

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



***HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE CHÍCHARO (PISUM
SATIVUM) Y ARROZ (ORYZA SATIVA) Y SU EFECTO
ANTIADIPOGÉNICO IN SILICO***

**POR
LN. FELIPE DE JESÚS RUIZ LÓPEZ**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

OCTUBRE, 2020



UANL[®]

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**



***HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE CHÍCHARO (PISUM
SATIVUM) Y ARROZ (ORYZA SATIVA) Y SU EFECTO
ANTIADIPOGÉNICO IN SILICO***

POR

LN. FELIPE DE JESÚS RUIZ LÓPEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN NUTRICIÓN

DIRECTOR DE TESIS

DR. EN C. JESÚS ALBERTO VÁZQUEZ RODRIGUEZ

CODIRECTOR DE TESIS

DR. EN C. DAVID ARTURO SILVA MARES

Monterrey, N.L, México

Octubre, 2020

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA

HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE CHÍCHARO (PISUM SATIVUM) Y ARROZ (ORYZA SATIVA) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO IN SILICO

Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez

Presidente

Dr. Luis Fernando Méndez López

Secretario

Dr. David Arturo Silva Mares

Vocal

Dra. Blanca Edelia González Martínez

Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

El comité de Evaluación de Tesis **APROBÓ** la tesis titulada: “**HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE CHÍCHARO (PISUM SATIVUM) Y ARROZ (ORYZA SATIVA) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO IN SILICO**” presentado por el L.N. Felipe de Jesús Ruiz López, con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Monterrey, Nuevo León a 14 de octubre de 2020

Dr. Luis Fernando Méndez López

Presidente

Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez

Secretario

Dr. David Arturo Silva Mares

Vocal

Dra. en C. Blanca Edelia González Martínez
Subdirección de Investigación, Innovación y Posgrado
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Universidad Autónoma de Nuevo León

P R E S E N T E

Por este conducto le comunicamos que hemos concluido la dirección y codirección de la tesis titulada: “**HIDROLIZADO DE PROTEÍNAS DE CHÍCHARO (PISUM SATIVUM) Y ARROZ (ORYZA SATIVA) Y SU EFECTO ANTIADIPOGÉNICO IN SILICO**”, presentado por el L.N. Felipe de Jesús Ruiz López con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

Atentamente

“Alere Flamma Veritatis”

Monterrey, Nuevo León a 20 de octubre de 2020

Dr. Jesús Alberto Vázquez Rodríguez

Dr. David Arturo Silva Mares

Director

Co-director

Tabla de contenido

Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	3
II. Antecedentes	4
2.1 Chícharo (<i>Pisum sativum</i>).....	4
2.1.1 Antecedentes históricos.....	4
2.1.2 Características biológicas.....	4
2.1.3 Características de cultivo.....	6
2.1.4 Consumo a nivel nacional.....	7
2.1.5 Composición nutricional.....	8
2.2 Arroz (<i>Oryza sativa</i>).....	12
2.2.1 Antecedentes históricos.....	12
2.2.2 Características biológicas.....	12
2.2.3 Características de cultivo.....	13
2.2.4 Consumo a nivel nacional.....	16
2.2.5 Composición nutricional.....	17
III. Sobrepeso y obesidad: generalidades	21
IV. Generalidades de PPAR-γ	23
V. Justificación	27
VI. Hipótesis	28
VII. Objetivo general	28
VIII. Objetivos específicos	28
IX. Metodología	28
9.1 Tabla de operacionalización de variables.....	28
9.2 Diseño del estudio	29
9.3 Población de estudio	29
9.4 Esquema general de trabajo	29
9.5 Procedimiento.....	31
9.6 Ética.....	35
9.7 Bioseguridad.....	35
X. Resultados	36
10.1 Proteolisis <i>in silico</i> de proteínas vegetales.....	36
10.2 Punto de vinculación	39
XI Discusión	44
11.1 Digestión <i>in silico</i>	44
11.2 Afinidad ligando-receptor.....	46
XII. Conclusión	50
XIII. Bibliografía	51

Lista de tablas

Tabla		Página
1	Cantidades de suministro de leguminosas en México	8
2	Composición nutricional del chícharo	8
3	Perfil de aminoácidos de las fracciones proteicas de chícharo	10
4	Cantidades de suministros de alimentos en México	16
5	Composición nutricional arroz integral	17
6	Contenido aproximado de proteínas en arroz entero	18
7	Perfil de aminoácidos de las fracciones proteicas de arroz (<i>Oryza sativa</i>)	19
8	Mayores receptores estudiados en la identificación de ligandos antiobesogénicos.	26
9	Tabla de operacionalización de variables	28
10	Fracciones proteicas liberadas del proceso hidrolítico <i>in silico</i>	37
11	Hidrólisis <i>in silico</i> de proteínas de arroz	38
12	Secuencia y frecuencia de oligopéptidos resultantes de la digestión con enzimas gastrointestinales <i>in silico</i> en PPAR	41
13	Energías de unión y aminoácidos de unión de péptidos que presentan puntos de vinculación por debajo de -160 kcal/mol	42
14	Energías de unión de ligandos al sitio activo de PPAR γ	48

Lista de figuras

Figura		Página
1	Planta de chícharo	5
2	Niveles de rendimiento de leguminosas (Hg/Hc)	7
3	Partes del grano de arroz	13
4	Producción de arroz (toneladas) en México (2011-2017)	15
5	Niveles de rendimiento de cada cereal (Hg/Hc)	15
6	Suministro de energía de cada cereal (kcal/persona/día)	16
7	Relación masa corporal y mortalidad	22
8	Estructura de las tres isoformas de PPARs	23
9	Expresión y actividad de PPAR γ	24
10	Esquema general de investigación	30
11	Sitio de la región activa de PPAR γ	33
12	Complejo ligando-proteína	34
13	Uniones intermoleculares ligando-receptor	43

Índice de abreviaturas

A	Alanina
AA	Aminoácidos
Ap2	Proteína de unión a ácidos grasos
C	Cisteína
C/EBP α	Proteínas CCAAT-potenciador de unión alfa
C/EBP β	Proteínas CCAAT-potenciador de unión beta
D	Ácido aspártico
E	Ácido glutámico
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
F	Fenilalanina
FAS	Ácido graso sintasa
G	Glicina
G	Gramos
H	Histidina
Hg/hc	Hectogramo/hectárea
HMGCCR	3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A reductasa
I	Isoleucina
IMC	Índice de masa corporal
K	Lisina
Kcal	Kilocalorías
L	Leucina
M	Metionina
N	Asparagina
N	Nitrógeno
OMS	Organización Mundial de la Salud
P	Prolina
PPAR α	Factor de proliferación de peroxisomas alfa
PPAR β/δ	Factor de proliferación de peroxisomas beta/sigma
PPAR γ	Factor de proliferación de peroxisomas gamma
Q	Glutamina
R	Arginina

Resumen

Tanto a nivel internacional como nacional, se estima que al menos el 50% de la población presenta un exceso de masa grasa, la cual está estrechamente relacionado con el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas. Recientemente, se ha considerado a las proteínas como compuestos bioactivos. En el caso de los aislados proteicos de chícharo (*Pisum sativum*) y arroz (*Oryza sativa*), se han reportado diversos efectos benéficos; sin embargo, existe escasez de información respecto a su efecto en tejido adiposo. El objetivo de este trabajo fue identificar péptidos, con una longitud de 2 a 5 residuos de aminoácidos, liberados por enzimas proteolíticas digestivas (pepsina, tripsina y quimotripsina) de las fracciones proteicas del arroz: prolamina y glutelina, y chícharo: legumina, convicilina y vicilina, que presenten potencial actividad antiadipogénica por medio la unión a sitios activos de PPAR γ . Proteínas de chícharo y arroz (NCBI) se sometieron a un proceso de hidrólisis *in silico* usando el programa informático BIOPEP-UWM. Péptidos liberados con longitud de 2 a 5 residuos fueron primeramente evaluados su energía de unión a PPAR γ (PDB) por medio del software HPEPDOCK y los péptidos con valores inferiores a -160 kcal/mol fueron modelados utilizando el programa Avogrado, para finalmente analizar las energías y sitios de unión a sitios activos del receptor PPAR γ con una región de interacción ligando-receptor centrada a 7.745 x 50.606 x 57.552 y con dimensiones de X= 70, Y=40 y Z=40 con un espaciamiento de 0.375 Angstrom. Los péptidos que presentaron valores inferiores a -160 kcal/mol fueron 11 (5 del arroz y 6 del chícharo) de los cuales los oligopéptidos PIVF, IVPQH, IIQGR, QPY (glutelina) y QSPVF (prolamina) del arroz y AQTF y AAVSH del chícharo fueron los que mayor afinidad tuvieron en sitios activos del receptor PPAR γ (Phe264, His266, Ile281, Cys285, Arg288, Ser289, Met348 e His449) con energías de unión comprendidas entre -1.87 a -6.38 kcal/mol. Los péptidos de la glutelina (PIVF, IVPQH, IIQGR, QPY) y prolamina (QSPVF) por parte de arroz y, los péptidos de legumina (AQTF, AAVSH), convicilina (VIPVN, PQH) y vicilina (PVAIN, PGSSH) del chícharo pudieran presentar actividad antiadipogénica con base a las energías de enlaces intermoleculares formadas en sitios de unión claves del proceso de adipogénesis vía PPAR γ .

