

## Artículo

# Proteínas y péptidos en nutrición enteral

O. Martínez Augustin<sup>1</sup> y E. Martínez de Victoria Muñoz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica y Biología Molecular 2. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. <sup>2</sup>Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Granada.

## Resumen

La proteína es un macronutriente esencial para el crecimiento y el mantenimiento de las estructuras corporales. Un concepto importante en nutrición proteica es la calidad de la proteína que viene, principalmente, determinada por el perfil y proporción de los aminoácidos que la componen, aunque pueden intervenir otros factores como la solubilidad y el grado de glicosilación. Para evaluar la calidad de la proteína existen diversos métodos que se pueden clasificar en químicos, biológicos y microbiológicos. Actualmente se utiliza, de rutina, el cómputo de aminoácidos corregido con la digestibilidad de la proteína (PDCAAS). La calidad de una proteína puede modificarse por los tratamientos tecnológicos y culinarios a los que son sometidos los alimentos que la contiene y también por la presencia en ellos de factores antinutricionales que afectan a la biodisponibilidad de los aminoácidos. La complementación proteica permite, mediante la formulación de mezclas de proteínas de baja calidad, mejorar la biodisponibilidad, y por tanto la calidad de esa mezcla proteica. En los últimos años la nutrición y la tecnología de los alimentos están experimentando una profunda transformación debido al desarrollo del concepto de alimentos funcionales y de nutracéuticos. Tanto las proteínas funcionales como los péptidos bioactivos están cobrando gran importancia ya que, además de su papel nutricional por ser fuente de aminoácidos, son capaces de ejercer diferentes efectos biológicos específicos sobre el sistema inmune, el sistema cardiovascular o el tracto gastrointestinal. Además, se ha descrito que estos péptidos y proteínas pueden tener efectos anticancerígenos, antibacterianos o antivirales. En este trabajo se revisan las proteínas funcionales y los péptidos bioactivos más relevantes desde el punto de vista de su funcionalidad, haciendo especial hincapié en aquellos procedentes de la leche, el huevo y la soja.

(*Nutr Hosp* 2006, 21:1-14)

Palabras clave: *Calidad proteica. Aminoácidos. PDCAAS. Complementación proteica. Soja. Leche. Huevo. Proteínas funcionales. Péptidos bioactivos. Lactoferrina. Transferrina. Factores de crecimiento.*

**Correspondencia:** Olga Martínez Augustin  
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular 2  
Facultad de Farmacia  
Campus de Cartuja, s/n. 18072 Granada (España)  
E-mail: [omartine@ugr.es](mailto:omartine@ugr.es)

## PROTEINS AND PEPTIDES IN ENTERAL NUTRITION

### Abstract

A protein is an essential macronutrient for the growth and maintenance of corporal structures. An important concept in proteic nutrition is the protein's quality, mainly determined by the profile and proportion of the amino acids making up the protein, although other factors such as solubility and degree of glycosylation may be involved. There are different ways to evaluate protein quality that can be classified as chemical, biological and microbiological. Currently Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) is routinely used. Protein quality can be altered by the technological and culinary processes to which food is subjected and also by the presence in food of anti-nutritional factors affecting the bioavailability of amino acids. Protein complementation through the formulation of low-quality protein mixtures lets us improve bioavailability, and therefore the quality of this protein mix. In the past few years, nutrition and food technology are undergoing a profound transformation due to the development of the concept of functional and nutraceutical foods. Functional proteins and bioactive peptides are gaining in importance since, in addition to their nutritional role as a source of amino acids, they are capable of exerting different biological effects on the immune system, the cardiovascular system or the gastrointestinal tract. In addition, these peptides and proteins have been described as having anticancer, antibacterial or antiviral effects. This paper reviews the most relevant functional proteins and bioactive peptides from a functional standpoint, with special emphasis on those coming from milk, eggs and soy.

(*Nutr Hosp* 2006, 21:1-14)

Key words: *Protein quality. Amino acids. PDCAAS. Protein complementation. Soy. Milk. Eggs. Functional proteins. Bioactive peptides. Lactoferrin. Growth factors.*

## Introducción

Las proteínas son el principal componente estructural y funcional de las células y tienen numerosas e importantes funciones dentro del organismo que van desde su papel catalítico (enzimas) hasta su función en la motilidad corporal (actina, miosina), pasando por su papel mecánico (elastina, colágeno), de transporte y almacén (hemoglobina, mioglobina, citocromos), protección (anticuerpos), reguladora (hormonas), etc.<sup>1</sup>.

Su característica más importante es que contienen nitrógeno, siendo el contenido medio de este elemento de un 16%. Son macromoléculas formadas por cadenas de unidades estructurales, los aminoácidos. Estos aminoácidos se unen por medio de enlaces peptídicos entre los grupos carboxilo y el grupo  $\alpha$ -amino (imino), con pérdida de agua. La secuencia de aminoácidos que componen una proteína constituye su estructura primaria, de vital importancia desde el punto de vista nutricional. También tienen importancia nutricional, aunque en menor medida, la estructura secundaria y terciaria. Se clasifican atendiendo a distintos puntos de vista como son: solubilidad, composición, forma, propiedades físicas, función, estructura tridimensional, etcétera. La proteína supone aproximadamente el 17% de la masa corporal. A pesar de su diversidad funcional (enzimática, de transporte y almacén, mecánica, motilidad, protección, reguladora, etc.) un 25% es proteína estructural y hemoglobina<sup>1</sup>.

Desde el punto de vista nutricional la proteína es un macronutriente presente en los alimentos. La importancia de la proteína presente en la dieta se debe a su capacidad de aportar aminoácidos para atender al mantenimiento de la proteína corporal y al incremento de esta durante el crecimiento. La limitación en el aporte de energía y de proteína conduce a un retraso en el crecimiento<sup>2,3</sup>. En el adulto, la pérdida de proteína corporal se asocia con numerosas alteraciones patológicas y a un aumento en la mortalidad<sup>1</sup>.

Como antes mencionamos, el aspecto más importante de una proteína, desde el punto de vista nutricional, es su composición en aminoácidos, aunque otras características estructurales como la solubilidad y la glicosilación, pueden afectar su digestibilidad y en consecuencia su valor nutricional.

## Aminoácidos

Los aminoácidos se han clasificado, clásicamente, basándose en la posibilidad o no de ser sintetizados "de novo" por el organismo. Así, se incluyen los aminoácidos esenciales (o indispensables), cuyo esqueleto hidrocarbonato no se puede sintetizar en el organismo humano y por tanto, deben ser aportados, de forma obligatoria, por la dieta para atender a las necesidades corporales (crecimiento y mantenimiento de estructuras). Los nueve aminoácidos indispensables son: fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metioni-

na, treonina, triptófano y valina. En la actualidad, el grupo de aminoácidos no esenciales (o dispensables) se ha subdividido en los realmente dispensables que son sintetizados en el organismo a partir de otros aminoácidos o de otros metabolitos (alanina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico y serina) y los condicionalmente indispensables que se sintetizan por vías complejas y obligatoriamente, a partir de otros aminoácidos o su síntesis puede estar limitada en situaciones fisiológicas (prematuridad) o fisiopatológicas (estrés catabólico severo o disfunción metabólica intestinal). A este grupo pertenecen la arginina, cisteína/cistina, glutamina, glicina, prolina y tirosina. Sus precursores son glutamina/glutamato, aspartato, metionina, serina, ácido glutámico, amonio, colina, glutamato y fenilalanina respectivamente<sup>4,5</sup>.

Tras su ingestión, la proteína de la dieta es digerida y absorbida en el tracto gastrointestinal. Después de su desnaturalización por el ácido gástrico es hidrolizada en pequeños péptidos y aminoácidos por las proteasas gástricas y pancreáticas. Estos productos de la digestión son transportados a las células mucosales. En ellas se produce una nueva hidrólisis mediada por peptidasas intracelulares. Algunos de los aminoácidos presentes en la célula son utilizados por los propios enterocitos (como fuente energética y en el recambio celular), otros sufren transformaciones metabólicas (transaminación de aminoácidos dicarboxílicos) antes de pasar a la sangre de forma que el perfil de aminoácidos que llega, por vía portal, al hígado no refleja exactamente el de aminoácidos absorbidos<sup>6,7</sup>.

A su llegada al hígado, una parte es captada y utilizada por este órgano, el resto entra en la circulación sistémica y son utilizados por los tejidos periféricos. El destino metabólico de los aminoácidos es complejo y va desde la utilización como sustrato energético o gluconeogénico hasta la síntesis de proteínas y péptidos, pasando por la síntesis de aminoácidos no esenciales o la formación de otros compuestos nitrogenados. Todos los compuestos nitrogenados del organismo, procedente de los aminoácidos, de aquí la importancia de la ingesta proteica.

**Tabla I**

*Requerimientos nutricionales estimados por IOM/FNB (2002) Y FAO/WHO/UNU (1985) para preescolares extrapolables a adultos*

Aminoácido	IOM/FNB mg/g de proteína	FAO/WHO/UNU mg/g de proteína
Histidina	18*	—*
Isoleucina	25	28
Lisina	55	58
Leucina	51	66
Metionina/Cisteína	25	25
Fenilalanina/Tirosina	47	63
Treonina	27	34
Triptófano	7	11
Valina	32	35

\*Indispensable en niños.

Los requerimientos nutricionales de proteína se han establecido, para la población americana y canadiense, extrapolable a la población española en 0,8 g/kg/día para adultos, con valores ligeramente superiores para la infancia (1,5 g/kg/día para < 1 año), niñez (1,1 g/kg/día, 1-3 años), escolares-pubertad (0,95 g/kg/día, 4-13 años) y adolescencia (0,85 g/kg/día, 14-18 años) y mujeres gestantes y lactantes (1,1 g/kg/día). Respecto al porcentaje calórico a cubrir por la proteína, compatible con un estado adecuado de salud, para la población adulta se ha establecido en 10-35% de las kilocalorías totales<sup>2,3,5,8</sup>.

Los requerimientos de aminoácidos indispensables según el IOM/FNB (2002) y FAO/WHO/UNU (1985), basados en los requerimientos de niños entre 1-3 años (preescolares) se recogen en la tabla I<sup>8,9,10</sup>.

