proteasas, dificultan la degradación a aminoácidos lo que puede provocar deficiencia de aminoácidos. Los problemas que puede plantear esta deficiencia son varios, entre ellos destaca que aumenta la alergenicidad y disminuye la biodisponibilidad de aminoácidos como el triptófano, el cual es precursor de la serotonina que produce la sensación de bienestar y colabora para combatir la ansiedad.

La relevancia del estudio de los inhibidores de proteasas es que no se limita a las plantas, sino que también encontramos estudios realizados sobre setas y cereales. En especial encontramos un artículo (Vetter J, 2000) en el que especifica que la actividad inhibitoria de las setas es superior a la de los cereales pero inferior a la de otros vegetales.

El objetivo de esta revisión bibliográfica es situar en el contexto actual en el que se encuentra el estudio de los inhibidores de proteasas, particularmente los inhibidores de Bowman-Birk de la soja.

Donde se ha realizado la búsqueda, la base de datos PubMed, se inició con la palabra proteasa a la que se añadieron sucesivamente inhibitor, food y legume. Posteriormente, dentro de este esquema se incorporaron las palabras: cooking, weight, trypsin, chymotrypsin, cáncer, etc. Como vemos en el Esquema I.

Se han utilizado artículos y revisiones bibliográficas para redactar este trabajo.



Esquema I: Árbol de búsqueda realizada en la base de datos PubMed a 19 de Febrero de 2014, números de artículos encontrados.

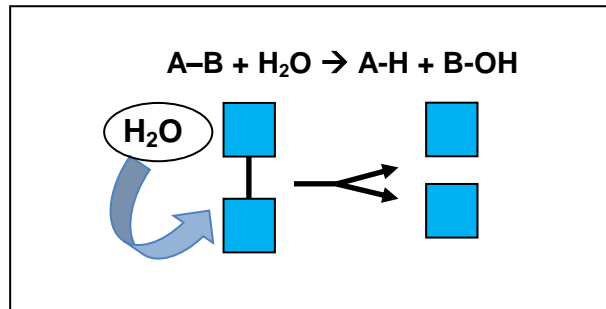
3. DESARROLLO DEL TEMA ESTRUCTURADO

Lo primero que se realizó fue una búsqueda bibliografía en bases de datos, especialmente en el PubMed. PubMed es un proyecto desarrollado por la *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* en la *National Library of Medicine (NLM)*. Permite el acceso a bases de datos bibliográficas compiladas por la NLM: MEDLINE, Pre-MEDLINE (citas enviadas por los editores), *Genbak* y *Complete Genoma*. MEDLINE es la base de datos más importante de la NLM abarcando los campos de la medicina, enfermería, odontología, veterinaria, salud pública y ciencia preclínicas. Actualmente contiene más de 11 millones de referencias bibliográficas de artículos de revistas desde el año 1966.

Dieron los siguientes resultados:

A) Mecanismo de acción de los inhibidores de proteasas

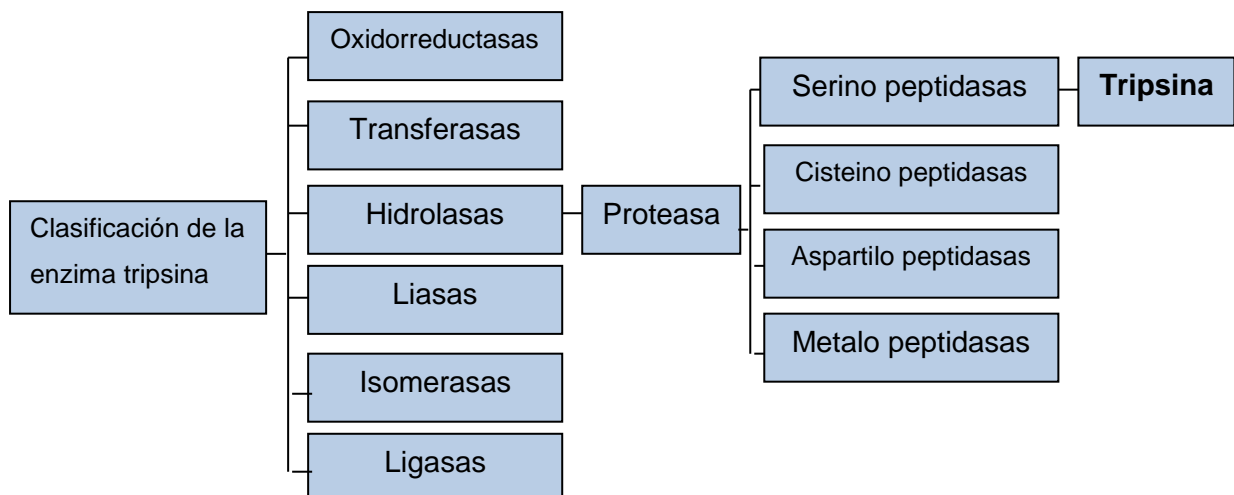
Los inhibidores de proteasas son hidrolasas, catalizan reacciones en las que participa una molécula de agua (H₂O), clase especial de transferasas en las que el grupo dador se transfiere al agua. Implica la rotura hidrolítica de enlaces C-O, C-N, O-P, C-S, C-C, etc.



Esquema II: Actuación de las hidrolasas.

B) Inhibidor de Tripsina

En el Esquema II. se presenta la clasificación de la enzima tripsina, en la cual se pueden ver los diferentes grupos a los que pertenece.



Esquema II: Clasificación de la enzima tripsina (Caffini y cols., 1988).