Abstract

Both internationally and nationally, it is estimated that at least 50% of the population has an excess of fat mass, which is closely related to the development of chronic degenerative diseases. Recently, proteins have been considered as bioactive compounds, such as pea (*Pisum sativum*) and rice (*Oryza sativa*), which have reported various beneficial effects. However, there is a lack of information regarding its effect on adipose tissue. The objective of this work was to identify peptides, with a length of 2 to 5 amino acid residues, released by digestive proteolytic enzymes (pepsin, trypsin and chymotrypsin) from the protein fractions of rice: prolamine and glutelin, & pea: legumin, convicilin and vicilin, that show potential antiadipogenic activity by binding to active sites of PPAR γ . Pea and rice proteins (NCBI) were subjected to an *in silico* hydrolysis process using the BIOPEP-UWM computer program. Peptides released with a length of 2 to 5 amino acid residues were first evaluated for their binding energy to PPAR γ (PDB) by means of the HPEPDOCK software and the peptides with values lower than -160 kcal / mol were modeled using Avogadro to finally analyze the energies and sites of binding to active sites of the PPAR γ receptor with a region of ligand-receptor interaction centered at 7,745 x 50,606 x 57,552 and with dimensions of X = 70, Y = 40 and Z = 40 with a spacing of 0.375 angstroms. The peptides that presented values below -160 kcal / mol were 11 (5 from rice and 6 from peas) of which the oligopeptides PIVF, IVPQH, IIQGR, QPY (glutelin) and QSPVF (prolamine) from rice and AQTF and AAVSH from rice Peas were the ones with the highest affinity for active sites of the PPAR γ receptor (Phe264, His266, Ile281, Cys285, Arg288, Ser289, Met348 and His449) with binding energies between -1.87 and -6.38 kcal / mol. Glutelin peptides (PIVF, IVPQH, IIQGR, QPY) and prolamine (QSPVF) from rice and legumin peptides (AQTF, AAVSH), convicilin (VIPVN, PQH) and vicillin (PVAIN, PGSSH) from pea could show antiadipogenic activity based on the intermolecular bond energies formed at key binding sites of the adipogenesis process via PPAR γ .

I. Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reportado una prevalencia de sobrepeso y obesidad a nivel mundial en adultos del 39% y 13% respectivamente (Malo et al., 2017). De la misma manera, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018 estimó que el 75.2% de la población mexicana adulta presenta exceso de masa grasa, siendo 39.1% sobrepeso y 36.1% obesidad, el cual representa una de las más altas a nivel mundial.

En principio, los factores genéticos, psicológicos, económicos y sociales son los principales factores que se han vinculado con este exceso de masa grasa (Hruby et al., 2016), estado que puede alterar la fisiología del adipocito, provocando, así, la producción y liberación de diversos factores inflamatorios, las cuales pueden alterar la fisiología normal de diferentes sistemas (Tremmel et al., 2017).

En las últimas dos décadas han emergido numerosas investigaciones que sugieren que las proteínas de origen vegetal presentan efectos benéficos en diferentes sistemas del organismo (McCarthy et al., 2013); particularmente en el tejido adiposo se ha encontrado que muestran actividad antioxidativa, antiinflamatoria, lipolítica y acción en la sensibilidad de insulina (Esteve et al., 2014; Tsou et al., 2013; González-Espinosa et al., 2011).

El arroz (*Oryza sativa*) y el chícharo (*Pisum sativum*) son dos vegetales ampliamente consumidas en nuestro país el cual sus fracciones proteicas presentan propiedades fisicoquímicas que han sido ideales para la incorporación de los alimentos, sin embargo, existe poca información sobre la bioactividad que presentan los péptidos de estos vegetales en la adipogénesis. Por lo tanto, esta escasez de conocimiento ha dado a pie a esta investigación con el propósito de identificar componentes proteicos, liberadas por enzimas proteolíticas digestivas, que presenten potencialidad antiadipogénica en base a la energía y sitios de unión que presentan estas moléculas en sitios activos de PPAR γ utilizando como metodología el estudio *in silico*.

II. Antecedentes

2.1 Chícharo (*Pisum sativum*)

2.1.1 Antecedentes históricos

El Chícharo tiene su origen hace unos 10 000 años en la región suroeste de Asia (India, Pakistán, Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas y Afganistán), donde fue difundido hacia zonas europeas (Majeed, et al., 2012). Probablemente los guisantes han sido consumidos desde hace 9,500 años, y se han cultivado durante 8,500 años (Elzebroek & Wind, 2008).

Los 5 principales tipos o variedades de guisante producidos en el mundo son guisante de invierno austriaco, guisante verde, arveja, guisante de medula ósea y guisante amarillo, los cuales son cultivados para obtener sus pequeñas semillas comestibles que se encuentran embebidas dentro de una vaina que es igualmente comestible (Roy et al., 2010).

2.1.2 Características biológicas

Pisum sativum es una planta trepadora que pertenece a la familia de las leguminosas (*Fabaceae*), subfamilia de las *Papilionoidea*. Tiene una gran cantidad de nombres alternativos, tal como guisante de jardín, guisante de campo, guisante de primavera, guisante inglés, guisante común y guisante verde (D. Jovičević, 2009).

Las características físicas distinguibles de esta planta es que presenta tallos elongados y delgados que ocasionan que no puedan sostenerse por sí mismo, es decir, necesitan tener algún soporte el cual les permita sobresalir para obtener los rayos solares y estar lejos del suelo. En la figura 1 se observa las características físicas de esta planta donde se aprecia que el tallo principal es de baja rigidez, y sus ramificaciones presentan una delgadez que permiten a la planta fijarse a lo que se encuentre alrededor con el objetivo de sobresalir (D. Jovičević, 2009).



Figura 1. Planta de chícharo (*Pisum sativum*)
Fuente: <https://www.thoughtco.com/domestication-history-of-peas-169376>

Las semillas de esta planta se encuentran envueltas por una cascara tierna y alargada, denominada vaina, que miden alrededor de 5 a 10 cm de largo y con un contenido aproximado de entre 4 a 10 semillas (Multari, Stewart, & Russell, 2015), en donde, dependiendo del estado en que se coseche puede ser denominado dentro de dos familias: legumbres u hortalizas. Así, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, *por sus siglas en inglés*) define a las legumbres como semillas previamente deshidratadas obtenidas de las leguminosas, destinados principalmente para consumo humano o como forraje animal. Sin embargo, aunque taxonómicamente es correcto asociar a los guisantes frescos dentro de la familia de las legumbres, la FAO incluye a este vegetal dentro de la familia de las hortalizas (FAO, 2017).

Una de las principales ventajas que presenta esta planta es su capacidad de fijación de nitrógeno ambiental por medio de una relación simbiótica con la bacteria *Rhizobium* (Masson-Boivin & Sachs, 2018). Por lo tanto, se ha utilizado para el restablecimiento de Nitrógeno en la tierra después de ciertos cultivos. Esta peculiaridad hace que la planta presente diversos beneficios económicos y nutricionales, tal como una mayor velocidad de crecimiento y un contenido mayor de proteínas (Razaq et al., 2017; Liu et al., 2014; Jensen et al., 2010).

2.1.3 Características de cultivo

2.1.3.1 Factores ambientales

Con respecto a las características ideales para la siembra, se distinguen dos periodos, la primera entre el 20 de octubre y el 10 de noviembre; la segunda entre el 10 de noviembre y 10 de diciembre. Además, esta planta tiene la capacidad de crecer a temperaturas comprendidas entre 6 y 35°C. El pH requerido para el crecimiento óptimo de esta planta se encuentra entre 5.5-6.6 (Lezáun & Lafarga, 2013).

El tipo de suelo ideal para la siembra de los guisantes debe de ser de tipo limosa, ya que en los suelos de tipo calizo la planta puede presentar alteraciones en el crecimiento. De igual manera, los suelos demasiados húmedos y excesivamente arcillosos puede provocar efectos indeseables en su desarrollo (Lezáun & Lafarga, 2013)

2.1.3.2 Producción

Los guisantes presentan la mayor producción a nivel mundial seguido de la soya, cacahuate y frijol, siendo China el país con mayor producción (12.5 millones de toneladas), seguido de India, Estados Unidos y Francia, con una producción de 5.3, 2.4 y 2.2 millones de toneladas, respectivamente (FAOSTAT, 2017).

Por otro lado, México ha experimentado un aumento del 26 % en la producción desde el año 2011 al 2017, registrando una producción de 47,077 y 63,934 de toneladas por año, respectivamente, colocándose dentro de los primeros 20 países productores a nivel mundial (FAOSTAT, 2017).

2.1.3.3 Rendimiento

La densidad de población de esta planta consta de 312,500 plantas por hectárea (ha), alcanzando, así, una densidad de 56,808 hectogramos de guisantes verdes por ha (figura 2). Estos datos nos indican que presenta un rendimiento elevado, estando por encima de otros vegetales como garbanzos, cacahuates y soja (FAOSTAT, 2017).

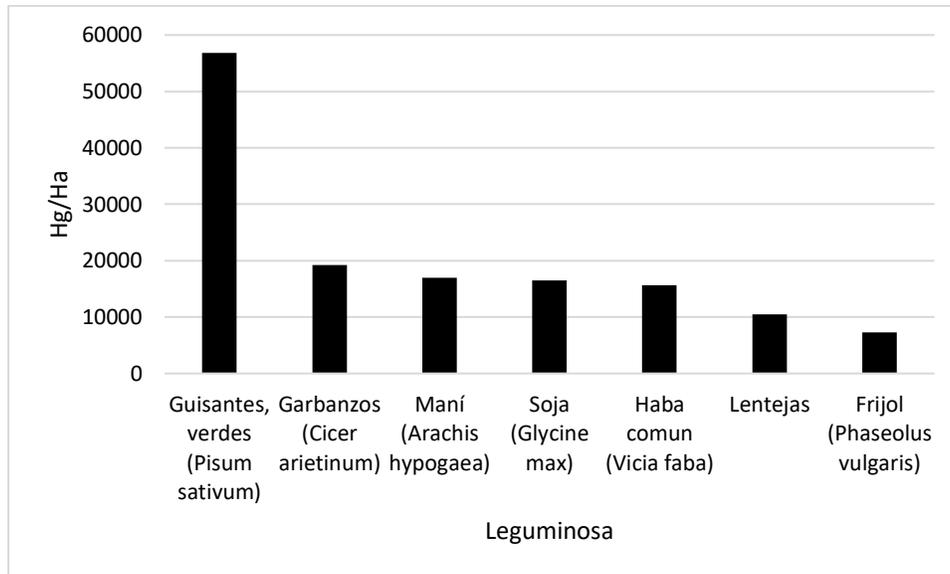


Figura 2. Niveles de rendimiento de leguminosas hectogramo/hectárea (hg/ha) (FAOSTAT, 2017).