Las necesidades nutricionales de proteína pueden establecerse por la presencia en la dieta de tres componentes: a) los aminoácidos indispensables (nutricionalmente esenciales); b) los condicionalmente indispensables, y c) nitrógeno no específico necesario para la síntesis de los aminoácidos dispensables (no esenciales) y otros compuestos nitrogenados de importancia<sup>11</sup>.

## Calidad proteica

La calidad nutricional de una proteína (o una fuente proteica) se define como la capacidad de esa fuente proteica para cubrir los requerimientos de nitrógeno y aminoácidos de un determinado individuo. En otras palabras, la calidad proteica se refiere a la medida en que los aminoácidos de la dieta pueden utilizarse para la síntesis proteica<sup>12</sup>.

Cuando se determinan los requerimientos nutricionales de aminoácidos (y por tanto de proteínas), se suelen expresar como ingestas totales, sin tener en cuenta el hecho de que no todos los aminoácidos presentes en el alimento, pueden ser absorbidos y utilizados. El concepto de biodisponibilidad para cualquier nutriente, incluidos los aminoácidos y otros componentes alimentarios, expresa la proporción de la cantidad total, en este caso de aminoácidos presentes en la dieta, que pueden ser absorbidos y utilizados metabólicamente. La biodisponibilidad tiene 3 componentes: digestibili-

dad, integridad química y ausencia de interferencias metabólicas<sup>6,13</sup>.

Desde el punto de vista práctico, el aspecto que más importancia en la biodisponibilidad de aminoácidos y proteínas es su digestibilidad, es decirse utilización digestiva, aunque los otros dos aspectos también tienen importancia para determinados alimentos y métodos de procesado de ellos. Así, las modificaciones en la integridad química de los aminoácidos, por ejemplo tras tratamiento térmico, afecta a su disponibilidad<sup>14</sup>. Por último, las interferencias metabólicas tienen su importancia ya que las proteínas alimentarias están acompañadas de otros componentes que pueden afectar su disponibilidad, de forma verdadera o aparente, esta última afectando el desarrollo de los ensayos. Entre estas sustancias podemos citar los alcaloides, fitoestrógenos, bociógenos, hemaglutininas, etc.<sup>15</sup>.

## Factores que afectan a la calidad proteica

Existen numerosos factores que afectan a la calidad proteica, además de su composición en aminoácidos y sus características digestivas intrínsecas. Factores intrínsecos como la propia fuente proteica, su estructura secundaria, terciaria y cuaternaria o si la proteína misma tiene propiedades antinutricionales. También se debe tener en cuenta el tipo de procesado al que ha sido sometida y la forma de almacenamiento, la presencia de factores antinutricionales que forman parte del alimento que la contiene<sup>14,15</sup>. También existe factores extrínsecos que afectan tanto a la calidad proteica como al aporte adecuado de proteína, entre ellos podemos citar el estado fisiológico y de salud del individuo y factores económicos, higiénicos y sanitarios, etc.<sup>14</sup>.

Respecto al procesado de los alimentos, hoy en día una práctica de rutina, debemos mencionar que los tratamientos actuales van más encaminados a incrementar el atractivo del alimento más que a mejorar sus propiedades nutricionales. Estos tratamientos afectan a la funcionalidad de la proteína modificando su estado físico, hidrolizándola en pequeños péptidos o modificando los aminoácidos que la componen. En este campo aún queda bastante por investigar ya que la mayoría de los estudios llevados a cabo se han realiza-

**Tabla II**  
*Comparación de la calidad proteica de diferentes proteínas alimentarias determinadas por distintos métodos*

Proteína	Cómputo de aminoácidos	PDCAAS	Digestibilidad (%)	PER	VB
Proteína de buey	0,94	0,92	98	2,90	80
Caseína	1,00	1,00	99	2,50	80
Gluten de trigo	0,45	0,25	91	0,34	54
Huevo	1,21	1,00	98	3,80	88-100
Concentrado de soja	0,99	1,00	95	2,20	74
Suero lácteo	1,14	1,00	99	3,20	100

PDCAAS: cómputo de aminoácidos corregido con la digestibilidad de la proteína; PER: índice de eficiencia proteica; VB: valor biológico.

do sobre las modificaciones de la lisina, no existiendo apenas información acerca de otros aminoácidos<sup>16,17</sup>. Un tema reciente y de gran interés es la formación, por el procesado, de compuestos tóxicos como la formación de acrilamida a partir de los residuos de asparragina tras la reacción de Maillard<sup>14</sup>.

La presencia de factores antinutricionales naturales (inhibidores de la tripsina, taninos, fitatos, glucosinolatos, etc.) o formados en el almacenamiento o procesado de los alimentos (lisinoalanina, D-aminoácidos) pueden afectar la utilización digestiva y metabólica de la proteína y por tanto la biodisponibilidad de los aminoácidos, en algunos casos con reducciones de hasta el 50%<sup>15,18</sup>. Es importante conocer que los efectos adversos sobre la digestibilidad son mucho más marcados en animales maduros que en jóvenes, lo que condicionaría para los ensayos de cómputo de aminoácidos corregido con la digestibilidad de la proteína (PDCAAS), un método para la determinación de la calidad proteica (ver más adelante), e uso no solo de animales en crecimiento sino también maduros<sup>19</sup>.

### Complementación proteica

El concepto de complementación proteica es antiguo y se desarrolló dentro del mundo del vegetarianismo (estrictos y ovolactovegetarianos). Se basa en la existencia de proteínas completas, que contienen todos los aminoácidos indispensables y las incompletas a las que les falta uno o más de estos aminoácidos (aminoácidos limitantes)<sup>20</sup>. Este concepto se utiliza para el diseño de dietas o alimentos en los que se mezclan distintas fuentes proteicas con objeto de mejorar la calidad de la combinación resultante. El punto de partida de la complementación proteica es el conocimiento de la compo-

sición en aminoácidos indispensables y su digestibilidad (ver más adelante).

Los grupos de alimentos cuyas proteínas mayoritarias pueden complementarse por tener perfiles de aminoácidos indispensables complementarios son las proteínas de las legumbres, leche y derivados, semillas y frutos secos y cereales. La mezcla de estas fuentes proteicas puede mejorar notablemente su calidad. Así, se han propuesto que las mezclas más adecuadas son cereales y legumbres, cereales y lácteos y semillas-frutos secos y legumbres, aunque otros cruces también mejoran, aunque en menor medida, la calidad de la mezcla resultante frente a las fuentes individuales por separado. Así, las legumbres tienen como aminoácidos limitantes el triptófano y la metionina, los cereales la lisina, treonina e isoleucina y los frutos secos y otras semillas la lisina e isoleucina. Las mezclas de estos alimentos entre sí y con lácteos producen mezclas con una fuente proteica de mejor calidad (fig. 1).

### Métodos para determinar la calidad proteica

Esta claro que si tenemos en cuenta el concepto de calidad proteica, debemos considerar dos aspectos importantes de la proteína de la dieta que pueden diferir ampliamente, la composición en aminoácidos indispensables (perfil y proporción) y su digestibilidad. También debemos considerar los aspectos relacionados con la retención, y por tanto, con la utilización metabólica de estos aminoácidos.

Existen muchos métodos para evaluar la calidad de una fuente proteica alimentaria que clásicamente se han clasificado en químicos, biológicos y microbiológicos. Entre los químicos se incluyen el cómputo químico, aminograma, índice de aminoácidos esenciales

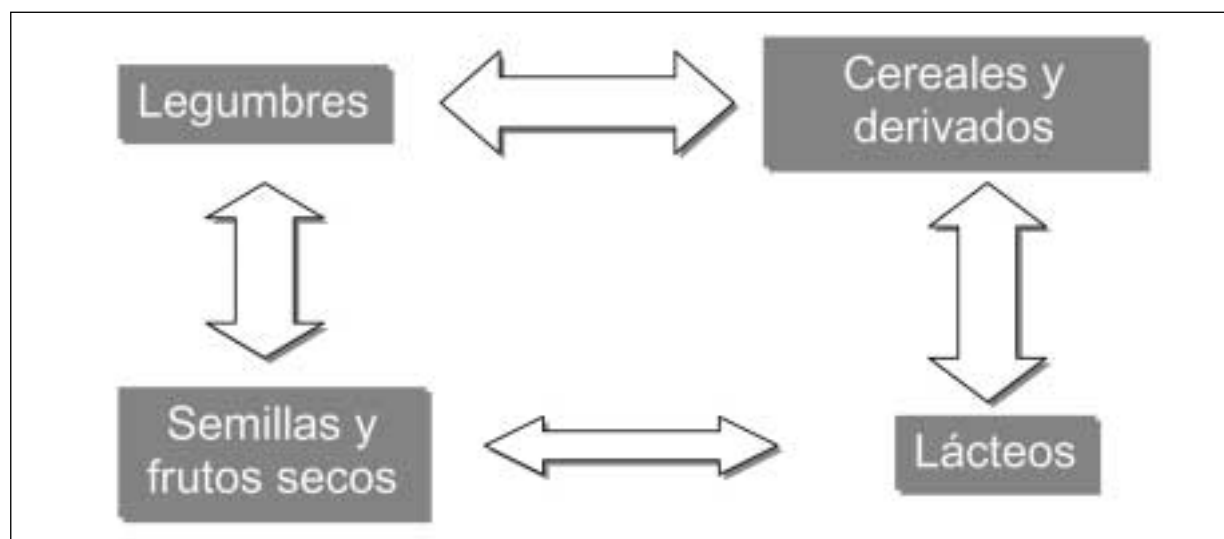


Fig. 1.—Complementación proteica entre diferentes grupos de alimentos. El grosor de las flechas representa la magnitud de la calidad proteica de la mezcla. Ejemplo de complementación proteica entre la proteína de los cereales y lácteos comparada con una proteína de alta calidad (huevo).