La tripsina (E.C. 3.4.21.4) es utilizada como modelo dentro de las proteasas serínicas. Es una endopeptidasa que presenta alta especificidad hidrolizando enlaces peptídicos cuyo carboxilo corresponde a una arginina o lisina, excepto cuando el siguiente residuo es una prolina (Muller-Esterl y cols., 2008). Es producida en el páncreas donde

se dispone en vesículas secretoras en su forma proenzima inactiva tripsinogeno. Las vesículas que contienen tripsinogeno migran hacia las microvellosidades y una vez allí, donde células de la mucosa intestinal segregan la enzima enteroquinasa, se escinde un hexapéptido del tripsinogeno para formar tripsina activa cuando el pH se encuentra entre 5,2 y 6,0. Una vez formada, la tripsina puede también realizar una división hexapéptica del tripsinogeno, proporcionando más tripsina. De esta forma, la tripsina convierte otras formas inactivas de enzimas pancreáticas en sus formas activas (Luna y cols., 2007), esta función es irreversible y necesita del inhibidor pancreático para detener su actividad.

La actividad *in vitro* de las peptidasas serínicas suele ser máxima a valores de pH alcalinos, no requiriendo en general activadores, aunque los iones calcio activan algunas proenzimas y podrían estabilizar determinadas enzimas.

Los inhibidores de proteasas más conocidos son los que actúan sobre la tripsina. Los inhibidores de la tripsina son globulinas capaces de inhibir la tripsina y la quimiotripsina pancreática, impidiendo la proteólisis digestiva y aumentando las pérdidas de nitrógeno por heces. La tabla IV recoge los contenidos de inhibidor de la tripsina en distintas legumbres consumidas en España, con valores que oscilan entre 0,4 y 1,4 UIT/mg para las lentejas y las judías respectivamente.

Legumbre	Proteína total (%)	Proteína real (%)	N no protéico (%)	DIVP (%)	Ácido fítico (%)	UIT/mg
Altramuz (<i>Lupinus luteus</i>)	36,41	27,14	1,30	92,11	0,5	1,3
Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)	22,88	14,98	1,27	78,90	1	0,8
Haba (<i>Vicia faba</i>)	24,56	20,76	1,02	80,52	0,3	0,7
Judía blanca (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	25,37	16,92	1,35	69,70	0,6	1,4
Lenteja (<i>Lens culinaris</i>)	26,71	15,95	1,72	82,93	1,2	0,4
Altramuz (<i>Lupinus luteus</i>)	36,41	27,14	1,30	92,11	0,5	1,3

TABLA IV. Contenido de proteínas e inhibidor de la tripsina en distintas legumbres de consumo en España. Periago y cols., 1997. DIVP: digestibilidad *in vitro* de proteína; UIT: unidades del inhibidor de la tripsina.

C) Calor-cocción

El procesamiento de soja es útil y necesario para destruir o eliminar los componentes no deseados, hacer que los alimentos sean más accesibles, o para mejorar la palatabilidad. Sin embargo, el procesamiento hacia estos fines también conduce a cambios en la composición de los diversos materiales de soja en comparación con semillas de soja enteras. Estos cambios pueden ser intencionados, como en el caso del calentamiento para disminuir la actividad de inhibidor de la tripsina; el resultado de solubilidades diferenciales, como cuando isoflavonas y saponinas se extraen en etanol durante el lavado requerido para producir algunos concentrados, o que se pueden efectuar como resultado de la unión a los componentes de la proteína a través de procesamiento, como parece ocurrir con saponinas y ácido fítico (Anderson RL y Wolf WJ, 1995).

La soja después de analizar 108 cepas, se informó que contiene 35-123 mg de inhibidor de tripsina/g de proteína. Cuando la soja se procesa en la harina cruda desgrasada, un proceso en el que se eliminan las cáscaras y el aceite, ninguno de los inhibidores de la tripsina se elimina pero se enriquecen en la harina a los niveles de 28-32 mg/g de harina, lo que equivale a aproximadamente 58 mg de inhibidor de tripsina/g de proteína (Tabla X).

Tipo	Actividad de Inhibidor de Tripsina	
	mg/g muestra	mg/g proteína
Soja entera	16,7-27,2	34,7-122,6
Harina cruda	28-32	57,8
Harina tostada	7,9-9,4	15,9
Concentrado	5,4-7,3	8,4-11,2
Aislado	1,2-30,0	1,4-29,4

TABLA X: Contenido en inhibidor de tripsina de las semillas de soja y productos de proteínas soja procesados.

En la tabla X observamos que la harina cruda contiene 28-32 mg de inhibidor de tripsina (IT)/g de harina y cuando tostamos la harina contiene 7,9-9,4 mg IT/g de harina, una reducción muy notable, lo cual permite la inhibición de la digestión de proteínas y puede promover las patologías derivadas a la falta de aminoácidos en el organismo.

El procesamiento de la soja cambia el contenido en nutrientes y también en antinutrientes, como los inhibidores de tripsina, ácido fítico, saponinas e isoflavonas. El procesamiento de la soja, ya sea por métodos tradicionales u occidentales, es necesario para consumo humano o para producir pienso para animales.

La preparación de las legumbres en general es laboriosa y larga, primero pasa por una fase de remojo de entre 8 y 12 horas para ablandar la semilla seca, después sigue la fase de cocción, donde actúa el factor calor y se modifica la composición del alimento.

- El remojo es una operación común al tratamiento de las leguminosas, con el fin de humedecer y ablandar las semillas, así eliminamos parte de las toxinas (24 horas a remojo) y al someterlas al tratamiento térmico el calor penetra fácilmente en el interior de la semilla y su cocción es más rápida y eficaz.
- La cocción es uno de los tratamientos culinarios de las legumbres más antiguos a las que convierte en más tiernas y aromáticas. La cocción puede realizarse a presión normal o en autoclave. Generalmente inactiva total o casi totalmente los componentes termolábiles como los inhibidores de tripsina y quimiotripsina, aunque suele quedar un valor residual inhibitor del 5-20%.

El grado de inhibición de los componentes de las leguminosas depende de la temperatura, el tiempo de tratamiento, el volumen del alimento y el contenido de agua del mismo. Sin embargo, un tratamiento térmico severo puede disminuir la calidad proteica, por lo que es importante controlar el tiempo y la temperatura de cocción. (Anderson RL y Wolf WJ, 1995).