2.1.4 Consumo a nivel nacional

A pesar de que el chícharo no es un alimento de procedencia mexicana, ha sido ampliamente aceptada en la cocina mexicana, ya que sus características fisicoquímicas y nutricionales han ocasionado que sea ideal en la incorporación de diversos productos alimenticios.

La FAO reporta que el suministro de este vegetal a la población mexicana es de 0.13 g/persona/día (tabla 1). Además, tiene un aporte energético de 1 kcal/persona/día y contribuye con 0.07 gramos de proteína/persona/día, posicionándose como la tercera legumbre que mayor contribución tiene en la ingesta proteica y energética, solo por debajo del frijol y cacahuate (FAOSTAT, 2013).

Tabla 1. Cantidad de suministro de leguminosas en México.

Alimento	Suministro (g/persona/día)
Frijol	10.38
Cacahuete	1.26
Chícharo	0.13
Soya	0.02

Fuente: FAOSTAT (2013)

2.1.5 Composición nutricional

El chícharo ha sido ampliamente consumido a nivel mundial debido a que contiene diversos componentes nutricionales. Es alto en fibra (soluble e insoluble) y proteína, bajo en sodio y grasa, y es un excelente recurso de carbohidratos complejos, vitamina B, folato y minerales (tabla 2)(Roy et al., 2010).

Tabla 2. Composición nutricional del chícharo (*Pisum sativum*)

Componente	Cantidad (por cada 100 g)
Energía (Kcal)	81
Lípidos (g)	0.54
Cenizas (g)	0.87
Carbohidratos (g)	14.45
Fibra (g)	5.7
Proteínas (g)	5.42
Tiamina (mg)	0.266
Riboflavina (mg)	0.132
Niacina (mg)	2.09
Folato, total (µg)	65

Fuente: USDA DATABASE (2017)

2.1.5.3 Proteínas: propiedades nutricionales y fisicoquímicas.

Por otra parte, este vegetal presenta un contenido de proteínas que oscila entre 23.1-30.9 % (Nx5.6), siendo los componentes de almacenamiento proteico principales la albúmina y globulina (vicilina y legumina), las cuales se encuentran alrededor del 20% y 55%, respectivamente (Lefebvre et al., 1987).

Foster & Tyler reportan que la composición aminoacídica consta principalmente del aminoácido glutamina, seguido por ácido aspártico, arginina y lisina, presentando los valores más bajos los aminoácidos metionina, triptófano y cisteína (Dahl, Foster, & Tyler, 2012). Igualmente, la base de datos de la USDA reporta que el componente predominante es la glutamina, seguido por valina, leucina y ácido aspártico; siendo lisina, isoleucina y arginina los componentes de menor contenido. A pesar de que este vegetal no sea rico en el aminoácido lisina, es el componente que más contribuye a los requerimientos de la población (WHO/FAO/ONU., 2007). El contenido proteico está en función de las condiciones ambientales y factores genéticos, por lo que es importante destacar el tipo y origen del vegetal en estudio (tabla 3) (Hood-Niefer, Warkentin, Chibbar, Vandenberg, & Tyler, 2012).

Tabla 3. Perfil de aminoácidos de las fracciones proteicas de chícharo (*Pisum sativum*) (g AA por 16 g N)

Aminoácido	Albumina	Globulina
Arginina	4.09	8.08
Histidina	2.87	2.23
Isoleucina	4.43	4.74
Leucina	5.22	8.94
Lisina	10.33	7.01
Metionina	0.97	0.61
Fenilalanina	4.55	5.49
Treonina	4.52	3.24
Triptófano	1.23	0.97
Valina	5.21	4.86
Alanina	5.19	4.00
Ácido aspártico	11.40	11.96
Cistina	3.13	1.18
Ácido glutámico	16.61	16.94
Glicina	6.41	3.84
Prolina	5.38	4.47
Serina	4.11	4.87
Tirosina	4.32	3.40

Fuente: [Leterme et al., \(1990\)](#)

A pesar de su contenido proteico, este vegetal contiene componentes que pueden interferir con la biodisponibilidad de las proteínas. Tal es el caso de los inhibidores de proteasas, las cuales son resistentes a la pepsina y al pH ácido del tracto digestivo, teniendo así, la capacidad de unirse a enzimas proteolíticas (tripsina y quimotripsina) contenidas en el tracto digestivo provocando disminución en su capacidad catalítica (Roy et al., 2010). Por lo tanto, junto con las lectinas, los inhibidores de proteasas disminuyen la digestibilidad de las proteínas. No obstante, es posible disminuir la actividad de estos compuestos “antinutricionales” por medio de procesos como remojo, cocinado, autoclave y germinación (Jood, Chauhan, & Kapoor, 1989).

Las propiedades tecnológicas de los alimentos están dadas por los componentes presentes en estos, tales como los macronutrientes. Los parámetros fisicoquímicos dependen de la naturaleza de los enlaces y los tipos de fuerza iónica que pueden formar, y estos determinan las propiedades tecnológicas y nutricionales.

Con respecto a la solubilidad, la mayoría de las legumbres presentan una alta solubilidad a un pH bajo (ácido) y a un pH alto (alcalino). Obteniéndose una solubilidad baja a su punto isoeléctrico, entre 4-6 para la mayoría de las legumbres (Boye, Zare, & Pletch, 2010). De la misma manera, Fernandez-Quintela et al. (1997) analizaron la solubilidad de proteínas provenientes de chícharo, en donde se mostró que la capacidad de absorción más alta se obtuvo a un pH entre 8 y 9 (pH alcalino), mientras los valores más bajos de solubilidad se obtuvieron entre 4 y 6. Asimismo, Rangel et al. (2003) obtuvieron resultados similares al analizar la solubilidad de la porción proteica vicilina proveniente del chícharo, en donde se obtuvieron resultados que indican que la menor solubilidad de este polipéptido se encuentra entre un pH de 5.0-6.0, presentándose una solubilidad moderada (~65%) a un pH de 4.0 y una alta solubilidad a un pH de 7.

Los valores de solubilidad dependen fuertemente del método de extracción utilizada (Mession et al., 2012) , así como también, puede ser modificada por medio de aplicación de radiación gamma, fermentación y tratamiento térmicos (Obatolu et al., 2007; Elik et al., 2004).

Además de su alta solubilidad, se ha reportado que presenta alta estabilidad y capacidad emulsificante y espumante, lo cual ha provocado que sea altamente utilizada en la incorporación de diversos alimentos (Rangel et al., 2003; Tömösközi et al., 2001).

2.2 Arroz (*Oryza sativa*)

2.2.1 Antecedentes históricos

Es uno de los cultivos más antiguos cuyo origen se cree que provienen de China, India y al sureste de Asia hace unos 7,000 años; siendo la India el lugar donde probablemente se cultivó por primera vez, debido a la abundancia de los arroces de tipo silvestres. Su desarrollo como cultivo domesticado tuvo lugar en China, donde en el último milenio se ha dispersado progresivamente hacia el resto del mundo. Alrededor del año 1718 fue introducido en América gracias a los esclavos negros que provenían del oeste de África (Dogara & Jumare, 2014).

Este vegetal es básico en muchas culturas (en especial en la cocina asiática) que presenta una calidad nutricional elevada y además es considerado como el componente alimentario más importante en muchas regiones del mundo. Siendo este cereal predominante en 17 países de Asia, 9 países de América del Norte y del Sur y 8 países de África (Bhosale, 2015).

2.2.2 Características biológicas

Planta herbácea de la familia de las Gramíneas (cereales), conocida botánicamente como *Oryza sativa*. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, *por sus siglas en inglés*) se define a los cereales como los cultivos que son recolectados para obtener solamente los granos secos (FAO, 2002).

La planta presenta una altura de 0.6-1.5 metros. Presenta hojas con lígula membranosa de hasta 2 centímetros y se conoce también como arroz rojo, arroz salvaje, arroz borde y arrozal (Mercedes, 2015). En la figura 2 se muestra los componentes del grano de arroz donde alrededor del 74% del grano está disponible como alimento. La cascarilla contribuye alrededor del 20% del peso total del arroz (Shih, 2003a), el cual es poco aprovechado como alimento debido al alto contenido de silicio (Rong et al., 2013).

El rendimiento después de la molienda y el subsecuente pulido consta alrededor del 50% del grano entero, 10% salvado de arroz y 17% de fragmento de arroz quebrado (Singh, 2010).

El salvado de arroz es un recurso atractivo de proteínas debido a su abundancia y bajo costo, sin embargo, es particularmente destinado hacia consumo animal. Se ha mostrado dificultad para procesar las proteínas contenidas en este grano, debido a que se cree que las proteínas están unidas entre sí fuertemente por enlaces disulfuro, dificultando su extracción debido a la baja solubilidad en agua que presentan (Tran et al., 2018).