(IAAE) y lisina disponible. Dentro de los biológicos se han utilizado y se siguen utilizando el PER (*Protein Efficiency Ratio*), coeficiente de eficacia en crecimiento (CEC), valor sustitutivo de la proteína, Valor Biológico (VB), Utilización Neta de la Proteína (NPU) y Valor Productivo de la Proteína (PPV)<sup>20,21</sup>. Todos los anteriores utilizan animales de laboratorio. En el hombre, el índice biológico que mejor nos informa acerca de la calidad de la proteína es el balance de nitrógeno en voluntarios, sin embargo, la aplicación de este método (en el que se debe calcular la ingesta de nitrógeno y las pérdidas fecales y urinarias) tiene dificultades técnicas y éticas que dificultan en gran medida su aplicación de rutina. Los métodos microbiológicos se basan en la utilización de microorganismos con requerimientos conocidos de aminoácidos, observando el crecimiento u otro parámetro relacionado con la utilización de la proteína problema.

En los últimos años, los métodos más utilizados han sido, dentro de los bioensayos, el PER, VB y NPU. Todos ellos utilizan ratas en crecimiento y evalúan la ganancia de peso por gramo de proteína ingerido, el primero y los dos últimos valoran el nitrógeno retenido frente al absorbido (VB) o al ingerido (NPU) por lo que tienen en cuenta la utilización metabólica y la digestiva y metabólica respectivamente. Las principales críticas a estos métodos están basadas en los diferentes requerimientos en aminoácidos de la rata y el hombre ya que en el hombre predominan los procesos de mantenimiento respecto al crecimiento y por otro lado, los requerimientos de aminoácidos azufrados son mayores en rata para sustentar el crecimiento del pelo<sup>12,13,22</sup>.

Con estos antecedentes, y gracias a los progresos tecnológicos en el análisis de aminoácidos y al mejor conocimiento de los requerimientos de aminoácidos indispensables en humanos<sup>8,9</sup>, la calidad proteica puede evaluarse expresando el contenido del primer aminoácido indispensable limitante de la proteína problema como porcentaje del contenido del mismo aminoácido en el patrón de referencia de aminoácidos indispensables (o frente a una proteína "patrón" o "ideal") (ver tabla de requerimientos de aminoácidos indispensables). Posteriormente, este porcentaje se corrige con el coeficiente de digestibilidad verdadero (CDV) de la proteína problema realizando un bioensayo en ratas. Este método se conoce como Computo de aminoácidos corregido con la digestibilidad de la proteína (PDCAAS)<sup>11</sup>.

PDCAAS (%) = mg/g de proteína del problema del primer aminoácido limitante / mg/g de proteína de referencia del mismo aminoácido x CDV.

Este índice de calidad se basa en dos asunciones, que el aminoácido limitante esencial en una proteína o mezcla proteica es el factor crítico para alcanzar los requerimientos de aminoácidos y que la proteína solo puede cubrir los requerimientos nutricionales cuando se absorbe en el tracto gastrointestinal<sup>11</sup>.

Aunque este método se ha aceptado como el más adecuado para el análisis de rutina de la calidad proteica, presenta algunos aspectos que se han sometido a

crítica de los que podemos destacar la adecuación del perfil de aminoácidos esenciales en las proteínas de referencia, el que el valor máximo se trunque en el 100%, asumir que el CDV de la proteína (o de la fuente proteica) es una medida fiel de la biodisponibilidad de todos y cada uno de los aminoácidos que la componen, el impacto de los factores antinutricionales presentes en la matriz donde se encuentra la proteína a valorar y la eficacia de la suplementación proteica para la mejora de la calidad.

Respecto a la primera, el patrón de referencia que se utiliza es el de requerimientos medios de aminoácidos indispensables por gramo de proteína propuestos por la FAO/WHO/UNU (1985)<sup>9</sup> para preescolares, que debido a que se asume que el componente de mantenimiento, en el hombre, es predominante sobre el crecimiento, se puede pensar que no difiere mucho del de los adultos. No obstante hay pequeñas desviaciones. Por otro lado, el PDCAAS solo tiene en cuenta los aminoácidos indispensables y no considera los condicionalmente indispensables, que pueden, en determinadas circunstancias, contribuir a la calidad proteica.

El hecho de truncar los valores máximos de este índice en el 100% hace que se pierda información acerca del posible valor añadido para proteínas de muy alta calidad con valores de PDCAAS por encima del 100%. El no truncar en ese valor máximo los índices de proteínas de alta calidad es de utilidad para la elección de mezclas adecuadas de proteínas para una óptima complementación proteica<sup>22</sup>.

Otro aspecto a corregir en el cálculo del PDCAAS es el CDV ya que pueden existir diferencias notables entre la digestibilidad de la proteína y de los aminoácidos que la componen<sup>6,7,23</sup>. En este sentido, parece más correcto determinar más que la digestibilidad fecal, la digestibilidad ileal de las proteínas y aminoácidos utilizando como animal experimental el cerdo provisto de una fístula en íleon, por sus similitudes fisiológicas digestivas con el hombre<sup>6,23</sup>. Un paso más, sería el cálculo de la digestibilidad individual de cada aminoácido, en especial cuando la proteína objeto de estudio ha sido sometida a procesos tecnológicos que la modifican disminuyendo la disponibilidad de sus aminoácidos<sup>17</sup>. Este es el caso de la lisina con el calor (reacción de Maillard), el tratamiento con calor en medio alcalino (racemización de L- a D-aminoácidos) o la oxidación de aminoácidos azufrados<sup>16</sup>. También se ha descrito que la velocidad de absorción intestinal de los aminoácidos (rápida o lenta) depende del tipo de proteína ingerida, este hecho puede influir en la síntesis proteica postprandial y en consecuencia sobre la calidad de una proteína<sup>24</sup>.

La matriz en la que se encuentra la proteína que queremos valorar también es importante en la valoración de la calidad de esa proteína. Así, la presencia en el alimento de un alto contenido en fibra o de factores antinutricionales (glucosinolatos, isotiocianatos, inhibidores de la tripsina hemaglutininas, etc.) o su formación durante el procesado o almacenamiento (compuestos

de la reacción de Maillard, lisinoalanina), pueden afectar la digestibilidad real de la proteína. Para evitar estas interferencias se habla de digestibilidad ileal "real", en lugar de verdadera, de los aminoácidos<sup>22</sup>.

Por último, se ha podido demostrar que existe una discrepancia entre el PDCAAS y los bioensayos puros en la valoración de la calidad proteica en experimentos de complementación de proteínas de baja calidad con los aminoácidos limitantes. En estos casos se propone realizar, además del PDCAAS un método biológico para confirmación<sup>6</sup>.

También existen métodos para estimar la biodisponibilidad de forma global, especialmente para proteínas que han sido sometidas a un procesado químico o por calor. Estas aproximaciones tienen en cuenta los tres componentes citados, el de integridad química así como, utilización digestiva y metabólica. El método de uso más frecuente es el ensayo de razón de pendiente (*slope-ratio assay*)<sup>6</sup>. Se lleva a cabo en animales y básicamente consiste en comparar la fuente proteica (de aminoácidos) problema con el aminoácido estándar puro que queremos estudiar. Por ejemplo, para determinar la biodisponibilidad de la lisina en legumbres procesadas, se formula una dieta basal deficiente en el aminoácido a la que se le suplementa con la fuente problema (legumbres) o con lisina pura (100% biodisponible) en cantidades iguales a las que aporta la primera, junto con otros componentes que simulen los aportados por las legumbres. Se controla el crecimiento, la retención de nitrógeno u otro parámetro adecuado para nuestros objetivos. Se comparan las pendientes de las dos respuestas y la biodisponibilidad de la lisina se expresa como la relación entre las dos. Los inconvenientes de este ensayo son la duración, complejidad y costo ya que hay que diseñar dietas y experimentos repetidos para cada aminoácido. Se han propuesto otros ensayos más cortos y baratos que utilizan la oxidación de un aminoácido indicador (fenilalanina) cuando hay otro aminoácido limitante, por ejemplo la lisina. Cuando este último no sea limitante, disminuirá a oxidación del indicador, que se utilizará en la síntesis proteica<sup>25</sup>.

Se está postulando un nuevo concepto en calidad proteica al que se le denomina Índice de efectividad proteica<sup>26</sup>. Este índice aúna todos los aspectos clásicos de calidad proteica, digestibilidad, incluida la velocidad de absorción de aminoácidos, composición en aminoácidos y utilización metabólica, al que se le añade el de bioactividad potencial de la proteína en su conjunto, de distintos péptidos incluidos en ella y liberados durante el proceso de utilización digestiva y/o su posible impacto sobre otros nutrientes.

### Proteínas funcionales y péptidos bioactivos

En los últimos años el interés por el estudio y el desarrollo de alimentos funcionales y nutraceuticos ha experimentado un gran incremento, tanto por su evi-

dente valor terapéutico como por su gran interés para la industria alimentaria, dada la gran repercusión económica que supone la comercialización de este tipo de alimentos y de los productos que los contengan<sup>27,28</sup>. Los alimentos funcionales se definen como los alimentos y componentes alimentarios que, tomados como parte de la dieta, proporcionan beneficios más allá de sus valores nutricionales tradicionales, bien sea mejorando una función del organismo o reduciendo el riesgo de enfermedad, en tanto que los nutraceuticos serían los componentes de los alimentos que aportan un beneficio añadido para la salud de carácter médico, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades.

Las proteínas funcionales y los péptidos bioactivos son proteínas y péptidos que, además de su valor nutricional por ser fuente de aminoácidos, son capaces de ejercer efectos biológicos específicos<sup>29,30</sup>. La mayoría de los péptidos bioactivos son generados espontáneamente durante la digestión *in vivo* a partir de las proteínas que los contienen. De hecho, la existencia de péptidos bioactivos como parte de la secuencia de aminoácidos en proteínas alimentarias se conoce desde hace más de 25 años. No obstante, también se han obtenido nuevos péptidos bioactivos a partir de proteínas alimentarias mediante digestión enzimática *in vitro*, empleando enzimas proteolíticas de origen microbiano<sup>31</sup>. Es más, en estudios recientes se han obtenido péptidos modificados, diseñados a partir de péptidos naturales, con el fin de incrementar la actividad de éstos últimos, es decir, por semisíntesis<sup>32</sup>. Por tanto, toda fuente de proteína alimentaria es en principio susceptible de aportar péptidos funcionales. Así, se han aislado péptidos a partir de hidrolizados enzimáticos de proteínas de muy diversa procedencia, como leche, sardina, maíz, soja, huevo, gelatina, etc.<sup>30</sup>. La literatura científica evidencia que los péptidos bioactivos pueden ejercer su acción tanto a nivel local (tracto gastrointestinal) como sistémico<sup>29,33</sup>, ya que pueden atravesar el epitelio intestinal y llegar a tejidos periféricos a través de la circulación sanguínea<sup>32,33</sup>.