Por esta razón, las pruebas para evaluar el grado de procesamiento de materias primas como la soja son motivo de gran interés para los laboratorios de control de calidad. Existe una relación directa entre la destrucción del enzima ureasa por calor y una mejora del valor nutricional por destrucción del inhibidor de tripsina. La actividad ureásica se mide en base al cambio de pH, el cual debe manejarse en un rango de 0,02 a 0,3.

- Un valor mayor indicaría una soja no desactivada, con presencia de una cantidad significativa del inhibidor de tripsina.
- Un valor de 0,00 o 0,01 no necesariamente indica menor calidad nutricional por procesamiento excesivo, siendo la técnica un buen indicador sólo para la detección en porotos (brotes) y subproductos de soja cocidos de forma insuficiente.

Para la detección de un proceso térmico excesivo, se recurre hoy a una técnica basada en la propiedad que tienen las proteínas de soja de ser solubles en una solución de hidróxido de potasio al 0,2%. La solubilidad de la poroto (brote) crudo es del 100% y la misma disminuye con el calentamiento. Se considera que valores de solubilidad entre 70 y 85% son aceptables para la harina de soja, teniendo una buena desactivación del inhibidor de tripsina y conservando la calidad nutricional. Un valor menor a 70% estaría indicando sobreprocesamiento térmico.

Otra prueba que da certeza del estado nutricional de la materia prima es la determinación de lisina disponible. Sin embargo, el procedimiento para la detección de este aminoácido es engorroso y poco accesible como para utilizarlo como análisis de rutina para laboratorios de control de calidad.

Pese a la alta temperatura, estos procesos no consiguen eliminar totalmente el inhibidor de tripsina; en cambio, desnaturalizan la proteína (reducen los aminoácidos lisina y cisteína) y generan nitritos cancerígenos (Omoikhoje y cols., 2009).

Recientemente, en el Boletín Oficial del Estado (BOE) han publicado el 9 de Junio de 2014, el “Real Decreto 379/2014, de 30 de mayo, por el que se regulan las condiciones de aplicación de la normativa comunitaria en materia de autorización de establecimientos, higiene y trazabilidad, en el sector de los brotes y de las semillas destinadas a la producción de brotes.”

En los últimos años la producción de semillas germinadas ha aumentado como consecuencia del incremento de la demanda de los consumidores de este tipo de productos. Su consumo en crudo y las características del proceso de germinación, favorables para el crecimiento microbiano, han dado lugar a que estos alimentos hayan sido ligados a brotes de toxiinfecciones alimentarias en el hombre. De hecho, tras el brote de toxiinfección alimentaria causado por *E. coli* en mayo de 2011 en la Unión Europea, el consumo de brotes se identificó como el origen más probable de dicha crisis alimentaria. Este hecho determinó que la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) emitiera un dictamen científico sobre el riesgo provocado por *E. coli* productora de toxina *Shiga* y por otras bacterias patógenas en semillas y en semillas germinadas en octubre de 2011 (BOE 09/06/2014; Real Decreto 379/2014).

D) Cáncer

El estudio de los inhibidores de la proteasa como agentes contra el cáncer ha sido un tema importante de investigación desde hace más de tres décadas. Hay una variedad de mecanismos por los que los inhibidores de proteasas realizan sus efectos que dependen de dos aspectos principales: la naturaleza, la estructura y las funciones de inhibidores de proteasas y, la interacción con un complejo microambiente que difiere, incluso entre los cánceres originados de la misma fuente (Guillén y cols., 2010).

Hay mucha evidencia epidemiológica que indica que las dietas que contienen grandes cantidades de productos de soja se asocian con la baja incidencia de cáncer y las tasas de mortalidad, particularmente para los cánceres de mama, colon y próstata (Kennedy y cols., 1998b). Cuando los orientales emigran a los Estados Unidos, sus hijos desarrollan los cánceres comunes occidentales aproximadamente al mismo porcentaje que se observa en los estadounidenses. Esta observación ha sugerido que no es una diferencia genética en la susceptibilidad al desarrollo de cáncer de mama, de colon o de próstata que resulta en la variación de las tasas de cáncer, sino que es más probable debido a variables estilos de vida, tales como hábitos dietéticos, consumo de cigarrillos, alcohol, etc. Se ha planteado la hipótesis de que es la alta cantidad de inhibidor de la proteasa derivado de la soja, el inhibidor Bowman-Birk (BBI), en la dieta tradicional japonesa que conduce a las bajas tasas de mortalidad del cáncer. BBI es mucho más eficaz en la supresión de los cánceres en animales que son los otros agentes anticancerígenos contenidos en la soja (Kennedy y cols., 1995).

Se ha probado que el BBI derivado de la soja suprime la carcinogénesis *in vivo*.

1) Constituyentes de la soja con actividad anticancerígena.

Los pocos agentes derivados de soja que han sido estudiados en una forma pura en sistemas de ensayo de carcinogénesis en animales se enumeran en la tabla XI junto con los efectos de cada uno de estos agentes en el desarrollo de tumores en los diferentes sistemas.

Se puede observar (Tabla XI) que el aislado de inhibidor de la proteasa, el inhibidor de Bowman-Birk (BBI), es el compuesto en la soja que ha demostrado la mayor supresión de la carcinogénesis en ensayos de carcinogénesis en animales al suprimir tanto tumores malignos como benignos. Se ha observado también que BBI puede prevenir completamente la carcinogénesis de colon (100% de supresión) y suprimir la

carcinogénesis en el hígado en un 71%, en el epitelio oral en un 86%, y en el pulmón en un 48%. La capacidad de BBI para suprimir la carcinogénesis en los diferentes sistemas estudiados supera con creces la capacidad de otros compuestos de soja. Otros dos compuestos en la soja también se han demostrado para suprimir la carcinogénesis en animales: ácido fítico y β -sitosterol (Kennedy y cols., 1995).