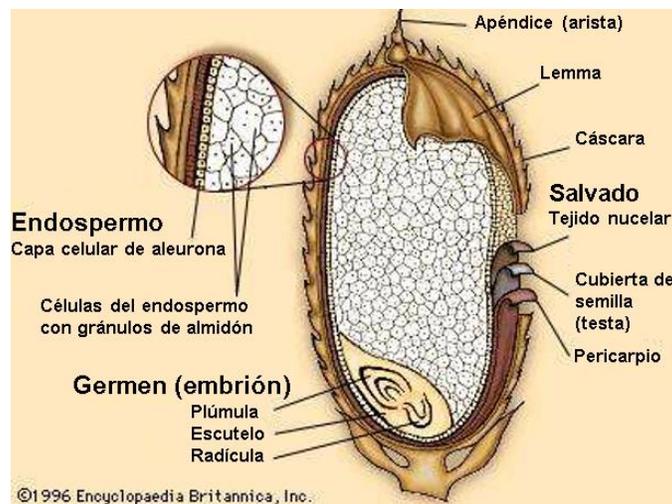


Figura 3. Partes del grano de arroz (*Oryza sativa*) (Singh, 2010).

2.2.3 Características de cultivo

2.2.3.1 Factores ambientales

La fecha de siembra ideal de este grano es de septiembre a diciembre, sin embargo, tiene la capacidad de crecer en cualquier mes del año. Es importante considerar ciertas características ambientales para el desarrollo de este cereal, tal como una temperatura mínima de 10 a 13 °C y un óptimo entre 30 y 35 °C para su germinación. De igual manera, para florecer necesita un mínimo de 15 °C e ideal de 30 °C. Además, se ha reportado que tiene alta tolerancia a un rango amplio de pH, entre 4.3-8.7, siendo el requerido 6.6 (SAGARPA, 2017). Sin embargo, durante ciertos periodos de crecimiento, el arroz tiene una alta tolerancia a suelos con alta salinidad, por lo que se ha utilizado en la recuperación de suelos salados (Duke, 1983).

También, este cultivo es difundido en diferentes tipos de suelo, tal como tierras grises, negras y lateríticas (FAOSTAT, 2017), siendo importante que la textura de

la tierra de cultivo tenga características finas capaces de contener el agua o tener un subsuelo que contenga agua con poca filtración (Duke, 1983).

2.2.3.2 Producción

El arroz (*Oryza sativa*) es el tercer cereal con mayor producción en todo el mundo con 769.6 millones de toneladas, solo por debajo del maíz y trigo, con 1,134.7 y 771.7 toneladas, respectivamente, siendo las regiones del este y sur de Asia, el medio Este, Latinoamérica e India Occidental los principales productores (FAOSTAT, 2017).

De la misma manera, México ha experimentado un aumento en la producción, presentando en el año 2011, 173,461 toneladas y yendo en aumento hasta el año 2017, con una producción de 265,567 toneladas (figura 4) (FAOSTAT, 2017). Dicha producción proviene principalmente de tres sistemas de cultivo: trasplante bajo riego, que se da en la zona centro-sur, siembra directa bajo riego, que abarca las zonas noreste y occidente y de temporal, que comprende el sureste (SIAP, 2016).

Aunque la producción nacional este en aumento, la satisfacción de los requerimientos que se puede cubrir con la producción interna es de solo 21.61 %, por lo que se establece una dependencia de importaciones provenientes de Estados Unidos, Uruguay y Argentina (SAGARPA, 2017).

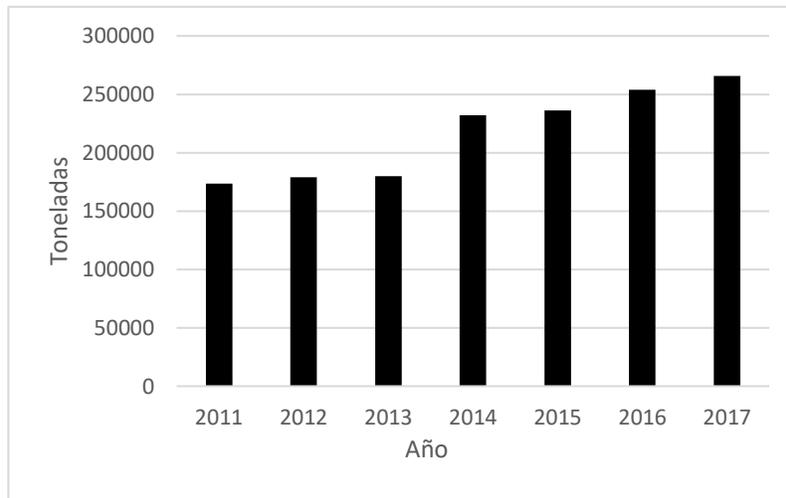


Figura 4. Producción de arroz (toneladas) en México (2011-2017) (FAOSTAT, 2017).

2.2.3.3 Rendimiento

En nuestro país, este vegetal presenta el mayor nivel de rendimiento de cultivo (Figura 5), con un valor de 63,900 hectogramos/hectárea (hg/ha). Siendo considerado como un cultivo altamente productivo (FAOSTAT, 2017).

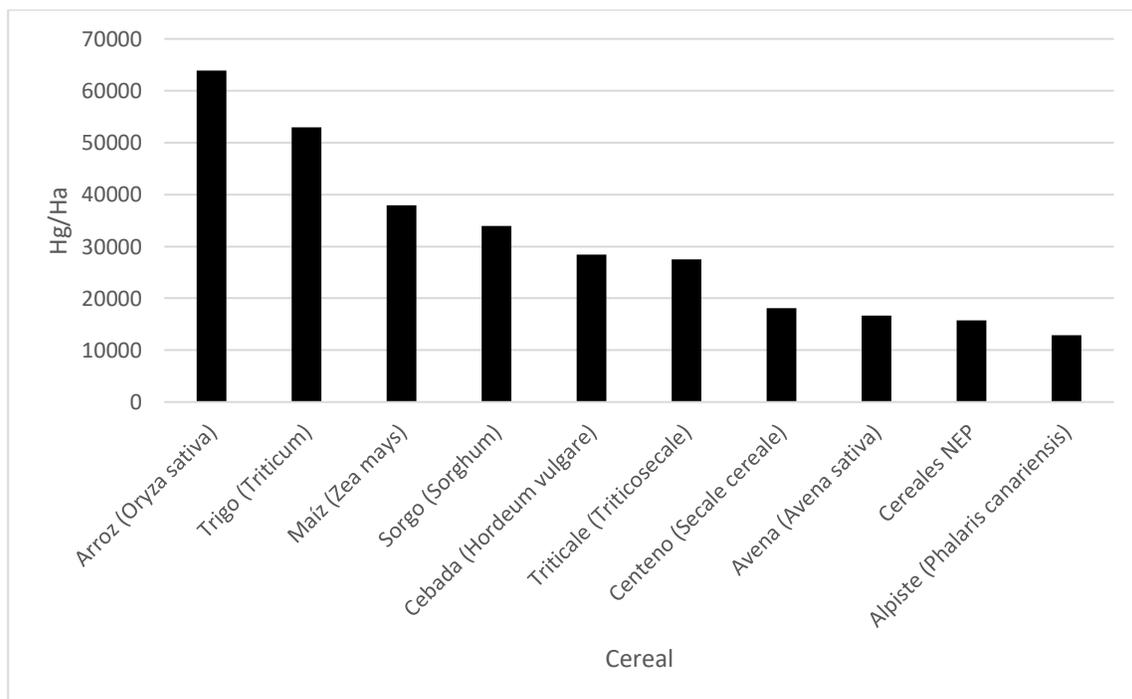


Figura 5. Niveles de rendimiento de cada cereal medido en hectogramos/hectárea(hg/ha) (FAOSTAT, 2017).

2.2.4 Consumo a nivel nacional

Los cereales son el principal grupo de alimento que contribuyen al consumo energético en nuestro país (Aburto, Pedraza, Sánchez-Pimienta, Batis, & Rivera, 2016), posicionándose el arroz como el mayor consumido en la población mexicana, solo detrás del maíz y trigo (tabla 4). Además, es el segundo cultivo que representa mayor gasto para las familias mexicanas (Figura 6) (FAOSTAT, 2017), por lo que es considerado uno de los cultivos básicos en la ley de Desarrollo Rural Sustentable (SAGARPA, 2017).

Tabla 4. Cantidad de suministro de alimentos en México

Cereal	Kg/persona/año
Maíz	116.34
Trigo	35.21
Arroz (elaborado)	5.64
Avena	0.66
Cebada	0.01
Centeno	0.0

Fuente: (FAOSTAT, 2017)

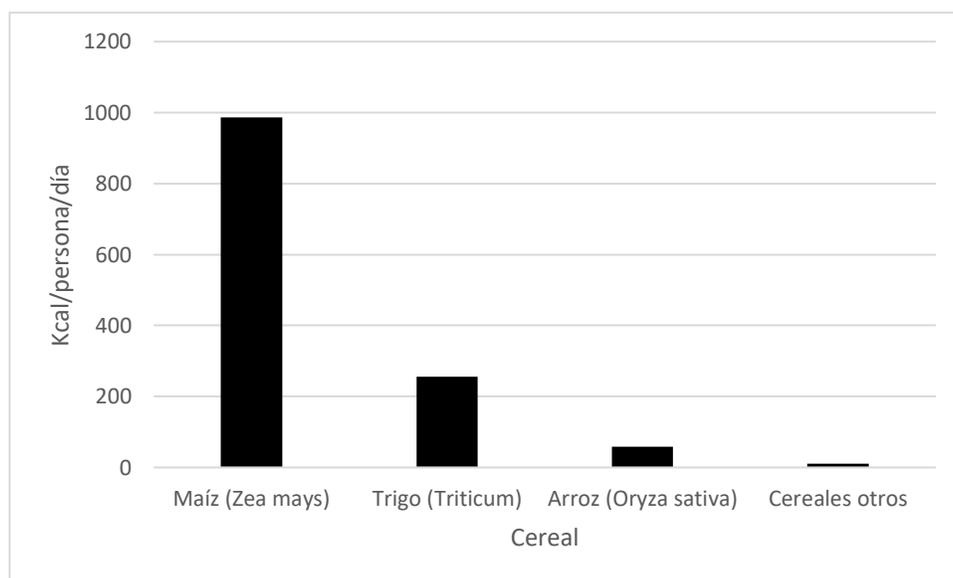


Figura 6. Suministro de energía de cada cereal (Kcal/persona/día) (FAOSTAT, 2013).