El concepto de funcionalidad de las propias proteínas alimentarias tampoco es un concepto nuevo. De hecho, la existencia de proteínas funcionales en la leche materna se conoce desde hace más de 50 años y hoy en día resulta evidente si se tiene en cuenta que los recién nacidos poseen un sistema digestivo inmaduro y dependen por tanto de distintas proteínas presentes en la leche materna (inmunoglobulinas, enzimas — lisozima y lactoperoxidasa — o proteínas de unión al hierro — lactoferrina y transferrina —) y de las células inmunocompetentes (macrófagos, granulocitos y linfocitos T y B) para combatir infecciones potenciales<sup>34,35</sup>. Por otra parte, la leche aporta una serie de proteínas, denominadas en conjunto factores de crecimiento [factores de crecimiento epidérmico (EGFs), factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) o factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs)], que pueden tener un papel importante en la maduración y la función del sistema intestinal y del sistema inmune del neonato, en función de sus efectos sobre el manteni-

miento, la reparación y la proliferación celular<sup>34-36</sup>. Existen, por último, tanto en la leche materna como en el calostro, hormonas como la hormona del crecimiento (GH), que parece ejercer un importante papel en el desarrollo y función intestinal, y neuropéptidos como la neurotensina, la sustancia P, la somatostatina y el péptido intestinal vasoactivo. Entre éstos, tanto el péptido intestinal vasoactivo como la sustancia P poseen actividades inmunomoduladoras<sup>34-36</sup>.

Por tanto, el concepto realmente novedoso desde el punto de vista de la nutrición es la utilización de las proteínas y los péptidos procedentes de alimentos con el fin de mejorar una función biológica o de tratar, de prevenir o de reducir el riesgo de enfermedad. Así, varios péptidos y proteínas han sido propuestos para el tratamiento de enfermedades dentales, de la malabsorción de minerales, de la diarrea, de la hipertensión, de la trombosis, o de inmunodeficiencias<sup>29-33</sup>. Con el propósito de ilustrar este punto, cabría destacar por ejemplo que ya existe en el mercado una fórmula de nutrición enteral que contiene TGF- $\beta$  [Modulen IBD (Nestlé, Vevey, Suiza)], la cual ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la enfermedad de Crohn, induciendo la remisión clínica y la curación de la mucosa como resultado de su efecto antiinflamatorio<sup>37,38</sup>.

La leche, el huevo y la soja son las fuentes de proteínas funcionales y péptidos bioactivos más estudiadas hasta la fecha. A continuación describiremos los principales péptidos y proteínas funcionales procedentes de estos alimentos y las actividades que hasta la fecha les han sido atribuidas.

### **Proteínas y péptidos bioactivos con actividad inmunomoduladora, antimicrobiana y antiviral**

*Lactosuero.* El suero lácteo tiene actividad antioxidante e inmunomoduladora<sup>39</sup>. La hipótesis más aceptada en cuanto a su mecanismo de acción relaciona estas actividades con su alto contenido en proteínas ricas en cisteína, que contribuyen a la síntesis de glutatión, un potente antioxidante intracelular, y por tanto incrementan su concentración. El glutatión es, además, necesario para la actividad y proliferación de células del sistema inmune, concretamente de linfocitos y particularmente de las células T.

Varios estudios clínicos han mostrado que la combinación de la administración de concentrados de proteínas de lactosuero con tratamientos convencionales podría ser útil en el tratamiento del SIDA, la hepatitis B y la hepatitis C<sup>39</sup>. En concordancia con lo anteriormente expuesto, se ha observado que la administración de este tipo de concentrados a pacientes con SIDA puede contrarrestar la deficiencia en glutatión común en estos pacientes<sup>40-42</sup>. No obstante, en los estudios clínicos referidos se han obtenido resultados variables que ponen de manifiesto la necesidad de definir las cantidades de lactosuero, la duración de los tratamientos y el tipo de concentrados a utilizar.

*Inmunoglobulinas.* La leche contiene inmunoglobulinas (IgG1, IgG2, IgA e IgM) que resisten a la digestión gástrica y ejercen un papel protector en el intestino<sup>34</sup>. De hecho, son capaces de prevenir la adherencia de bacterias patógenas a células epiteliales, de aglutinar bacterias, de neutralizar toxinas y de inactivar virus. Entre estas inmunoglobulinas la IgA, presente en la leche y el calostro, es especialmente importante en neonatos, ya que proporciona una inmunidad pasiva hasta que su barrera intestinal llega a ser funcionalmente madura. Por otra parte, se ha demostrado que la IgM es más eficiente que otras inmunoglobulinas en la neutralización de virus o en la aglutinación de bacterias, y que defiende frente a patógenos Gram-negativos como *Escherichia coli* y *Salmonella*.

Es interesante destacar que actualmente se están desarrollando productos lácteos con un alto contenido en anticuerpos frente a un patógeno concreto con el fin de tratar patologías digestivas. Estos productos se obtienen tras la inmunización de vacas gestantes frente a microorganismos causantes de la patología digestiva a tratar. Como ejemplo cabría citar un producto denominado CeDiff (Novatreat Ltd., Turku, Finlandia), que contiene una alta concentración de inmunoglobulinas frente a *Clostridium difficile*, cuyos estudios clínicos para tratar la diarrea se encuentran en fase II (<http://www.novatreat.fi>).

*Transferrinas.* La lactoferrina o lactotransferrina y la ovotransferrina son proteínas de la familia de las transferrinas que se encuentran presentes en la leche y el huevo, respectivamente. Este tipo de proteínas se encuentra en varios fluidos biológicos y posee la capacidad de unirse a hierro de forma reversible.

Ambas transferrinas poseen actividad antibacteriana frente a gran variedad de microorganismos, que puede ser ejercida al menos mediante tres mecanismos distintos<sup>43-45</sup>: 1) secuestrando el hierro e impidiendo su utilización por las bacterias; 2) produciendo alteraciones en la pared, y 3) mediante la estimulación de la fagocitosis por macrófagos y monocitos. También se ha descrito que la lactoferrina es capaz de degradar e inactivar proteínas de bacterias enteropatógenas, necesarias para la colonización.

La actividad antibacteriana de la lactoferrina bovina ha sido estudiada en varios estudios realizados con individuos infectados por *Helicobacter pylori*. En general estos estudios han demostrado que la administración de antibióticos en conjunción con lactoferrina es más efectiva que la administración únicamente de antibióticos<sup>46</sup>.

En cuanto a su actividad antiviral, la lactoferrina inhibe la replicación de virus como el de la inmunodeficiencia humana (HIV), el virus de la leucemia de células T tipo I, el citomegalovirus, el virus de la hepatitis C o el herpes simplex tipo I. De hecho, varios estudios clínicos en enfermos de hepatitis C han demostrado que la administración de lactoferrina disminuye el RNA sérico del virus y los niveles de alanin-transaminasa<sup>47,48</sup>.

La ovotransferrina también posee actividad antiviral que ha sido demostrada frente al virus de la enfermedad de Marek<sup>49</sup>.

Estudios en modelos animales y celulares sugieren que la lactoferrina posee actividad inmunomoduladora<sup>50</sup>. Estos estudios indican que podría actuar mediante dos mecanismos de acción, el primero de los cuales implicaría la inhibición de la producción de varias citocinas como el TNF- $\alpha$  o la interleukina (IL) 1 $\beta$ . La existencia de receptores de lactoferrina en monocitos, linfocitos, macrófagos, neutrófilos y células epiteliales sugiere que la lactoferrina podría tener un efecto directo en la regulación de la producción de citoquinas mediante la regulación de vías de señalización mediadas por estos receptores. El segundo mecanismo de acción podría estar relacionado con la inhibición de la estimulación de la inmunidad innata mediante la unión al lípido A del lipopolisacárido bacteriano, así como a oligonucleótidos que contienen CpG no metilados, inhibiendo así la estimulación de receptores Toll de macrófagos.

En concordancia con su actividad inmunomoduladora, se ha descrito que la lactoferrina es capaz de inhibir las respuestas inflamatorias locales en la inflamación cutánea en humanos<sup>51</sup>, así como en modelos animales de inflamación cutánea mediada por alérgenos y de inflamación intestinal<sup>52-54</sup>.

Actualmente existen vacas transgénicas que expresan el gen de la lactoferrina humana y producen por tanto lactoferrina humana en la leche<sup>55</sup>. Las capacidades antimicrobiana, antiviral o inmunomoduladora no son exclusivas de la lactoferrina o de la ovotransferrina como tales, sino que hay péptidos resultantes de su digestión, como la lactoferricina (LFCina)<sup>41,54</sup> o el denominado péptido de ovotransferrina A de 92-aminoácidos (OTAP-92), que conservan esta actividad<sup>45,57</sup>.

La LFCina es un péptido correspondiente al extremo amino-terminal de la lactoferrina, cuya actividad bactericida es más potente que la de la propia lactoferrina<sup>44,56</sup>. Se ha demostrado que este péptido posee también actividad antiviral e inmunomoduladora. De hecho, además de actuar mediante los mecanismos de inmunomodulación descritos para la lactoferrina, la LFCina puede inhibir la acción de citocinas ya liberadas, como la IL-6. Además, posee capacidad de unirse al DNA y puede entrar en la célula, atravesar la membrana nuclear y actuar como un factor de transcripción. Por último, la lactoferricina posee la capacidad de potenciar el efecto de antivirales y antibacterianos<sup>56</sup>.