Compuesto de soja aislado	Ensayo de la carcinogénesis por administración de compuesto de soja	% Efecto en carcinogénesis	
		Tumores benignos o benignos y malignos	Tumores malignos
BBI (inhibidor Bowman-Birk)	-DMH induce carcinogénesis de colon en ratones con dieta BBI.	Supresión al 100%	Supresión al 100%
	-DMBA induce carcinogénesis oral en hámsteres administrados con BBI tópicamente.	Supresión al 61-86%	Supresión al 61-86%
	-DMH induce angiosarcomas hepáticos en ratones con dieta BBI.	Supresión al 71%	Supresión al 71%
	-MCA induce tumorigénesis de pulmón en ratones.	Supresión al 48%	No hay datos

Tabla XI: Componentes aislados de la soja se ha demostrado que tienen un efecto supresor sobre la carcinogénesis (tanto por ciento de los animales portadores de tumor). DMH: dimethylhydrazine; DMBA: 7,12-dimethylbenzanthracene; MCA: azoxymethane. (Kennedy y cols., 1995).

Aunque varios tipos diferentes de inhibidores de la proteasa pueden impedir el proceso carcinogénico, el más potente de los inhibidores de la proteasa anticancerígenos en una base molar son los que tienen la capacidad de inhibir la quimotripsina o proteasas de tipo quimotripsina. El inhibidor de Bowman-Birk (BBI) es un potente inhibidor de quimotripsina.

Las preparaciones de inhibidor de Bowman-Birk purificado y concentrado (PBBI y BBIC) se han demostrado útiles como anticarcinogénico: (1) en tres especies diferentes (ratones, ratas y hámsteres); (2) en varios tipos de sistemas de órganos y tejidos [de colon, hígado, pulmón, esófago, epitelio oral y en células de origen hematopoyético]; (3) en las células de origen tanto del tejido epitelial y conectivo; (4) cuando se administra a los animales por varias vías de administración (incluyendo la

dieta); y (5) en diferentes tipos de cáncer inducidos por una amplia variedad de carcinógenos químicos y físicos.

Aunque otros dos agentes de la soja, el ácido fítico (inositol hexakisphosphate) y el esteroide β -sitosterol] son capaces de suprimir la carcinogénesis en animales, BBI es mucho más eficaz en la supresión los cánceres en animales que los otros agentes anticancerígenos conocidos presentes en la en la soja.

2) Mezclas de compuestos de soja capaces de suprimir la carcinogénesis *in vivo*.

En todos los estudios que se implicaron BBIC mostraron esencialmente el mismo efecto supresor sobre la carcinogénesis animal, permitiendo la conclusión de que BBIC debía su actividad anticancerígena a BBI (St. Clair y cols., 1990). Para los estudios que utilizan BBIC y PBBI, el grado de supresión de la carcinogénesis estaba relacionado con la dosis del agente cancerígeno utilizado. Si la dosis del agente cancerígeno fue alta, de tal manera que más de la mitad de los animales expuestos desarrollan cáncer, la incidencia de los animales que desarrollaron tumores fue de aproximadamente la mitad de la que se produce en los animales que recibieron sólo el tratamiento con el carcinógeno. Si la dosis del agente cancerígeno era tal que menos de la mitad de los animales expuestos desarrollaron tumores, PBBI o BBIC tuvo un efecto depresor mayor sobre la carcinogénesis. En algunos de estos experimentos, se observó que PBBI y BBIC sí impide totalmente la carcinogénesis.

BBIC fue desarrollado para su uso en ensayos a gran escala de prevención del cáncer humano. BBIC ha logrado ser un nuevo medicamento en EE. UU. (IND N° 34671; patrocinador, Ann R Kennedy). Food and Drug Administration (FDA; EE. UU.) y los ensayos para evaluar BBIC como agente anticancerígeno en las poblaciones humanas comenzaron en 1992. En BBIC, la actividad anticancerígena ha demostrado ser la actividad de inhibidor de quimotripsina, que está presente en la soja sólo en BBI (Yavelow y cols., 1985). Las dosis de BBIC se miden en unidades de inhibidor de quimotripsina.

3) Efectos potencialmente tóxicos de los inhibidores de proteasa de la soja.

La capacidad de inhibir la carcinogénesis se asocia con la capacidad de inhibir la quimotripsina (esta es la razón por la que la dosis de BBIC se mide en unidades de inhibidor de quimotripsina) (Yavelow y cols., 1985).

El efecto en crecimiento atípico en páncreas de rata, que se asoció anteriormente con los inhibidores de la proteasa de la soja, no se espera que ocurra en los humanos (Kennedy y cols., 1994, Kennedy y cols., 1995, Liener y cols., 1995)

Los inhibidores de proteasa son, a diferencia de otros agentes que se han utilizado como agentes quimiopreventivos de cáncer, eficaces como agentes anticancerígenos en concentraciones molares extremadamente bajas, mientras que la mayoría de los otros agentes anticancerígenos son eficaces sólo a niveles muy altos (Kennedy y cols., 1994).

En apoyo de estudios de prevención de cáncer humano con BBIC, se llevaron a cabo estudios de toxicidad oral subclínica de BBIC en perros y ratas. Las conclusiones de las evaluaciones de toxicidad y de patología estándar fueron que en las ratas, no se observaron efectos adversos relacionados con el tratamiento. En los perros, el único efecto relacionado con el tratamiento potencial eran incidencias esporádicas de diarrea (Kennedy y cols., 1998a). Los estudios en perros y ratas se realizaron con dosis de BBIC hasta 100 veces mayor que la dosis más alta propuesta para los estudios humanos sobre una base de mg/kg de peso.