Actualmente, este alimento es destinado a consumo humano debido a su alto valor nutricional, que va desde el energético hasta lo proteico, aportando alrededor de 59 kcal/persona/día y 1.17 gr/persona/día, respectivamente. Sin embargo, también es utilizado para el consumo animal (salvado o harina), fabricación de alimentos destinados a animales (cascarilla) y destinado a la industria cervecera (granillo) (SAGARPA, 2017).

2.2.5 Composición nutricional

El arroz es uno de los cereales mayormente consumidos a nivel mundial y nacional, el cual aporta numerosos beneficios. Presenta un contenido elevado de carbohidratos, bajo contenido en grasa, sal y no contiene colesterol, es un excelente recurso de proteínas y minerales (USDA, 2017), contiene grandes cantidades de vitaminas del complejo B, especialmente tiamina, riboflavina y niacina, y, además, contiene numerosos compuestos fenólicos (tabla 5) (Cho & Lim, 2016; Ravichanthiran et al., 2018).

Tabla 5. Composición nutricional arroz integral (*Oryza sativa*)

Componente	Cantidad (por cada 100 g)
Energía (Kcal)	360
Lípidos (g)	0.58
Cenizas (g)	0.58
Carbohidratos (g)	79.34
Proteínas (g)	6.61
Tiamina (mg)	0.578
Riboflavina (mg)	0.048
Niacina (mg)	5.093

Fuente: USDA DATABASE (2017).

2.2.5.1 Proteínas: propiedades nutricionales y fisicoquímicas

A pesar de que el contenido proteico del arroz sea bajo, es uno de los alimentos que más contribuye al consumo de proteínas debido a su amplio consumo a nivel mundial. Además, se ha considerado ser nutricionalmente equivalente a las proteínas de procedencia animal, con la ventaja de que las proteínas del arroz son hipoalergénicas, de bajo costo e inocuo para el consumo humano (Shih, 2003b).

La fracción que posee un mayor contenido de proteínas es el salvado de arroz, con un aproximado de 12 % (tabla 6), sin embargo, esta fracción no es destinada al consumo humano, ya que es eliminado durante el procesamiento, siendo principalmente utilizado para el consumo animal (Shih, 2003b).

Tabla 6. Contenido aproximado de proteínas en arroz entero.

Fracción del arroz	Proteínas crudas (g N x 5.95)
Arroz con cascara	5.6-7.7
Arroz integral	7.1-8.3
Arroz blanco	6.3-7.1
Salvado de arroz	11.3-14.9
Cáscara de arroz	2.0-2.8

Fuente: Shih (2003b)

La composición proteica de este cereal consta principalmente de glutelina, fracción soluble en álcali y ácido, y prolamina, fracción soluble en alcohol, constituyendo alrededor del 80% y 7.5%, respectivamente (Adebisi, Adebisi, Hasegawa, Ogawa, & Muramoto, 2009; Tanaka, Sugimoto, Ogawa, & Kasai, 1980). Estas dos proteínas, junto con las albuminas, fracción soluble en agua, y globulinas, fracción soluble en sal, representan el contenido total de proteínas del arroz, las cuales se localizan en diferentes partes del endospermo y precisamente, en la cascarilla (Amagliani, O'Regan, Kelly, & O'Mahony, 2017; Shih, 2003b).

En la tabla 7 se muestra la composición aminoacídica de cada fracción proteica del grano de arroz. Se observa que el aminoácido lisina, aminoácido limitante en cereales, treonina e histidina se encuentran en mayor concentración en la fracción de la albúmina, fracción proteica encontrada predominantemente en el salvado de arroz, fracción no destinada al consumo humano. Por otro lado, la proteína

prolamina contiene los niveles más bajos del aminoácido lisina, no obstante, contiene los niveles más altos de fenilalanina, isoleucina y leucina. La fracción globulina contiene las mayores cantidades de los aminoácidos cisteína y metionina (Amagliani et al., 2017).

Tabla 7. Perfil de aminoácidos de las fracciones proteicas de arroz (*Oryza sativa*) (g AA por 16 g N)

Aminoácido	Albúmina	Globulina	Glutelina	Prolamina
Alanina	7.1-8.5	5.6-6.3	5.6-5.9	6.7-7.6
Arginina	7.9-10	7.2-14	9.0-11	6.1-9
Ácido aspártico	10-11	7.1-14	10-11	8.3-8.7
Cisteína	1.9-2.3	3.3-4.0	1.2-1.8	Traza-0.8
Ácido glutámico	13-18	17-19	19-21	23-33
Glicina	6.3-8.4	5.8-6.4	4.3-5.3	3.0-3.7
Histidina	2.9-3.4	1.7-2.7	2.6-2.7	1.3-2.1
Isoleucina	3.5-3.8	2.4-4.1	4.3-4.7	4.6-5.2
Leucina	6.6-8.0	6.6-8.0	7.3-9.3	13-15
Lisina	5.1-6.4	1.9-3.7	2.7-4.5	0.3-1.2
Metionina	1.9-2.1	3.0-5.4	2.0-3.1	0.5-0.9
Fenilalanina	3.7-4.6	3.3-4.8	5.4-6.0	5.8-6.7
Prolina	4.5-7.1	3.8-7.5	4.9-6.2	5.0-6.7
Serina	4.2-5.4	5.5-6.5	4.5-6.2	4.2-6.1
Treonina	4.2-5.2	2.5-2.7	2.8-5.1	2.5-2.8
Tirosina	4.4-5.1	5.5-6.3	5.3-5.5	9.2-9.8
Valina	5.9-7.8	5.4-6.5	6.3-6.9	6.5-7.1

Fuente: (Amagliani et al., 2017)

La utilización de la proteína proveniente del arroz está en función de las propiedades funcionales que posee. Los factores que afectan estas propiedades dependen de la naturaleza y la interacción de estas con otros componentes de la matriz del alimento. Para que la proteína presente una funcionalidad en la industria alimentaria, debe de presentar buenas propiedades de solubilidad, estabilidad al calor, capacidad de absorción de agua y de aceite (Amagliani et al., 2017).

Una de las principales propiedades funcionales que posee este cereal es su buena capacidad de absorción de agua, lo cual es esencial para la reducción de pérdida de humedad en alimentos horneados, mantener fresca y aumentar la sensación del alimento en la boca (Chandi & Sogi, 2007). De la misma manera, presenta buena

capacidad de absorción de aceite, característica importante para la retención del sabor de ciertos alimentos (Cao, Wen, Li, & Gu, 2009).

Por otro lado, al someter las proteínas de arroz a enzimas hidrolíticas, provoca diversos cambios conformacionales en este, lo que causa que adquiera diferentes características fisicoquímicas que favorecen las propiedades funcionales, tal como espumabilidad, capacidad emulsificante y solubilidad. (Thamnarathip, Jangchud, Jangchud, & Vardhanabhuti, 2016).

Además, la baja solubilidad que presenta las proteínas sin hidrolizar provenientes del arroz puede ser utilizados en la incorporación de alimentos que no requieren alta solubilidad, tal como análogos de carnes, alimentos horneados, cereales para desayuno, barras de proteínas y alimentos para mascotas. Por otro lado, el incremento de la solubilidad al someter a las proteínas a hidrólisis, lo hace ideal para la incorporación en alimentos como salsas, aderezos para ensaladas, cremas para café, fortificación de bebidas, productos de nutrición enteral y parenteral y en la producción de fármacos (Amagliani et al., 2017).

A pesar de que las proteínas provenientes de este vegetal presenta características peculiares, el interés de las industrias e investigadores es limitada debido a que el contenido de proteínas en arroz es mínimo, y además, tiene una baja solubilidad en agua, lo que hace difícil su extracción y aplicación (Tran et al., 2018).

Shih (2003) reportó que las proteínas pueden ser fácilmente desnaturizadas por medio de tratamiento térmico. Sin embargo, en un análisis realizado por Zhao et al. (2014), se encontró que a pesar de desnaturizarse fácilmente durante el procesamiento, estas proteínas presentan una alta estabilidad al calor, por medio de un reordenamiento estructural de las proteínas desnaturizadas. Incluso, la estabilidad térmica de este compuesto es mayor que otros vegetales, por lo que es ampliamente utilizada en productos específicos que requieren altas temperaturas durante su procesamiento.

III. Sobrepeso y obesidad: generalidades

En la *Norma Oficial Mexicana para el Manejo Integral de la Obesidad* (NOM-008-SSA3-2010), define a la obesidad como "la enfermedad caracterizada por un exceso de tejido adiposo en el organismo". La presencia de sobrepeso y obesidad representa un factor de riesgo que incrementa la morbilidad y mortalidad. Incluso en el siglo IV A.C. Hipócrates afirmó que: "*La muerte súbita es más común en aquellos que son naturalmente gordos que en los delgados*".

Esta adiposidad es de etiología multifactorial, en el que intervienen factores genéticos, sociales, metabólicos, conductuales, psicológicos y moleculares, Siendo principalmente, el consumo excesivo de energía, acompañado a un bajo gasto energético, el principal causante de la alta incidencia de este padecimiento.