**Lisozima.** La lisozima (N-acetilmuramida glucanohidrolasa) es una proteína que inactiva gran cantidad de microorganismos al unirse a la pared bacteriana y romper el enlace  $\beta$ -1,4 entre el ácido N-acetilmurámico y la N-acetilglucosamina. Estudios recientes han demostrado que la lisozima posee actividad antibacteriana independiente de sus funciones catalíticas y que puede estimular la función fagocítica de los macrófagos<sup>45</sup>. Tanto el huevo como la leche contienen lisozima, aunque las cantidades en leche bovina son mucho menores que en la leche humana, por lo que en general

la fuente principal de lisozima comercial es el huevo<sup>45</sup>. Se ha demostrado que la administración de EDTA-tris-lisozima es efectiva en el tratamiento de infecciones de vejiga en humanos producidas por coliformes. Además, por sus propiedades antibacterianas la lisozima se ha utilizado en la elaboración de pastas de dientes, chicles y colutorios destinados a prevenir la periodontitis y las infecciones de la mucosa oral<sup>45</sup>.

La hidrólisis enzimática de la lisozima de huevo incrementa su actividad antibacteriana. Los péptidos responsables de este incremento han sido aislados y corresponden a los fragmentos que comprenden los aminoácidos 98 a 108 y 15 a 21<sup>45</sup>.

La lisozima puede desempeñar funciones inmunoregulatoras. De hecho, cuando se combina con inmunoterapia mejora la sinusitis crónica y normaliza la respuesta humoral y celular en pacientes con bronquitis crónica<sup>58,59</sup>. Además mejora la respuesta inmune en pacientes cancerosos inmunodeprimidos<sup>59</sup>. Se ha sugerido que la inmunomodulación producida por la lisozima puede ser resultado de la estimulación de la función fagocítica y de la hidrólisis de productos de peptidoglicano que pueden actuar como adyuvantes o inmunomoduladores<sup>60</sup>.

**Proteínas de soja.** Entre las proteínas de la soja se encuentran inhibidores de proteasas que pueden suponer hasta un 6% del total de las proteínas. Entre estos inhibidores el más estudiado es el inhibidor Bowman-Birk que es un inhibidor de serín-proteasas. En un estudio a doble ciego se ha descrito que el inhibidor Bowman-Birk produce la regresión de la enfermedad en pacientes que padecen colitis ulcerosa<sup>61</sup>. Además existen patentes destinadas al tratamiento de enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple o la artritis reumatoide con este inhibidor.

**Glicomacropéptido.** Entre los péptidos derivados de las proteínas de lactosuero cabría destacar el caseinmacropéptido o glicomacropéptido (GMP), un péptido muy glicosilado derivado de la digestión de la K-caseína. Recientemente se ha demostrado que previene la adhesión de bacterias a las células intestinales y que presenta actividad antiinflamatoria en el modelo en ratas de inflamación intestinal inducida por TNBS<sup>62</sup>.

En la actualidad el GMP se añade a pastas dentrificas junto a otros péptidos derivados de las caseínas, denominados caseínfosfopéptidos (CPP), por su demostrada capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias cariogénicas. Además, el GMP y los CPP inhiben la desmineralización y favorecen la remineralización del esmalte dental al formar en la superficie del diente nanoagregados con fosfato cálcico amorfo que constituyen un reservorio útil en el mantenimiento del estado de supersaturación de iones del esmalte dental<sup>63</sup>.

### **Proteína y péptidos bioactivos con actividad anticancerosa**

**Lactosuero.** Se ha demostrado en modelos animales e *in vitro* que el conjunto de las proteínas del suero lácteo



posee actividad anticancerosa. El mecanismo de acción parece estar relacionado, como se ha comentado anteriormente, con el incremento en la síntesis de glutatión, con la consiguiente estimulación de la inmunidad y la actividad antioxidante<sup>39,64</sup>. Además, el glutatión es sustrato de dos clases de enzimas: la glutatión peroxidasa dependiente de selenio y la familia de las glutatión transferasas. Ambas favorecen la eliminación de compuestos, incluidos mutágenos y carcinógenos, que pueden favorecer la aparición del cáncer<sup>39</sup>. También se ha especulado con que sea la capacidad del suero lácteo de unirse al hierro la responsable, al menos en parte, de su potencial anticancerígeno, ya que el hierro puede actuar como un agente mutagénico causando daño oxidativo en los tejidos. La inducción de la producción de somatostatina, un conocido agente antiproliferativo en cáncer de colon, se ha relacionado también con la actividad anticancerosa de las proteínas de lactosuero<sup>65</sup>. No obstante, existen muy pocos estudios clínicos en humanos que corroboren los resultados obtenidos *in vitro* o en modelos animales, y en éstos se han obtenidos resultados no demasiado claros, por lo que sería necesario la realización de estudios adicionales.

**Lactoferrina.** La actividad anticancerosa de la lactoferrina humana ha sido ampliamente estudiada y de hecho existe al menos un estudio clínico en fase I en el que se administró lactoferrina a enfermos con tumores sólidos refractarios, demostrando que no es tóxica y es bien tolerada en dosis de 1,5 a 9 g/día<sup>66</sup>.

En modelos animales e *in vitro* se ha comprobado que la lactoferrina bovina posee actividad anticancerosa, inhibiendo tanto el crecimiento de tumores como la formación de metástasis. Así, se ha demostrado que inhibe la carcinogénesis en colon, esófago, pulmón y vejiga cuando se administra a ratas por vía oral en el estado postinicial<sup>67,68</sup>. En cuanto a su mecanismo de acción, se ha descrito que en el intestino la lactoferrina bovina potencia la respuesta inmune, induciendo la actividad caspasa-1 con la consiguiente producción de IL-18 madura, lo que se traduce en la potenciación de la actividad antitumoral de células T y NK. Por su parte, estas células pueden producir IFN- $\gamma$  que, junto con la IL-18, puede inhibir la angiogénesis. Aunque no se conoce la vía por la que la lactoferrina produce la activación de la caspasa-1 y de la IL-18, es posible que ésta se produzca mediante la activación de receptores específicos de células epiteliales e inmunes del intestino. En este sentido, se ha descrito que la lactoferrina puede inducir la apoptosis selectiva de las células cancerosas mediante su unión a estos receptores específicos.

La Lfcina, al igual que la lactoferrina, posee actividad antitumoral, siendo capaz de inhibir la formación de metástasis y de inducir la apoptosis selectiva de células cancerosas<sup>66</sup>. Así, la Lfcina activa la vía mitocondrial de apoptosis mediante mecanismos relacionados al menos en parte con la generación de especies reactivas del oxígeno<sup>69,70</sup>.

**Proteínas de soja.** Se ha demostrado que el inhibidor de Bowman-Birk es un potente anticancerígeno y

como consecuencia, ya se han llevado a cabo varios estudios con el inhibidor purificado y con concentrados<sup>71-75</sup>. Concretamente, se han completado estudios de fase I y fase II en los que se ha utilizado este inhibidor de proteasas en el tratamiento de pacientes con leucoplasia oral<sup>73,74</sup>. Los estudios de fase I demostraron que el inhibidor no es tóxico, mientras que los de fase II han demostrado que es útil en el tratamiento de estos pacientes, observándose una reducción de las lesiones orales dependiente de la dosis. Por otra parte, un estudio aleatorio a doble ciego ha demostrado que este inhibidor de proteasas puede ser útil también en el tratamiento de pacientes con hiperplasia de próstata, mostrando los pacientes tratados disminuciones significativas en los niveles séricos del antígeno específico prostático (PSA)<sup>75</sup>.

Además de sus efectos anticancerígenos, el inhibidor de Bowman-Birk ha demostrado ser útil en la prevención de ciertos tipos de cánceres y en la protección frente a radiaciones durante la radioterapia utilizada en el tratamiento del cáncer<sup>71,76</sup>.

El mecanismo de acción del inhibidor de Bowman-Birk en la prevención del cáncer no está claro. Una posibilidad sería que actuase inhibiendo la acción de proteasas y por tanto la digestión de proteínas hasta aminoácidos. De este modo los aminoácidos esenciales estarían menos disponibles para su utilización por células cancerosas<sup>71</sup>. Por otra parte, sería posible que actuase como una fibra dietaria insoluble absorbiendo agentes cancerígenos a su paso por el intestino o que junto con las proteasas formase un complejo que actúe atrapando radicales libres<sup>71</sup>. Por último, Las células cancerosas son capaces de invadir tejidos normales mediante la acción de proteasas. En general, las células malignas poseen una actividad proteolítica elevada en comparación con células normales, y el suero de pacientes oncológicos muestra niveles anormales de ciertos inhibidores de proteasas<sup>71</sup>. Una teoría interesante sería que ciertos inhibidores de proteasas deben su actividad anticarcinogénica a su capacidad de inhibir las proteasas producidas por células malignas.

**Lisozima.** La lisozima ha sido ampliamente estudiada como agente anticanceroso y se ha demostrado que inhibe la formación y el crecimiento de tumores tanto *in vitro* como *in vivo* cuando se administra por vía oral<sup>45</sup>. Además, se ha descrito que potencia la eficacia de tratamientos de quimioterapia y que posee un efecto preventivo cuando se administra a ratones<sup>45</sup>.

### **Proteínas y péptidos bioactivos con actividad sobre el sistema cardiovascular**

**Proteínas de soja.** La Administración para Drogas y Alimentos (*Food and Drug Administration*, FDA) de los Estados Unidos aprobó recientemente un documento relacionando el consumo de proteína de soja con la reducción del riesgo de padecer enfermedades cardíacas<sup>77</sup>. De hecho, la FDA recomienda actualmente el

consumo de 25 g/día de proteína de soja como parte de una dieta baja en grasas saturadas para la reducción del colesterol. Se estima que el consumo de esta cantidad de soja puede producir una disminución de hasta un 8% del colesterol LDL en pacientes que tienen altos niveles de colesterol, mientras que no tiene efectos adversos en personas con niveles normales de colesterol. Asociaciones como la Asociación Americana del Corazón (*American Heart Association*, AHA) han reconocido también el efecto de la soja en la prevención de la enfermedad cardíaca<sup>78</sup>.