Hay muchas razones para utilizar una preparación que contiene BBI en lugar de semillas enteras de soja como agente anticancerígeno (Kennedy y cols., 1998a):

- 1) Hay varios agentes en la soja, harina de soja, y diversas preparaciones comerciales de soja que pueden favorecer el desarrollo del cáncer. Estos compuestos se eliminan en BBIC (Yavelow y cols., 1985). Se utilizó el sistema de ensayo en el que BBI fue originalmente identificado como un agente anticancerígeno para desarrollar los métodos de producción de BBIC de modo que se mantendría su capacidad preventiva del cáncer durante el proceso de fabricación en el que se eliminan los componentes de la soja que favorecen la carcinogénesis.
- 2) Los compuestos de peso molecular bajo que han sido retirados del BBIC son los que pueden enmascarar la actividad anticancerígena de BBI (Yavelow y cols., 1985).

- 3) La baja actividad del inhibidor de tripsina en BBIC es presumiblemente la razón por la que incluso las dosis muy altas de BBIC no han dado lugar a alteraciones histopatológicas en los páncreas de ratas en el laboratorio de Kennedy (Kennedy y cols., 1998b), en el de Southern Research Institute (SRI) en Birmingham (EE. UU.).

4) Posibles mecanismos de acción anticancerígenos.

Aunque se han realizado muchos estudios, los mecanismos precisos por los que los inhibidores de la proteasa inhiben la carcinogénesis son desconocidos. Se han discutido varias hipótesis diferentes relativas a la actividad anticancerígena del inhibidor de la proteasa, y pueden existir varios mecanismos distintos. Uno de los mecanismos que contribuyen a la actividad anticancerígena de BBI es una toxicidad selectiva para células pre-malignas y ciertas células malignas.

Aunque BBI y otros inhibidores de la proteasa anticancerígenos no funcionan como agentes eliminadores de radicales libres, pueden lograr el mismo resultado final como antioxidantes pudiendo reducir los efectos de los radicales libres en las células y de ese modo disminuir la extensión del daño oxidativo. Existe una fuerte correlación entre la capacidad de un inhibidor de la proteasa para reducir el efecto de radicales libres de oxígeno de las células y su capacidad para inhibir la carcinogénesis, con inhibidores con actividad de inhibidor de quimotripsina (como BBI) que tiene la mayor potencia. Esta capacidad también se relaciona con la actividad antiinflamatoria de BBI. Debido a que la inflamación está estrechamente asociada con la carcinogénesis, la actividad antiinflamatoria de BBI podría ser el principal mecanismo por el cual BBI evita la carcinogénesis.

E) Propiedades anti-inflamatorias

Ahora se sabe que BBI es altamente anti-inflamatorio. En varios de los estudios de carcinogénesis animal, una reducción en el nivel de agregados linfoides o infiltrados linfocitarios en los animales tratados con BBI/BBIC se correlacionó directamente con una disminución en los rendimientos de tumores (St. Clair y cols., 1990).

El mecanismo por el cual BBI reduce la respuesta inflamatoria es desconocido, aunque varias reacciones diferentes podrían contribuir a esta actividad. Se cree que la conversión de la citoquina inactiva 31 kDa a una citoquina activa tiene un papel crítico

en la iniciación de la respuesta inflamatoria (Mizutani y cols., 1991). Los inhibidores de la proteasa anticancerígenos se han demostrado para prevenir la afluencia de leucocitos polimorfonucleares (PMN) en las regiones de la inflamación, así como la producción de especies activas de oxígeno por parte de estas células.

Los inhibidores de la proteasa anticancerígenos han sido previamente demostrados para inhibir la inflamación específicamente asociada con la promoción de tumores, que es una etapa de la carcinogénesis sujeto a la inhibición. Por lo tanto, la inhibición de la promoción, por parte de inhibidores de la proteasa, puede ser vista como un efecto beneficioso (Kennedy y cols., 1998a).

La Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE) sirve como un modelo animal del trastorno inflamatorio en el Sistema Nervioso Central (SNC) de la Esclerosis Múltiple (EM). La EAE está mediada por células Th1 y Th17 que migran al SNC e inician la inflamación dirigido contra componentes de la mielina, lo que resulta en la patología del SNC y el déficit neurológico clínico. Se ha demostrado que el tratamiento oral con BBI retrasa la aparición de la EAE y reduce su gravedad. Estos efectos beneficiosos se asocian con un aumento en la secreción de IL-10 por las células inmunes de los ratones tratados con BBI (Dai y cols., 2012).

BBI tiene efectos antiinflamatorios (Qi y cols., 2005). Varios estudios previos indican que BBI reduce la inflamación en EAE y atenúa la pérdida neuronal, por lo que es un candidato potencial para la terapia oral en EM (Touil y cols., 2008).

Un estudio muestra evidencia de que los BBI regulan los linfocitos T CD4⁺ de las células en la respuesta inmune en la EAE. La administración BBI retrasó el inicio de la EAE y la reducción de la severidad de una manera dependiente de IL-10, como la supresión mediada por BBI de EAE fue abolida en ratones “knockout” (ratones KO) para IL-10. Los efectos beneficiosos fueron acompañados por la reducción del interferón gamma (IFN- γ), IL-17 y el aumento de la producción de IL-10. Las células T CD4⁺ eran la principal fuente de IL-10 en la periferia y en el SNC durante el tratamiento con BBI. Además, los ratones tratados con BBI habían reducido el número de células infiltradas en el SNC, incluyendo las células colaboradoras Th17.

Además, se ha demostrado que BBI, mediante sus propiedades anti-inflamatorias, protege las neuronas de la neurotoxicidad mediada por macrófagos activados (Li y cols., 2011).

F) Digestión y absorción

La digestión y absorción de nutrientes podrían ser medidas por dos parámetros, incluyendo digestibilidad de los nutrientes y el depósito. La digestibilidad de proteínas tiene incidencia en: (1) el incremento de la alergenicidad de las proteínas dietarias; (2) la biodisponibilidad de aminoácidos, en particular el triptófano que es precursor de la serotonina.