Debido a que el grado de adiposidad es una variable continua, se han determinado medidas antropométricas que presenten una relación con el volumen de grasa corporal. Tal es el caso del índice de Masa Corporal (IMC), el cual se ha definido como un estado de sobrepeso en valores por encima de 25, así como también, se ha determinado que valores de 30 o más es clasificado como obesidad (Pasco et al., 2012).

En la mayoría de los estudios grandes, bien diseñados y prospectivos, se han encontrado que hay una menor morbilidad y mortalidad en individuos con un IMC comprendido entre 20 a 25. De igual manera, en estos estudios se han reportado que el riesgo de presentar enfermedades relacionadas al exceso de tejido adiposo, se hacen presentes de manera paulatina por encima de un IMC de 25, registrando un aumento entre el 50 al 100% de riesgo de mortalidad y/o morbilidad comparado con las personas que presentan un IMC normal (Abernathy & Black, 1996; Adams et al., 2006) (Figura 7).

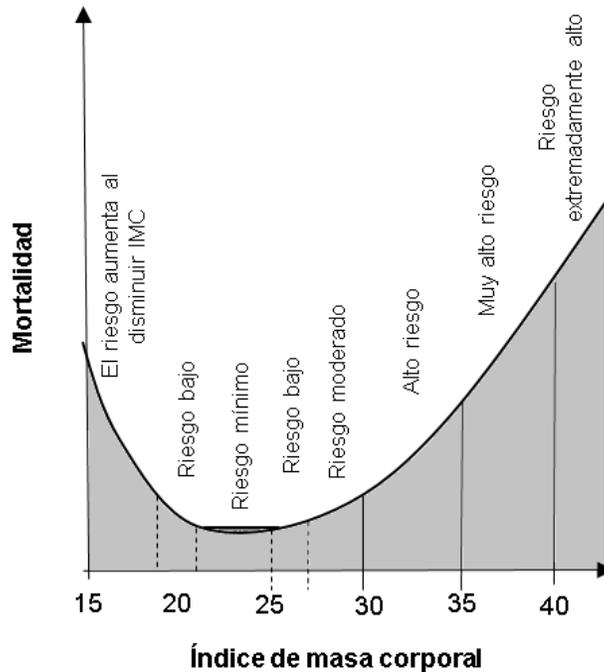


Figura 7. Relación masa corporal y mortalidad (Casanueva, Kaufer-Horwitz, Perez-Lizaur, & Arrollo, 2001)

Por lo tanto, aunado a los problemas sanitarios que conlleva el exceso de masa grasa, en los últimos años ha emergido investigaciones que estudian el efecto que posee, en la fisiología del adipocito diferentes componentes alimentarios (Hruby et al., 2016).

Debido a las numerosas funciones metabólicas que presenta el tejido adiposo blanco, la disfunción celular, causada frecuentemente por el crecimiento hipertrófico, hiperplásico o ambos, estado frecuentemente observado en individuos con obesidad, se ha considerado como el principal factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones metabólicas e incremento de riesgo cardiovascular (Q. A. Wang et al., 2014).

Por lo tanto, aunado a la alta incidencia de sobrepeso y obesidad y el papel clave que presenta en la patogénesis en diversas enfermedades, se ha visto necesario la detección de péptidos bioactivos en el proceso de adipogénesis en tejido adiposo. Para ese propósito, se han utilizado ampliamente métodos *in silico* como herramienta de simulación para la medición de afinidad de ligandos a proteínas

claves de la adipogénesis, tal como el receptor nuclear factor de proliferación de peroxisomas gamma (PPAR- γ).

IV. Generalidades de PPAR- γ

Factor de proliferación de peroxisomas (PPARs) son un grupo de receptores nucleares esenciales para la regulación de varios procesos fisiológicos, tales como diferenciación celular, tumorigénesis y el metabolismo energético de proteínas, grasas y carbohidratos. Existen tres isoformas diferentes, PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ , cuyas funciones están integradas dentro de la regulación del metabolismo de la glucosa y de lípidos (figura 8). Dentro de las funciones que realiza PPAR α se encuentran la regulación del catabolismo de ácidos grasos en hígado. PPAR β/δ se encarga de la regulación del metabolismo lípidos y de glucosa, así como también en la regulación del proceso inflamatorio (Palomer et al., 2018). Por último, se encuentra PPAR γ , encargada de la regulación de la expresión genética de enzimas involucradas en el almacenamiento de ácidos grasos en tejido adiposo, tales como acil-CoA sintasa, lipoproteína lipasa y fosfoenol piruvato carboxiquinasa (de Sá et al., 2017).

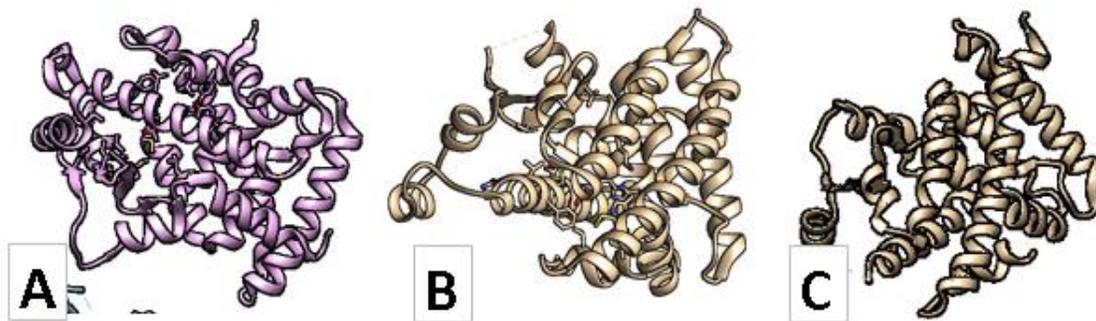


Figura 8. Estructura de las tres isoformas de PPARs. A. PPAR α , B. PPAR β/δ , C. PPAR γ (Berman et al., 2000)

Debido a la actividad que presenta PPAR γ en la lipogénesis, diferenciación de adipocito, proliferación celular y sensibilidad a la insulina (figura 9), se ha visto como un blanco terapéutico para el tratamiento de trastornos metabólicos tales como diabetes, inflamación, dislipidemias, hipertensión y cáncer. Por otra parte, se ha

reportado en estudios con modelos animales, que al ser eliminado el gen *ppary* en tejido adiposo produce un efecto protector en el desarrollo de enfermedades vinculadas con el sobrepeso y obesidad al ser expuestos a una ingesta alimentaria con alto contenido de grasas (Jones et al., 2005). Incluso, un grupo de medicamentos son utilizados clínicamente como ligandos activadores de PPAR γ para el tratamiento de hiperglucemia en diabetes tipo 2 y para la estimulación de la adipogénesis (Choi et al., 2014). Sin embargo, a pesar de su efectividad clínica, el consumo de este grupo de medicamentos se ha visto acompañado de efectos adversos tales como ganancia de peso, edema e insuficiencia cardiaca congestiva (Lebovitz, 2019).

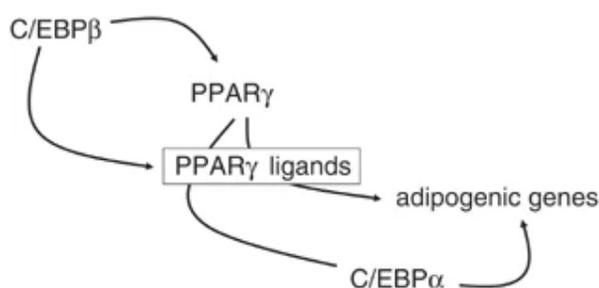


Figura 9. Expresión y actividad de PPAR γ . Por medio de exposición de hormonas adipogénicas, C/EBP β induce la expresión de PPAR γ permitiendo la producción de ligandos de PPAR γ , activando la expresión de genes proadipogénicos (Xue et al., 2020).

Estos descubrimientos han impulsado la búsqueda de agentes naturales que presenten efectos antagonistas o agonistas parciales en PPAR γ , esperando que estos compuestos puedan ser utilizados para el tratamiento de diferentes enfermedades crónico degenerativas derivadas de un crecimiento anormal del tejido adiposo con mínimos efectos adversos.

Dentro de estos se han encontrado diversos resultados que indican un efecto estimulante de la lipólisis, aumento de la sensibilidad a la insulina y efectos antiinflamatorios por parte de proteínas hidrolizadas provenientes de soya (*Glycine max*) (Kwak et al., 2016; Trayhurn, 2014; Tsou et al., 2013). De igual manera, se ha reportado en estudios a nivel *in vitro* que proteínas hidrolizadas provenientes del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) tiene el potencial de aumentar la sensibilidad a la insulina, a través de la modulación y expresión de transportadores de glucosa, y

la capacidad de disminuir la vía de la adipogénesis (Oseguera Toledo, Gonzalez de Mejia, Sivaguru, & Amaya-Llano, 2016).

Esto nos indica la actividad en tejido adiposo que presentan diversos péptidos procedentes de proteínas vegetales; Sin embargo, existe escases de información en lo referente a péptidos procedentes de proteínas de chícharo y arroz y su actividad en adipogénesis.