Las proteínas de origen vegetal muestran frecuentemente efectos hipocolesterolemiantes en comparación con las proteínas animales. La soja es una de las fuentes proteicas vegetales con un efecto más claro en este sentido. Es más, su efecto se produce sólo sobre el colesterol LDL y no sobre el HDL, por lo que se produce un incremento relativo del colesterol HDL ("colesterol bueno"). Además, la soja disminuye la oxidación de las LDL, mejora la reactividad vascular y disminuye los niveles de triglicéridos<sup>79</sup>. En algunos trabajos se ha atribuido al menos parte del efecto hipocolesterolemiante a dos proteínas, denominadas globulinas 11S y 7S, presentes en los preparados de proteínas de soja<sup>80</sup>. No obstante, gran cantidad de estudios demuestran que las isoflavonas presentes en los preparados de proteínas de soja (genisteína, daizeína y gliciteína) son las principales responsables del efecto de los preparados de soja sobre el colesterol<sup>81</sup>.

A pesar de lo anteriormente mencionado, un trabajo reciente en el que se revisa los estudios recogidos en la bibliografía sobre el efecto de las proteínas de soja en los niveles séricos de colesterol indica que los resultados obtenidos hasta la fecha no son tan claros como generalmente se piensa, ya que demuestran que los niveles de colesterol sólo disminuyen apreciablemente en pacientes hipercolesterolémicos y que los beneficios se obtendrían solamente en caso de consumir grandes cantidades de soja<sup>81</sup>.

*Péptidos con efectos sobre el sistema cardiovascular.* Los principales efectos de los péptidos descritos sobre el sistema cardiovascular están relacionados con la actividad antihipertensiva y antitrombótica. Los primeros inhiben la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Se han descrito péptidos antihipertensivos derivados tanto de las caseínas (casoquininas) como de las proteínas del suero lácteo (lactokininas)<sup>82</sup>. En la tabla III se recogen algunos de los péptidos con actividad antihipertensiva en modelos de ratas hipertensas y en humanos, así como las proteínas de las cuales derivan.

Distintos estudios han puesto de manifiesto que la administración de hidrolizados de proteínas lácteas o de productos lácteos fermentados que contienen péptidos inhibidores de la ECA pueden disminuir la presión arterial en humanos. Actualmente, con el fin de disminuir la presión arterial, se comercializan alimentos y productos destinados a ser suplementos de la dieta que contienen los llamados Lactotripéptide<sup>TM</sup> o AmealPep-

tide (Calpis Co., Ltd., Tokyo, Japón), una mezcla de los tripéptidos VPP e IPP procedentes de las caseínas de la leche.

El efecto antitrombótico de otra serie de péptidos procedentes, entre otras proteínas, de la k-caseína y concretamente del caseinmacropéptido, parece venir dado por su similitud estructural con la cadena  $\gamma$  del fibrinógeno, de forma que entran en competencia con los receptores de los trombocitos, inhibiendo la agregación plaquetaria<sup>29,31,83</sup>. En la tabla III se recogen los principales péptidos con actividad antitrombótica derivados de proteínas de la leche.

### **Proteínas y péptidos bioactivos con actividad sobre el sistema digestivo**

*Lactoferrina.* La lactoferrina tiene efectos reguladores del crecimiento celular gracias a su capacidad de unión a gran variedad de células a través de su receptor específico<sup>84,85</sup>. De hecho, se ha demostrado que puede estimular el crecimiento celular en el intestino, además de mejorar la función digestiva e inducir el crecimiento de la microbiota no patógena<sup>35,84,85</sup>. Por otra parte, se ha observado que actúa como factor de crecimiento esencial para líneas celulares de linfocitos<sup>84</sup>.

*Péptidos con efectos sobre el sistema digestivo. Péptidos opioides.* Se ha aislado una serie de péptidos procedentes del gluten y de las  $\alpha$ - y  $\beta$ -caseínas que muestran actividad opiácea y se denominan exorfinas<sup>32,83</sup>. Estos péptidos actúan, mediante unión a receptores, como moduladores exógenos de la motilidad intestinal, de la permeabilidad epitelial y de la liberación de hormonas intestinales. En concreto las  $\beta$ -casomorfina son capaces de incrementar la absorción de agua y de electrolitos y de reducir la motilidad intestinal. Se cree que estas casomorfina podrían ejercer su efecto a nivel local sin necesidad de ser absorbidas, por lo que actualmente existe gran interés por su posible papel beneficioso en el tratamiento de la diarrea y de otros trastornos gastrointestinales. Las casomorfina también pueden afectar a la absorción de nutrientes y al metabolismo postprandial, estimulando la secreción de insulina y de somatostatina. Otros efectos que se les han atribuido incluyen depresión de la respiración, hipotensión, supresión de la secreción gástrica y efectos sobre la termorregulación y la sensación de hambre). En la tabla III se recogen los principales péptidos con actividad opioide.

También se ha descrito la existencia en la leche de péptidos con actividad antagonista opioide como las casoxinas y lactoferroxinas, que según parece podrían antagonizar el efecto de inhibición de la motilidad gástrica producido por las casomorfina. Ahora bien, en la leche parece dominar la actividad agonista<sup>83</sup>.

Otros péptidos con acción sobre el sistema gastrointestinal son los denominados caseinmacropéptidos, relacionados con la secreción de la hormona colecistoquinina, reguladora de la secreción pancreática y del vaciado gástrico.

**Tabla III**  
*Principales péptidos derivados de la leche con actividad antihipertensiva, antitrombótica y opioide*

<i>Secuencia</i>	<i>Nombre</i>	<i>Origen</i>	<i>Actividad</i>
Phe-Phe-Val-Ala-Pro	$\alpha_1$ -casokina-5	$\alpha_1$ -caseína	Inhibición de la ECA
Ala-Val-Pro-Tyr- Gln-Arg	$\beta$ -casokina-7	$\beta$ -caseína	Inhibición de la ECA
Tyr-Gly-Leu-Phe	$\alpha$ -lactorfina	$\alpha$ -lactoalbumina	Inhibición de la ECA
Ala-Leu-Phe-Met-His-Ile-Arg	$\beta$ -lactorfina	$\beta$ -lactoglobulina	Inhibición de la ECA
Met-Ala-Ile-Pro-Por-Lis-Lis-Asn-Gln-Asp-Lys	Casoplatelina	k-caseína (glicomacropéptido)	Antitrombótica
Lys-Asp-Gln-Asp-Lyis	Péptido inhibidor de trombina	k-caseína (glicomacropéptido)	Antitrombótica
Lis-Arg-Asp-Ser-Glu-Arg-lys-Arg-Asp-Ser	Péptido inhibidor de trombina	Lactoferrina	Antitrombótica
Arg-Tyr-Leu-Gl-Tyr-Leu-Glu	$\alpha_1$ -caseína exorfina	$\alpha_1$ -caseína	Agonista opioide
Tyr-Leu-Leul-Phe-NH <sub>2</sub>	$\beta$ -lactorfina (amida)	$\beta$ -lactoglobulina	Agonista opioide
Tyr-Ile-Pro-Gln-Tyr-Val-Leu-Ser-Arg	Casoxina C	k-caseína	Antagonista opioide
Tyr-Val-Pro-Tyr-Pro-Pro-Phe	Casoxina D	$\alpha_1$ -caseína	Antagonista opioide
Tyr-Leu-Gly-Ser-Gly-Tyr-OCH <sub>3</sub>	Lactoferroxina A	lactoferrina	Antagonista opioide

Adaptada de la revisión realizada por Clare y Swaisgood<sup>97</sup>. ECA: Enzima convertidora de angiotensina.

**Factores de crecimiento.** Se han llevado cabo numerosos estudios (prácticamente todos ellos en modelos celulares y animales) para evidenciar el efecto beneficioso de los factores de crecimiento en el desarrollo y estado inmunitario del recién nacidos<sup>84-86</sup> y de pacientes con enfermedades intestinales. El interés por estos factores de crecimiento, en el caso de los recién nacidos, viene dado por su ausencia casi general en los preparados para lactantes, sobre todo si éstos están elaborados a base de hidrolizados enzimáticos de proteínas. Entre los factores de crecimiento podemos destacar los siguientes.

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factores de crecimiento relacionados. Los miembros de la familia de factores de crecimiento relacionados con el EGF comparten una secuencia común de aminoácidos y se unen a un mismo receptor de membrana situado en el intestino en la membrana basolateral del enterocito. Se han identificado seis miembros de esta familia: el propio EGF, el factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), el factor de unión a heparina análogo a EGF, la anfirregulina, la epirregulina y la  $\beta$ -celulina.

El EGF es un factor de crecimiento que se produce normalmente en el organismo y está presente en la leche de distintas especies. Puesto que sus receptores se encuentran en la membrana basolateral y no en la luminal del enterocito, se cree que puede actuar como péptido "vigía" implicado en la reparación de la mucosa, dado que únicamente puede acceder a su receptor cuando ésta está dañada. Mientras que la eliminación del receptor de EGF en ratones produce la aparición de úlceras, la eliminación de las glándulas salivales (las principales productoras de EGF) tienen grandes efectos negativos en la curación de úlceras gástricas. Es interesante indicar que existe un tipo de células gástricas que secreta EGF cuyo desarrollo se favorece después de producirse una úlcera. Estas células forman glándulas en los márgenes de las úlceras que son las

zonas de reparación. Diversos estudios clínicos han demostrado que el EGF desempeña un papel importante en la reparación de úlceras gástricas<sup>87,88</sup>. Incluso se ha adicionado EGF a pomadas destinadas al tratamiento de úlceras de los pies de diabéticos comprobando que favorecen su curación<sup>89</sup>.

Clásicamente se ha atribuido al EGF un papel importante en la maduración y el crecimiento del intestino de neonatos, principalmente de prematuros. Varios hechos avalan esta hipótesis. Así, se ha observado que el EGF se encuentra en mayor concentración en el calostro de madres pretérmino que en la de madres a término<sup>90</sup>. Además, como se ha indicado anteriormente, la eliminación del gen del receptor del EGF provoca la aparición de úlceras, lo que indica que éste podría participar en la regulación del desarrollo intestinal. Por último, la ingesta de EGF produce un aumento de síntesis de DNA, transcripción de RNA y como consecuencia, un aumento de la síntesis proteica, así como una estimulación del transporte de glucosa, agua y electrolitos, y podría tener efectos preventivos en el fenómeno de la translocación bacteriana. Por último destacar que se ha atribuido un papel protector al EGF en la enterocolitis necrotizante<sup>91</sup>.