En un estudio, la ingestión de soja cruda llevó a una disminución significativa de la digestibilidad de la materia seca, de las proteínas y del extracto libre de nitrógeno. La digestibilidad de nutrientes se redujo en los animales alimentados con inhibidor de tripsina. Muchos estudios han encontrado que la digestibilidad de la proteína se redujo en 20-40% en los animales alimentados con dietas que contienen soja cruda o altos niveles de inhibidor de tripsina en comparación con los alimentados con dietas que contienen soja cocinada o harina de soja (Caine y cols., 1998).

En otro estudio, la soja cruda se usó como fuente de inhibidor de tripsina, y los resultados mostraron que la digestibilidad de la proteína se redujo significativamente por el 22,56% en el grupo de tratamiento en comparación con el grupo de control (Arbogast y cols., 2007)

Los estudios con anticuerpos anti-BBI y BBI marcado con ¹²⁵I han permitido analizar la distribución post digestiva de los fragmentos de BBI. Los resultados indican que BBI es captado por la mayoría de los órganos, pero no cruza la barrera sangre-cerebro (Kennedy y cols., 1998a).

G) Propiedades anti-oxidantes

Un estudio examinó los efectos de la descarga gravitacional sobre la homeostasis redox y la función contráctil del músculo sóleo de ratón y evaluó la suplementación dietética con BBI y BBIC como una contramedida. BBI es una proteína de soja que tiene efectos radioprotectores a través de mecanismos de acción que incluyen la inhibición de la proteasa serina y las propiedades antioxidantes. En apoyo de este último mecanismo, BBI se ha demostrado para disminuir la producción de especies reactivas del oxígeno por tipos de células no musculares y para disminuir el estrés oxidativo sistémico causado por la irradiación de todo el cuerpo (Arbogast y cols., 2007).

Los datos actuales también proporcionan nuevos conocimientos sobre las propiedades antioxidantes de BBIC, mostrando su actividad biológica *in vivo* y la capacidad de BBIC para depurar directamente a las especies reactivas del oxígeno. El hallazgo más importante de este estudio es que la suplementación de BBIC protege el músculo esquelético en contra de la atrofia y la debilidad causada por la descarga mecánica. Los datos concuerdan estrechamente con los de Morris et al. (Morris y cols., 2005), constitutivo de la reproducibilidad de la protección BBIC en roedores. Esto pone de relieve el valor potencial de la suplementación BBIC como una contramedida para la debilidad descarga inducida y fortalece la justificación para probar la eficacia BBIC en los seres humanos.

Si la pérdida de músculo funcional se puede prevenir a través de la suplementación dietética simple, esto podría conducir a una rápida recuperación del reposo prolongado en cama o inmovilización de miembros (Morris y cols., 2005).

Se ha demostrado que ciertos inhibidores de la proteasa previenen la afluencia de células polimorfonucleares (PMN), así como la liberación de radicales libres por los PMN en respuesta al ácido tricloroacético (ATC) (Kennedy y cols., 1998a). Aunque BBI y otros inhibidores de la proteasa anticancerígenos tienen una capacidad limitada para hacer frente a los radicales libres o sus efectos biológicos, pueden alcanzar efectivamente el mismo resultado final como agentes antioxidantes pudiendo controlar los radicales libres de ser producidos en las células y de ese modo disminuir la cantidad de daño oxidativo. Es evidente que existe una fuerte correlación entre la capacidad del inhibidor de la proteasa para evitar la liberación de radicales libres de oxígeno de las células y su capacidad para inhibir la carcinogénesis, con los que tiene actividad de inhibidor de quimiotripsina, tales como BBI que tiene la mayor potencia. El trabajo reciente ha indicado que BBI en realidad tiene la capacidad de convertirse en un antioxidante *in vivo*.

H) Prevención de la pérdida de cabello

La mayoría de los estudios que se han realizado para reducir al mínimo la dermatitis por radiación y la pérdida de cabello resultante se han dirigido a reducir al mínimo la inflamación inducida por la radiación local. Esta inflamación inducida por la radiación se piensa que es mediado por los mastocitos.

La hipótesis en estos experimentos fue que BBI podía modificar la calidad del pelo y la pérdida de cabello, ya sea por la inflamación que afecta localmente a la modulación celular o actuando sobre un sistema efector, tal como caquectina. Se planteó la hipótesis de que BBI inhibe la activación de caquectina (que induce un estado probado de debilidad y anorexia similar al observado en la infección crónica y en el cáncer) mediante el bloqueo por escisión de la proteasa que se sabe que es necesario en el procesamiento y secreción de caquectina.

En un estudio diseñado para determinar si la adición de BBIC a la dieta podría inhibir la leucemia inducida por radiación en ratones, se observaron tres hallazgos inesperados. En el momento del sacrificio de los animales o la muerte debido a la leucemia, los ratones suplementados con BBIC parecían más saludables en que tenían el cabello más brillante, no tuvieron pérdida de cabello inducida por la radiación, y que pesaban más que los ratones no suplementados con BBIC. Los ratones suplementados con BBIC parecían animales normales, mientras que se observaron que los ratones no suplementados con BBIC estaban en posiciones agazapadas la mayor parte del tiempo (Kennedy y cols., 1998a). Se asumió que la pérdida de cabello era debido a la irradiación de los animales.