Esta escasez de información ha provocado el uso de métodos bioinformáticos para la detección de compuestos bioactivos de una manera rápida, confiable y económica. PPAR γ es la principal proteína estudiada para la identificación de compuestos antiobesogénicos en estudios *in silico* (tabla 8), y se ha visto que la unión de ligandos a los residuos de aminoácidos del receptor Phe264, His266, Ile281, Cys285, Arg288, Ser289, Met348 e His449 ejerce efectos antagonistas en adipogénesis (Aranaz et al., 2019; Ye et al., 2006). Por lo tanto, con el uso de la bioinformática es posible la detección de moléculas con potencial actividad antiadipogénica procedente de la hidrólisis de proteínas de chícharo y arroz mediante el uso de enzimas proteolíticas digestivas pepsina, tripsina y quimotripsina, los cuales tienen diferentes sitios de corte dentro de la proteína. Brevemente, Pepsina, la mayor enzima proteolítica producido por el estómago, sus sitios de corte son fenilalanina, leucina y ácido glutámico del lado carboxilo terminal. Por otro lado, los sitios de corte de la enzima quimotripsina son enlaces peptídicos en el lado carbono terminal de tirosina, fenilalanina, triptófano y leucina. Por último, la enzima tripsina preferentemente corta en el lado carbono terminal de los residuos lisina y arginina (Minkiewicz et al., 2019; Van Spaendonk et al., 2017).

Tabla 8. Mayores receptores estudiados en la identificación de ligandos anti-obesogénicos.

Numero	Receptor	Estudios reportados
1	Factor de proliferación de peroxisomas gamma	53
2	Receptor de leptina	1
3	Coactivador de receptor nuclear 1	8
4	Coactivador de receptor nuclear 2	3
5	Alfa-cetoglutarato dependiente dioxigenasa FTO	16
6	Amilasa Alpha pancreática	10
7	Receptor de ácido retinoico RXR-alpha	4
8	Lectina 5 similar a Ig que se une al ácido siálico	3
9	Factor de proliferación de peroxisomas gamma	1
10	Corticosteroide 11-beta-deshidrogenasa isoenzima 1 53	4

Fuente: (Kumar, 2019)

V. Justificación

En México, el arroz y el chícharo son dos alimentos vegetales altamente consumidos por la población mexicana, donde a pesar de no ser originarios de México, han sido considerados como un alimento básico en nuestro país. En ambos casos, el aislado proteico se ha obtenido comercialmente debido a que la industria alimentaria los utiliza en la elaboración de diversos productos.

A pesar de que el arroz es un alimento con bajo contenido de proteínas, es uno de los alimentos que más contribuye a la ingesta proteica, debido a su amplio consumo a nivel mundial. Tiene la ventaja de ser hipoalergénico, de bajo costo e inocuo para el consumo humano (Shih, 2003b). Asimismo, las leguminosas, como el chícharo, ha destacado por su alto contenido de proteínas y, de igual manera, por su inocuidad (Rubio et al., 2014).

Existe evidencia científica que relaciona los componentes proteicos de chícharo y arroz con actividad antidiabética, antihipercolesterolemica y antioxidante (Rungruangmaitree & Jiraungkoorskul, 2017; Yang et al., 2012). Proveyendo información de que las proteínas provenientes de estos dos vegetales tienen diversas funciones fisiológicas.

Por otro lado, las estadísticas a nivel nacional señala que alrededor del 70% de la población mexicana padece sobrepeso y obesidad (Ávila et al., 2016), alcanzando niveles epidémicos, a su vez, predisponiendo al desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas no transmisibles.

Por lo tanto, debido a que el factor dietético es el componente principal de la patogénesis del sobrepeso (Kroker-Lobos, Pedroza-Tobías, Pedraza, & Rivera, 2014), y a la poca información existente en la literatura científica con respecto el efecto de proteínas hidrolizadas de chícharo y arroz en la adipogénesis, se propone evaluar el efecto antiadipogénico *in silico* de péptidos bioactivos de chícharo y arroz, liberados por medio de enzimas proteolíticas y su afinidad al receptor nuclear PPAR- γ , de suma importancia en la adipogénesis. .

VI. Hipótesis

Los hidrolizados proteicos de chícharo (*Pisum sativum*) y arroz (*Oryza sativa*) generan ligandos antagonistas de PPAR γ in silico

VII. Objetivo general

1. Determinar la presencia de ligandos de PPAR γ con actividad antagonistas en los hidrolizados proteicos de chícharo (*Pisum sativum*) y arroz (*Oryza sativa*) in silico.

VIII. Objetivos específicos

1. Determinar la digestibilidad in silico de la fracción proteica de chícharo (*Pisum sativum*) y arroz (*Oryza sativa*).
2. Medir la energía de unión ligando-receptor de los hidrolizados proteicos in silico de chícharo y arroz y el receptor PPAR-gamma.
3. Analizar los enlaces intermoleculares formados de ligando-receptor.

IX. Metodología

9.1 Tabla de operacionalización de variables

Tabla 9. Tabla de operacionalización de variables

Variable	Tipo	Unidad de medida	Instrumento de medición
Determinación de la fracción hidrolizada	Independiente		BIOPEP-UWM
Afinidad	Dependiente	Kcal/mol	HPEPDOCK
Energía de unión ligando-receptor	Dependiente	kcal/mol	Autodock Tools

9.2 Diseño del estudio

Diseño de estudio experimental, descriptivo, analítico y transversal.

9.3 Población de estudio

Para la realización de esta investigación se utilizó metodología *in silico* para la detección de péptidos liberados de hidrólisis con enzimas proteolíticas y el análisis de energía de unión receptor-ligando mediante el software Autodock tools.

9.4 Esquema general de trabajo

En la figura 10 se presenta el esquema general de la investigación y los objetivos específicos planteados para cada paso. La metodología del proceso digestivo utilizada en esta investigación fue basada por Yao, Luo, & Zhang. (2020) y la metodología utilizada para la detección de los enlaces intermoleculares y las energías de unión fue por medio de Ye et al. (2006). Primeramente, se realizó un proceso proteolítico *in silico* con enzimas gastrointestinales (pepsina, tripsina y quimotripsina). Se utilizaron los péptidos hidrolizados con una longitud de 2 a 5 aminoácidos para la medición de afinidad con el receptor PPAR γ (código PDB: 3v9v). Finalmente, los péptidos con un valor de afinidad menor -160 puntos de vinculación fueron considerados como moléculas con alta afinidad, por lo que estos oligopéptidos fueron utilizados para el análisis de ligando-receptor PPAR γ en autodock tool (ADT 4.0). Como control se utilizó la molécula GW9662 y G3335, el cual se ha demostrado su efecto antagónico en contra de PPAR γ en estudios *in silico* e *in vitro*.

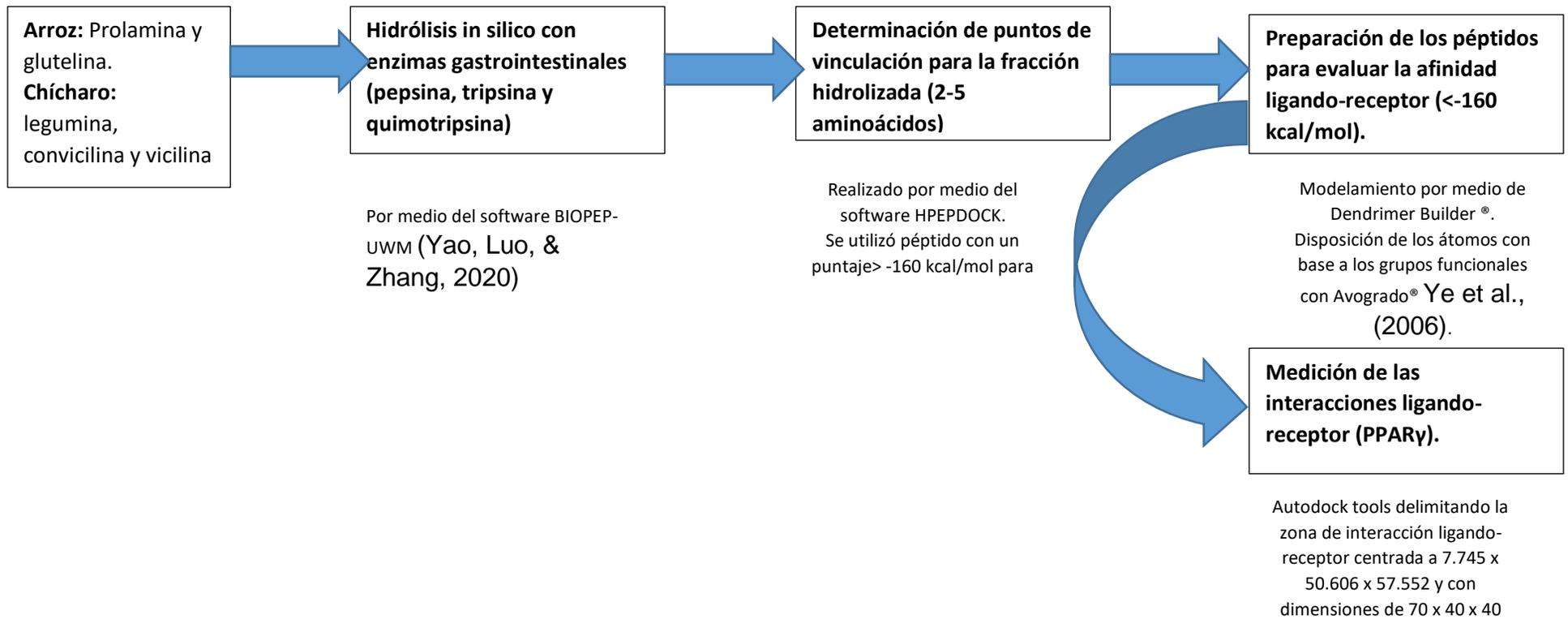


Figura 10. Esquema general de investigación.

9.5 Procedimiento

9.5.1 Proteínas vegetales

BIOPEP-UWM

BIOPEP-UWM es una base de datos de acceso libre que se ha utilizado ampliamente para la búsqueda de péptidos, especialmente aquellos derivados de alimentos y de constituyentes dietéticos, con potencial bioactividad para el tratamiento y prevención de enfermedades crónicas. De igual manera, se utiliza para la realización de proteólisis enzimáticas de proteínas *in silico* (Minkiewicz et al., 2019).