El TGF- $\alpha$ , por su parte, se expresa a lo largo de todo el tracto intestinal, siendo también uno de los principales ligandos del receptor de EGF en el intestino<sup>92</sup>. Su papel estaría relacionado con el funcionamiento normal del intestino, promoviendo la proliferación y la migración de las células epiteliales. Por otra parte, al igual que el EGF, el TGF- $\alpha$  promueve la reparación de úlceras en el tracto gastrointestinal<sup>92</sup>. Además el TGF- $\alpha$  parece estar relacionado con curación de la mucosa en la enfermedad inflamatoria intestinal<sup>93</sup>.

El factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) parece llevar a cabo funciones múltiples relacionadas con numerosos procesos como el desarrollo, diferenciación y reparación del epitelio intestinal, la carcino-

génesis y la regulación de la respuesta inmune. Es interesante resaltar que los estudios llevados a cabo hasta la fecha indican que este factor de crecimiento inhibe la proliferación e induce la diferenciación de las células intestinales en cultivo<sup>94</sup>.

Como molécula inmunorreguladora que es, el TGF- $\beta$  tiene un efecto crucial en dos procesos esenciales del sistema inmune de la mucosa intestinal: la producción de IgA y la inducción de la tolerancia oral. Además, su deficiencia ha sido relacionada con enfermedades como la enfermedad inflamatoria intestinal<sup>95</sup> o el síndrome de enterocolitis inducida por proteínas alimentarias<sup>96</sup>. De hecho, y como hemos comentado anteriormente, la administración de una dieta enriquecida en TGF- $\beta$  favorece el crecimiento en pacientes con enfermedad de Crohn, que generalmente padecen retraso del crecimiento en la infancia y la adolescencia, y es beneficiosa en la remisión de la enfermedad de Crohn y en la curación de las lesiones en pacientes adolescentes<sup>37,38</sup>.

Los factores de crecimiento insulínicos tipo I y II (IGF-I, IGF-II), parecen promover la proliferación y diferenciación celular. Estudios en distintos modelos animales han demostrado que el IGF-I puede acelerar la curación del intestino en distintas patologías incluyendo la enfermedad inflamatoria intestinal, la enteritis por radiación o la mucositis inducida por quimioterapia. Como consecuencia se han desarrollado fórmulas derivadas tanto de calostro como de leche que contienen IGF-I con el fin de tratar estas enfermedades<sup>97,98</sup>.

### **Péptidos bioactivos con actividad sobre la absorción de minerales**

Del calcio que proporciona la leche, más del 85% se encuentra disponible para su absorción. Este porcentaje es considerablemente mayor que el calcio disponible en otros alimentos, como los vegetales. Las caseínas proporcionan fosfopéptidos, denominados caseínofosfopéptidos, que previenen la precipitación del fosfato cálcico en la luz intestinal durante la digestión, compitiendo con el calcio por los iones fosfato<sup>29,31,84</sup>. De esta forma incrementan potencialmente la biodisponibilidad del aquél. Además, los caseínofosfopéptidos tienen la capacidad de quelar grandes cantidades de iones polivalentes sin alterar su solubilidad.

Financiación: Este artículo ha sido financiado en parte por EuroFIR, Red de excelencia Europea del Sexto Programa Marco de la Unión Europea y por el proyecto PI051651 del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III.

### **Referencias**

1. Gil A (ed.): Tratado de nutrición. Tomo I. Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición. Acción Médica. Madrid, 2005.
2. Millward DJ, Jackson AA: Protein/energy ratios of current diets in developed and developing countries compared with a

- safe protein/energy ratio: implications for recommended protein and amino acid intakes. *Public Health Nutrition* 2003; 7:387-405.
3. Millward DJ: Macronutrient Intakes as Determinants of Dietary Protein and Amino Acid Adequacy. *J Nutr* 2004; 134:1588S-1596S.
4. Reeds PJ: Dispensable and Indispensable Amino Acids for Humans. *J Nutr* 2000; 130:1835S-1840S.
5. Reeds PJ, Garlick PJ: Protein and Amino Acid Requirements and the Composition of Complementary Foods. *J Nutr* 2003; 133:2953S-2961S.
6. Malcolm F, Fuller MF, Tomé D: *In vivo* Determination of Amino Acid Bioavailability in Humans and Model Animals. *J AOAC Int* 2005; 88:923-934.
7. Darragh AJ, Hodgkinson SM: Quantifying the Digestibility of Dietary Protein. *J Nutr* 2000; 130:1850S-1856S.
8. FAO/WHO Expert Consultation. Protein Quality Evaluation. Food and Agricultural Organization of the United Nations, FAO Food and Nutrition Paper 51. 1990. Rome.
9. FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Energy and Protein Requirements. Technical Report Series 724. World Health Organization. 1985. Geneva.
10. Young VR, Borgonha S: Nitrogen and Amino Acid Requirements: the Massachusetts Institute of Technology Amino Acid Requirement Pattern. *J Nutr* 130:1841S-1849S.
11. Schaafsma G: The Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score. *J Nutr* 2000; 130:1865S-1867S.
12. Mughan PJ: Dietary Protein Quality in Humans-An Overview. *J AOAC Int* 2005; 88:874-876.
13. Bos C, Gaudichon C, Tomé D: Nutritional and Physiological Criteria in the Assessment of Milk Protein Quality for Humans. *Journal of the American College of Nutrition* 2000; 19:191S-205S.
14. Meade SJ, Reid EA, Gerrard JA: The Impact of Processing on the Nutritional Quality of Food Proteins. *J AOAC Int* 2005; 88:904-922.
15. Gilani GS, Cockell KA, Sepehr E: Effects of Antinutritional Factors on Protein Digestibility and Amino Acid Availability in Foods. *J AOAC Int* 2005; 88:967-987.
16. Moughan PJ: Absorption of Chemically Unmodified Lysine from Proteins in Foods That Have Sustained Damage During Processing or Storage. *J AOAC Int* 2005; 88:949-954.
17. Finot PA: The Absorption and Metabolism of Modified Amino Acids in Processed Foods. *J AOAC Int* 2005; 88:894-903.
18. Sarwar G: The Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score Method Overestimates Quality of Proteins Containing Antinutritional Factors and of Poorly Digestible Proteins Supplemented with Limiting Amino Acids in Rats. *J Nutr* 1997; 127:758-764.
19. Gilani GS, Sepehr E: Protein Digestibility and Quality in Products Containing Antinutritional Factors Are Adversely Affected by Old Age in Rats. *J Nutr* 2003; 133:220-225.
20. Sánchez A, Scharffenberg JA, Register UD: Nutritive value of selected proteins and protein combinations. II Biological value predictability. *Am J Clin Nutr* 1963; 13:250-253.
21. Schaafsma G: Nutritional appreciation of proteins. TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, The Netherlands. 1994; 94:135.
22. Schaafsma G: The Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) -A Concept for Describing Protein Quality in Foods and Food Ingredients: a Critical Review. *J AOAC Int* 2005; 88:988-994.
23. Savoie L, Agudelo RA, Gauthier SF, Marin J, Pouliot Y: *In vitro* Determination of the Release Kinetics of Peptides and Free Amino Acids During the Digestion of Food Proteins. *J AOAC Int* 2005; 88:935-948.
24. Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL, Beaufrere B: Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:14930-14935.
25. Ball RO, Moehn S, Bertolo RFP: Next Generation Diet Formulation: true Metabolic Availability of Amino Acids in Diets for Pigs. *Advances in Pork Production* 2004; 15:13.