I) Propiedades anti-fúngicas

Inhibidores de la proteasa han sido reportados como parte del mecanismo de defensa de las plantas contra el ataque de hongos. Diferentes métodos han sido desarrollados con el fin de identificar los agentes antifúngicos. Por ejemplo, el método descrito por Wang y Ng (Wang y cols., 2006) es un ensayo simple que permite la fácil visualización de inhibición del crecimiento fúngico. El método consiste en la transferencia de un disco de micelio (alrededor de 0,6 cm de diámetro) en el centro de una placa de Petri que contiene un medio de agar de patata y dextrosa (APD). A continuación, papeles de filtro estériles se deben empapar con 20 l de la muestra de prueba o la solución de control. Cuatro discos se colocan en cada plato, que corresponde a la de control y tres que contiene diferentes concentraciones de la muestra de ensayo. Los discos se colocan aproximadamente 1 cm distantes desde el disco de micelio y equidistantes unos de otros. Después del montaje del experimento, las placas deben ser incubadas a 28°C durante al menos 72 horas y luego a partir de la formación o no de los anillos de inhibición alrededor de los discos de papel que contienen la muestra de ensayo se registra lo obtenido.

J) Propiedades anti-bacterianas

Los inhibidores de la proteasa también han sido descritos como agentes antibacterianos y esta actividad biológica se ha atribuido a la inhibición de las proteasas bacterianas implicadas en varios procesos fisiológicos, así como las interacciones entre el inhibidor y la pared celular o proteínas de membrana de plasma que conduce a cambios en la permeabilidad celular y la inducción de la muerte de las bacterias (Supuran y cols., 2002; Li y cols., 2007; Kim y cols., 2009).

El ensayo reveló la formación de zonas de inhibición del crecimiento (zona clara que carecía de crecimiento bacteriano) que van de 12 a 18 mm alrededor de discos de papel que contienen el inhibidor purificado.

K) Posible toxicidad de los inhibidores de proteasa

Entre los efectos tóxicos de una dieta con alta presencia de estos inhibidores encontramos: mala digestión, trastornos gástricos, agotamiento pancreático, hiperplasia pancreática, hipersecreción pancreática de enzimas inactivas (debido al mecanismo pancreático para compensar la actividad de las proteasas), déficit de vitamina B12 (anemia), disminución de aminoácidos azufrados, reducción de la absorción de grasas y retraso de crecimiento hasta el 40%.

Estos efectos se deben en parte a que las enzimas pancreáticas (tripsina, quimotripsina) son ricas en aminoácidos azufrados, la hipertrofia y/o hiperplasia pancreática desvía estos aminoácidos esenciales de la síntesis proteica para sintetizar más enzimas generando un retraso en el crecimiento del animal.

4. CONCLUSIONES

Tras la realización de este trabajo sobre los inhibidores de proteasas de las legumbres, encontramos varias ideas contrastadas, de las cuales destacan las más relevantes a continuación.

- El grado de inhibición de los inhibidores de proteasas de las leguminosas depende de la temperatura, el tiempo de tratamiento, el volumen del alimento y el contenido de agua del mismo, así como de los demás componentes presentes en la legumbre. Es importante conseguir un grado de inhibición tal

que se desactiven los inhibidores de proteasa de la legumbre pero que siga conteniendo los nutrientes favorables para el organismo.

- Se ha probado que el inhibidor de Bowman-Birk derivado de la soja reduce la carcinogénesis *in vivo*.
- La capacidad de inhibidor de Bowman-Birk para suprimir la carcinogénesis en los diferentes sistemas estudiados supera con creces la capacidad de otros compuestos de soja.
- Las preparaciones de inhibidor de Bowman-Birk purificado y concentradas se han demostrado útiles como anticarcinogénico: (1) en tres especies diferentes (ratones, ratas y hámsteres); (2) en varios tipos de sistemas de órganos y tejidos [de colon, hígado, pulmón, esófago, bolsa de la mejilla (epitelio oral), y en células de origen hematopoyético]; (3) en las células de origen tanto del tejido epitelial y conectivo; (4) cuando se administra a los animales por varias vías de administración (incluyendo la dieta); (5) en diferentes tipos de cáncer inducidos por una amplia variedad de carcinógenos químicos y físicos.
- En el concentrado de inhibidor de Bowman-Birk (BBIC), la actividad anticancerígena ha demostrado ser la actividad de inhibidor de la quimotripsina, que está presente en la soja sólo en BBI. BBIC puede considerarse un agente quimiopreventivo prometedor del cáncer en los seres humanos.
- Los inhibidores de proteasa son eficaces como agentes anticancerígenos en concentraciones molares extremadamente bajas, por lo que se reduce al mínimo la posible toxicidad derivada de su uso.
- Los mecanismos precisos por los que los inhibidores de la proteasa inhiben la carcinogénesis son desconocidos.
- Se ha demostrado que el inhibidor de Bowman-Birk, mediante sus propiedades anti-inflamatorias, protege las neuronas de la neurotoxicidad mediada por macrófagos activados. Los datos proporcionan evidencia clara del papel esencial de la IL-10 en la supresión mediada por BBI en la EAE, e indican que BBI podría ser un candidato prometedor para el desarrollo de una nueva terapia anti-inflamatoria.

- La digestibilidad de nutrientes se redujo en los animales alimentados con inhibidor de tripsina de soja.
- Los inhibidores Bowman-Birk tienen propiedades antioxidantes, reduciendo la producción de radicales libres.
- Los inhibidores de Bowman-Birk tienen propiedades que evitan la pérdida de cabello.

5. CONSIDERACIONES FINALES

Dado el alto consumo de legumbres y la importancia que adquiere el grado de cocción de estas, llama la atención el escaso número de artículos o estudios realizados sobre este tema, considerando la relevancia que tiene en el organismo, y los problemas que pueden derivarse. Es muy importante el grado de cocción de las legumbres para conseguir, por un lado, que se reduzcan al mínimo los inhibidores de proteasas para no interferir en la digestión ni absorción, y por otro lado, que se mantengan lo máximo posible los demás componentes/nutrientes que contienen las legumbres. Por ello es importante estudiar el grado adecuado de cocción de las distintas legumbres en función del contenido de inhibidores de proteasas y nutrientes tras el proceso térmico y el tipo de digestión y el grado de absorción que obtenemos en cada caso, así como su significación estadística real en poblaciones amplias.