26. Alison Darragh: Protein Effectiveness Index: a new method for expressing the value of dietary protein? 4<sup>th</sup> International Whey Conference. 2005. Chicago.
27. Burdock GA, Carabin IG, Griffiths JC: European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: a framework based on safety. *Toxicology* 2006. In press.
28. Bagchi D: Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. *Toxicology* 2006. In press.
29. Rutherford-Markwick KJ, Moughan PJ: Bioactive peptides derived from food. *JAAC Int* 2005; 88:955-966.
30. Korhonen H, Pihlanto A: Food-derived bioactive peptides-opportunities for designing future foods. *Curr Pharm Des* 2003; 9:1297-1308.
31. Meisel H: Multifunctional peptides encrypted in milk proteins. *Biofactors* 2004; 21:55-61.
32. Teschemacher H, Koch G, Brantl V: Milk protein-derived opioid receptor ligands. *Biopoly* 1997; 43:99-117.
33. Vermeirssen V, Van Camp J, Verstraete W: Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Br J Nutr* 2004; 92:357-366.
34. Diehl-Jones WL, Askin DF: Nutritional modulation of neonatal outcomes. *AACN Clin Issues* 2004; 15:83-96.
35. Field CJ: The immunological components of human milk and their effect on immune development of infants. *J Nutr* 2005; 135:1-4.
36. Lonnerdal B: Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1537S-1543S.
37. Fell JM: Control of systemic and local inflammation with transforming growth factor beta containing formulas. *J Parenter Enteral Nutr* 2005; 29:S126-S128.
38. Afzal NA, Van Der Zaag-Loonen HJ, Arnaud-Battandier F, Davies S, Murch S, Derkx B y cols.: Improvement in quality of life of children with acute Crohn's disease does not parallel mucosal healing after treatment with exclusive enteral nutrition. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20:167-172.
39. Marshal K: Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev* 2004; 9:136-156.
40. Moreno YF, Sgarbieri VC, Da Silva MN, Toro A, Vilela MM: Features of Whey Protein Concentrate Supplementation in Children with Rapidly Progressive HIV Infection. *J Trop Pediatr* 2006; 52:34-38.
41. Micke P, Beeh KM, Buhl R: Effect of long-term supplementation with whey proteins on plasma glutathione levels of HIV-infected patients. *Eur J Nutr* 2002; 41:12-18.
42. Micke P, Beeh KM, Schlaak JF, Buhl R: Oral supplementation with whey proteins increases plasma glutathione levels of HIV-infected patients. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:171-178.
43. Farnaud S, Evans RW: Lactoferrin- a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Mol Immunol* 2003; 40:395-405.
44. Orsi N: The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and perspectives. *Biometals* 2004; 17:189-196.
45. Kovacs-Nolan J, Phillips M, Mine Y: Advances in the value of eggs and egg components for human health. *J Agric Food Chem* 2005; 53:8421-8431.
46. Okuda M, Nakazawa T, Yamauchi K y cols.: Bovine lactoferrin is effective to suppress *Helicobacter pylori* colonization in the human stomach: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Infect Chemother* 2005; 11:265-269.
47. Okada S, Tanaka K, Sato T, Ueno H, Saito S, Okusaka T y cols.: Dose-response trial of lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93:1063-1069.
48. Ishii K, Takamura N, Shinohara M, Wakui N, Shin H, Sumino Y y cols.: Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatol Res* 2003; 25:226-233.
49. Giansanti F, Rossi P, Massucci MT, Botti D, Antonini G, Valenti P y cols.: Antiviral activity of ovotransferrin discloses an evolutionary strategy for the defensive activities of lactoferrin. *Biochem Cell Biol* 2002; 80:125-130.
50. Legrand D, Ellass E, Pierce A, Mazurier J: Lactoferrin and host defence: an overview of its immuno-modulating and anti-inflammatory properties. *Biometals* 2004; 17:225-229.
51. Griffiths CE, Cumberbatch M, Tucker SC, Dearman RJ, Andrew S, Headon DR y cols.: Exogenous topical lactoferrin inhibits allergen-induced Langerhans cell migration and cutaneous inflammation in humans. *Br J Dermatol* 2001; 144:715-725.
52. Teraguchi S, Wakabayashi H, Kuwata H, Yamauchi K, Tamura Y: Protection against infections by oral lactoferrin: evaluation in animal models. *Biometals* 2004; 17:231-234.
53. Togawa J, Nagase H, Tanaka K, Inamori M, Nakajima A, Ueno N y cols.: Oral administration of lactoferrin reduces colitis in rats via modulation of the immune system and correction of cytokine imbalance. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17:1291-1298.
54. Togawa J, Nagase H, Tanaka K, Inamori M, Umezawa T, Nakajima A y cols.: Lactoferrin reduces colitis in rats via modulation of the immune system and correction of cytokine imbalance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:G187-G195.
55. Thomassen EA, Van Veen HA, Van Berkel PH, Nuijens JH, Abrahams JP: The protein structure of recombinant human lactoferrin produced in the milk of transgenic cows closely matches the structure of human milk-derived lactoferrin. *Transgenic Res* 2005; 14:397-405.
56. Gifford JL, Hunter HN, Vogel HJ: Lactoferricin: a lactoferrin-derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:2588-2598.
57. Giansanti F, Massucci MT, Giardi MF, Nozza F, Pulsinelli E, Nicolini C y cols.: Antiviral activity of ovotransferrin derived peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331:69-73.
58. Asakura K, Kojima T, Shirasaki K y cols.: Evaluation of the effects of antigen specific immunotherapy on chronic sinusitis in children with allergy. *Auris Nasus Larynx* 1990; 17:33-38.
59. Sava G: Pharmacological aspects and therapeutic application of lysozymes. *EXS* 1996; 75:433-449.
60. Li-Chan E, Nakai S: Biochemical basis for the properties of egg white. *Crit Rev Poult Biol* 1989; 2:21-58.
61. Lichtenstein GR, Deren J, Katz S, Kennedy A, Ware JH: The Bowman Birk protease inhibitor: a novel therapy for treatment of patients with active ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2002; 122:A-60.
62. Daddaoua A, Puerta V, Zarzuelo A y cols.: Bovine glycomacropeptide is anti-inflammatory in rats with hapten-induced colitis. *J Nutr* 2005; 135:1164-1170.
63. Aimutis WR: Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticarcinogenesis. *J Nutr* 2004; 134:989S-995S.
64. Xiao R, Badger TM, Simmen FA: Dietary exposure to soy or whey proteins alters colonic global gene expression profiles during rat colon tumorigenesis. *Mol Cancer* 2005; 4:1-17.
65. Kennedy RS, Konok GP, Bounous G, Baruchel S, Lee TD: The use of a whey protein concentrate in the treatment of patients with metastatic carcinoma: a phase I-II clinical study. *Anticancer Res* 1995; 15:2643-2649.
66. Hayes TG, Falchook GF, Varadhachary GR, Smith DP, Davis LD, Dhingra HM y cols.: Phase I trial of oral talactoferrin alfa in refractory solid tumors. *Invest New Drugs* 2005.
67. Ward PP, Paz E, Conneely OM: Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:2540-2548.
68. Iigo M, Shimamura M, Matsuda E, Fujita K, Nomoto H, Satoh J y cols.: Orally administered bovine lactoferrin induces caspase-1 and interleukin-18 in the mouse intestinal mucosa: a possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis. *Cytokine* 2004; 25:36-44.
69. Mader JS, Salsman J, Conrad DM, Hoskin DW: Bovine lactoferricin selectively induces apoptosis in human leukemia and carcinoma cell lines. *Mol Cancer Ther* 2005; 4:612-624.
70. Yoo YC, Watanabe R, Koike Y, Mitobe M, Shimazaki K, Watanabe S y cols.: Apoptosis in human leukemic cells induced by lactoferricin, a bovine milk protein-derived peptide: involvement of reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 237:624-628.
71. Friedman M, Brandon DL: Nutritional and health benefits of soy proteins. *J Agric Food Chem* 2001 Mar; 49(3):1069-1086.

72. Kennedy AR: Chemopreventive agents: protease inhibitors. *Pharmacol Ther* 1998; 78:167-209.
73. Armstrong WB, Kennedy AR, Wan XS, Taylor TH, Nguyen QA, Jensen J, Thompson W y cols.: Clinical modulation of oral leukoplakia and protease activity by Bowman-Birk inhibitor concentrate in a phase IIa chemoprevention trial. *Clin Cancer Res* 2000; 6:4684-4691.
74. Armstrong WB, Wan XS, Kennedy AR, Taylor TH, Meyskens FL Jr: Development of the Bowman-Birk inhibitor for oral cancer chemoprevention and analysis of Neu immunohistochemical staining intensity with Bowman-Birk inhibitor concentrate treatment. *Laryngoscope* 2003; 113:1687-1702.
75. Malkowicz SB, McKenna WG, Vaughn DJ, Wan XS, Probert KJ, Rockwell K, Marks SH y cols.: Effects of Bowman-Birk inhibitor concentrate (BBIC) in patients with benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 2001; 48:16-28.
76. Dittmann KH, Mayer C, Rodemann HP: Radioprotection of normal tissue to improve radiotherapy: the effect of the Bowman Birk protease inhibitor. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2003; 3:360-363.
77. Food and Drug Administration. food labeling:health claims; soy protein and coronary artery disease. *Fed Regist* 1999; 64:57699-57733.
78. The Nutrition Committee of the American Heart Association 2000 AHA Dietary Guidelines. Revision 2000: A statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation* 2000; 102:2284-2299.
79. Costa RL, Summa MA: Soy protein in the management of hyperlipidemia. *Ann Pharmacother* 2000; 34:931-935.
80. Adams MR, Golden DL, Franke AA, Potter SM, Smith HS, Anthony MS: Dietary soy beta-conglycinin (7S globulin) inhibits atherosclerosis in mice. *J Nutr* 2004; 134:511-516.
81. Dewell A, Hollenbeck PL, Hollenbeck CB: A critical evaluation of the role of soy protein and isoflavone supplementation in the control of plasma cholesterol concentrations. *J Clin Endocrin Metab* 2006. In press.
82. FitzGerald RJ, Murray BA, Walsh DJ: Hypotensive peptides from milk proteins. *J Nutr* 2004; 134:980S-988S.
83. Meisel: Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins. *Biopoly* 1997; 43:119-128.
84. Lonnerdal B: Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:1537S-1543S.
85. Field CJ: The immunological components of human milk and their effect on immune development in infants. *J Nutr* 2005; 135:1-4.
86. Severin S, Wenshui X: Milk biologically active components as nutraceuticals: review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2005; 45:645-656.
87. Milani S, Calabro A: Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. *Microsc Res Tech* 2001; 53:360-371.
88. Palomino A, Hernández-Bernal F, Haedo W, Franco S, Mas JA, Fernández JA y cols.: A multicenter, randomized, double-blind clinical trial examining the effect of oral human recombinant epidermal growth factor on the healing of duodenal ulcers. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35:1016-1022.
89. Tsang MW, Wong WK, Hung CS, Lai KM, Tang W, Cheung EY, Kam G, Leung L, Chan CW, Chu CM, Lam EK: Human epidermal growth factor enhances healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 2003; 26:1856-1861.
90. Xiao X, Xiong A, Chen X, Mao X, Zhou X: Epidermal growth factor concentrations in human milk, cow's milk and cow's milk-based infant formulas. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115:451-454.
91. Warner BW, Warner BB: Role of epidermal growth factor in the pathogenesis of neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005; 14:175-180.
92. Jones MK, Tomikawa M, Mohajer B, Tarnawski AS: Gastrointestinal mucosal regeneration: role of growth factors. *Front Biosci* 1999; 4:D303-D309.
93. Hormi K, Cadiot G, Kermorgant S, Dessirier V, Le Romancer M, Lewin MJ y cols.: Transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in colonic mucosa in active and inactive inflammatory bowel disease. *Growth Factors* 2000; 18:79-91.
94. Hauck AL, Swanson KS, Kenis PJ, Leckband DE, Gaskins HR, Schook LB: Twists and turns in the development and maintenance of the mammalian small intestine epithelium. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005; 75:58-71.
95. MacDonald TT, DiSabatino A, Gordon JN: Immunopathogenesis of Crohn's disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2005; 29:S118-24.
96. Ford H, Watkins S, Reblock K, Rowe M: The role of inflammatory cytokines and nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 1997; 32:275-82.
97. Howarth GS: Insulin-like growth factor-I and the gastrointestinal system: therapeutic indications and safety implications. *J Nutr* 2003; 133:2109-12.
98. Clare DA, Swaisgood HE: Bioactive milk peptides: a prospectus. *J Dairy Sci* 2000; 83:1187-1195.