6. BIBLIOGRAFIA

Anderson RL y Wolf WJ. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones relates to soybean processing. *J. Nutr.* 1995; 125: 581-588.

Arbogast S, Smith J, Matuszczak Y, Hardin BJ, Moylan JS, Smith JD et al. Bowman-Birk inhibitor concentrate prevents atrophy, weakness, and oxidative stress in soleus muscle of hindlimb-unloaded mice. *J Appl Physiol.* 2007; 102: 956–964.

Caffini NO, López LMI, Natalucci CL y Priolo NS. Proteasas de plantas superiores. I. Características generales, rol fisiológico y aplicaciones. *Acta Farm Bonaerense.* 1988, 7(3): 195-213.

- Caine WR, Sauer WC, Verstegen MWA, Tamminga S, Li S y Schulze H. Guanidinated protein test meal with higher concentration of soybean trypsin inhibitors increase ileal recoveries of endogenous amino acids in pigs. *J. Nutr.* 1998; 128: 598-605.
- Dai H, Ciric B, Zhang GX, y Rostami A. Interleukin-10 plays a crucial role in suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by Bowman–Birk inhibitor. *J. Neuroimmunol.* 2012; 245(1-2): 1-7.
- De Leo F, Volpicella M, Licciulli F, Liuni S, Gallerani y Ceci LR. PLANT-PIs: a database for plant protease inhibitors and their genes. Oxford University Press. 2002; 30(1): 347-348.
- Fan SG y Wu GJ. Characteristics of plant proteinase inhibitors and their applications in combating phytophagous insects. *Bot. Bull. Acad. Sinica.* 2005; 46: 273-292.
- Guillén JLC, Gasca TG y Labra AB. Protease inhibitors as anticancer agents. Nova Science Publishers. 2010; 91-124.
- Kennedy AR. Prevention of carcinogenesis by protease inhibitors. *Cancer Res.* 1994; 54; 1999s-2005s.
- Kennedy, AR. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. *J. Nutr.* 1995; 125: 733S-743S.
- Kennedy AR. Chemopreventive agents: protease inhibitors. Elsevier. 1998a; 78(3): 167–209.
- Kennedy AR. The Bowman-Birk inhibitor from soybeans as an anticarcinogenic agent. *Am J Clin Nutr.* 1998b; 68: 1406S-12S.
- Kim JY, Park SC, Hwang I, Cheong H, Nah JW, Hahm KS et al. Protease inhibitors from plants with antimicrobial activity. *Int J Mol Sci.* 2009; 10: 2860-2872.
- Liener IE. Possible Adverse Effects of Soybean Anticarcinogens. *J. Nutr.* 1995; 125: 744S-750S.
- Li J, Zhang C, Xu X, Wang J, Yu H, Lai Tet al. Trypsin inhibitory loop is an excellent lead structure to design serine protease inhibitors and antimicrobial peptides. *FASEB J.* 2007; 21: 2466–2473.

- Li J, Ye L, Cook DR, Wang X, Liu J, Kolson DL, et al. Soybean-derived Bowman-Birk inhibitor inhibits neurotoxicity of LPS-activated macrophages. *J. Neuroinflammation*. 2011; 8: 15.
- Luna PPG y Gallardo GL. Study on intestinal absorption, metabolism, and adaptation. *Nutr Hosp*. 2007; 22(2): 5-13.
- Mizutani H, Schechter N, Lazarus G, Black RA y Kupper TS. Rapid and specific conversion of precursor interleukin 1 β (IL-1 β) to an active IL-1 species by human mast cell chymase. *J. Exp. Med*. 1991; 174: 821-825.
- Morris CA, Linda D. Morris LD, Kennedy AR y Sweeney HL. Attenuation of skeletal muscle atrophy via protease inhibition. *J Appl Physiol*. 2005; 99: 1719-1727.
- Müller-Esterl W, Brandt U, Anderka O, Kieb S, Ridinger K y Plenikowski M. *Biología: fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida*. Barcelona; Ed. Reverté; 2008.
- Omoikhoje SO, Aruna MB y Bamgbose AM. Effect of cooking time on some nutrient and antinutrient components of bambaragroundnut seeds. *Animal Science Journal*. 2009; 80: 52-56.
- Qi RF et al., Song ZW y Chi CW. Structural Features and Molecular Evolution of Bowman-Birk Protease Inhibitors and Their Potential Application. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2005; 37 (5): 283-292.
- Rawlings ND, Tolle DP & Barrett AJ. Families of peptidases inhibitors. *J Biochem*. 2004; 378, 705–716.
- St. Clair WH, Billings PC, Carew JA, McGandy CK, Newberne P, and Kennedy AR. Suppression of DMH-induced Carcinogenesis in Mice by Dietary Addition the Bowman-Birk Protease Inhibitor. *Cancer Res*. 1990; 50: 580-586.
- Supuran CT, Scozzafava A, Clare BW. Bacterial protease inhibitors. *Med Res Rev*. 2002; 22(4): 329–372.
- Touil T, Ciric B, Ventura E, Shindler KS, Gran B y Rostami A. Bowman-Birk Inhibitor suppresses autoimmune inflammation and neuronal loss in a mouse model of multiple sclerosis. *J. Neurol Sci*. 2008; 271(1-2): 191-202.
- Vetter J. Trypsin inhibitor activity of basidiomycetous mushrooms. *Eur Food Res Technol*. 2000; 211: 346-348.

Wang HX y Ng TB. Concurrent isolation of a Kunitz-type trypsin inhibitor with antifungal activity and a novel lectin from *Pseudostellaria heterophylla* roots. *BBRC*. 2006; 342: 349-353.

Yavelow J, Collins M, Birko Y, Troll W, y Kennedy AR. Nanomolar concentrations of Bowman-Birk soybean protease inhibitor suppress x-ray-induced transformation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1985; 82: 5395-5399.