En este estudio, las fracciones proteicas principales procedentes del arroz (prolamina (ID:1153) y glutelina (ID: 1536)) y chícharo (legumina (ID: 1503), convicilina (ID: 1491) y vicilina (ID: 1237)) fueron sometidas a un proceso proteolítico con enzimas digestivas: pepsina (EC 3.4.23.1), quimotripsina (EC 3.4.21.1) y tripsina (EC 3.4.21.4).

Finalmente se realizó el análisis de afinidad de los péptidos liberados (longitud de entre 2 a 5 residuos de aminoácidos) en el receptor PPAR γ (código: 3v9v) utilizando el programa informático HPEPDOCK server.

HPEPDOCK SERVER

Debido a que alrededor del 40% de las interacciones proteicas son mediados por péptidos cortos, el conocimiento sobre la energía de unión que presentan oligopéptidos hacia diferentes proteicas ha sido clave para el entendimiento de procesos fisiológicos importantes (Petsalaki & Russell, 2008). Por lo tanto, HPEPDOCK es una herramienta bioinformática ampliamente utilizada el cual mide de una manera confiable la afinidad que presentan péptidos pequeños con proteínas, tomando en consideración factores fisicoquímicos que podrían interferir con la interacción péptido-proteína (Zhou et al., 2018).

HPEPDOCK server fue utilizado en el presente proyecto con el propósito de medir el grado de energía de afinidad que presentan estos compuestos en regiones del receptor nuclear PPAR γ que se ha visto involucrada en la modulación y/o antagonismo del proceso adipogénico.

Posteriormente, péptidos con valores de vinculación por debajo de -160 kcal/mol fueron convertidos a formatos SMILES (*Simplified molecular-input line-entry system*, por sus siglas en inglés) y modelados utilizando los programas Dendrimer Builder y Avogrado, respectivamente. Para finalmente realizar un análisis de afinidad y puntos de unión ligando-receptor de dichos péptidos mediante el software AUTODOCK 4.

AUTODOCK 4

Autodock 4 es un programa informático que se utiliza para conocer la interacción ligando-receptor y para el descubrimiento y desarrollo de fármacos. Este programa se basa en las diferentes conformaciones que puede tomar el ligando, los sitios y la energía de unión que este presenta en el receptor (Forli et al., 2016).

De igual manera, Autodock 4 se utilizó para modelar los péptidos resultantes de la digestión y el receptor nuclear PPAR γ . Átomos de hidrógenos fueron agregadas al receptor. Cargas de Kollman y de Gasteiger fueron agregadas al receptor y a los ligandos, respectivamente. Posterior a las modificaciones fisicoquímicas realizadas, ambas moléculas fueron guardadas en formato PDBQT para su posterior análisis en Autodock Tool. Se empleó una zona de interacción centrada a 7.745 x 50.606 x 57.552 y con dimensiones de X= 70, Y=40 y Z=40 con un espaciamiento de 0.375 angstroms (figura 11).. Para finalmente observar los puntos de uniones intermoleculares y sus energías de unión ligando-receptor (figura12) (Gupta et al., 2017; Ye et al., 2006).

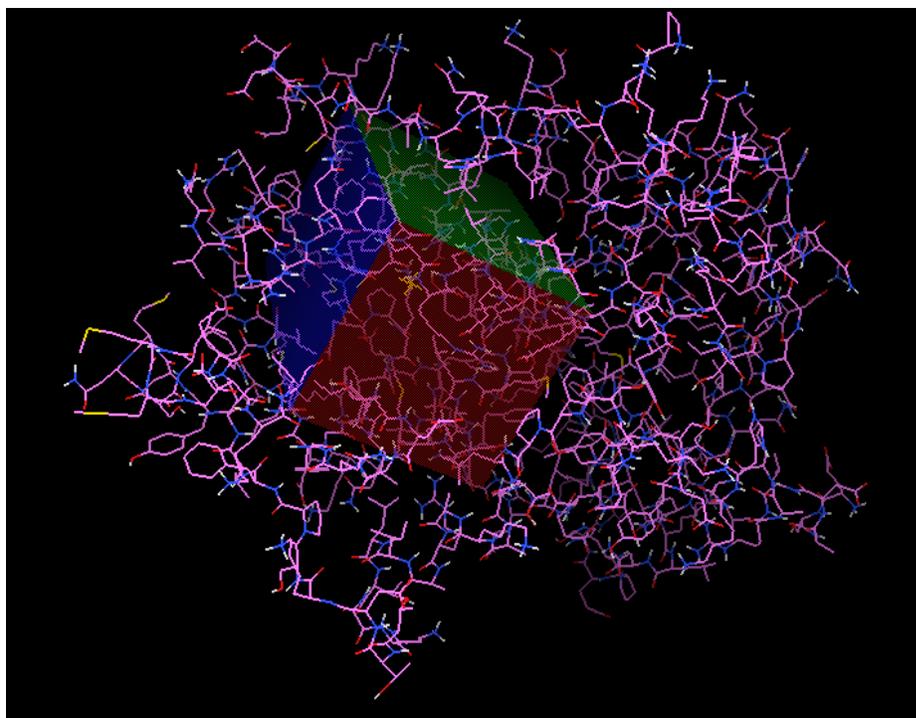


Figura 11. Sitio de la región activa de PPAR γ (ADT 4.0).

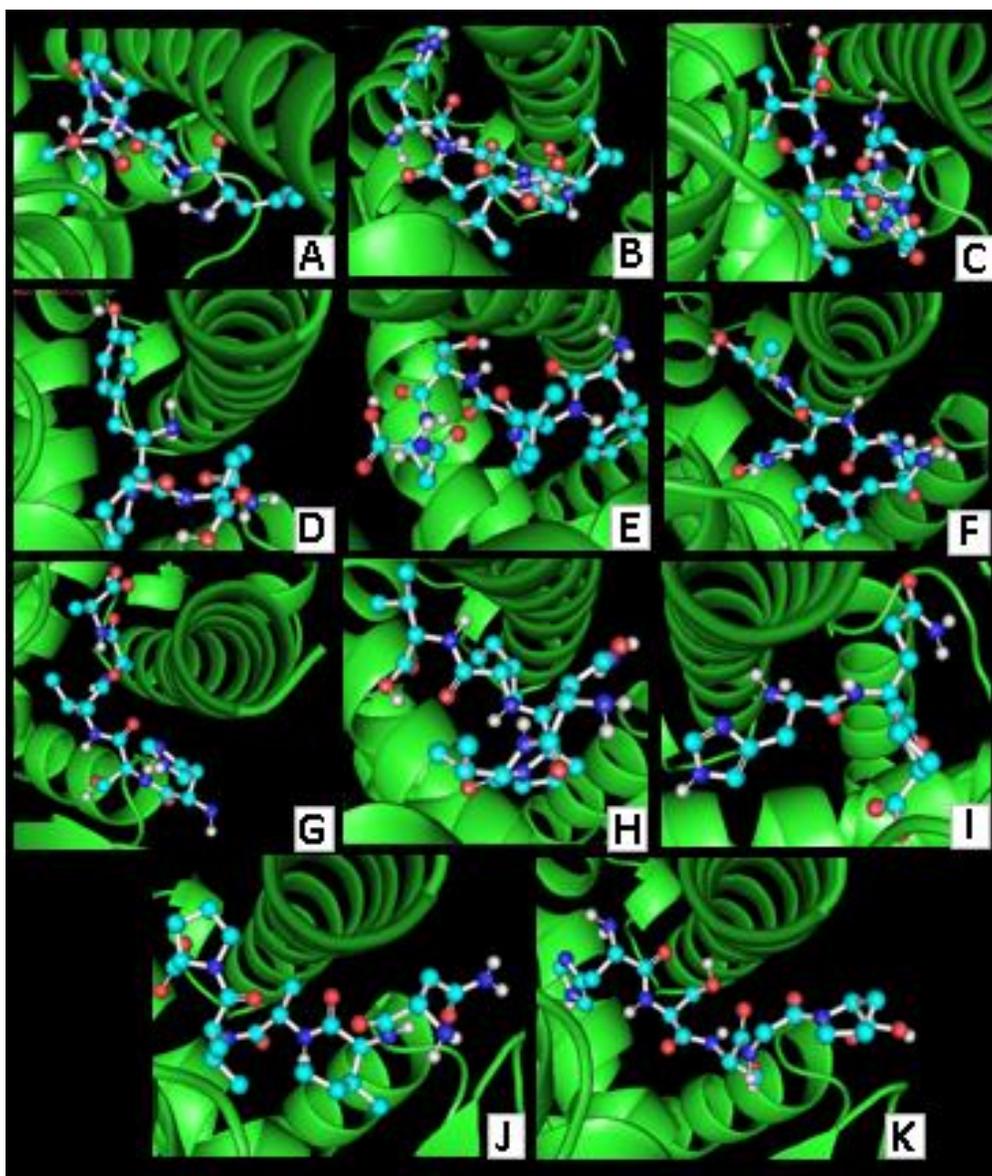


Figura 12. Complejo ligando-receptor. Arroz (glutelina ((A) PIVF, (B) IVPQH, (C)IIQGR)), prolamina ((D)AQTF, (B)AAVSH)), Chícharo (legumina ((E)AQTF, (F)AAVSH), convicilina ((G)VIPVN, (H)PQH), vicilina ((I)PVAIN, (J)PGSSH)).

9.6 Ética

La presente investigación no plantea ningún aspecto ético ya que se trabajó con softwares informáticos.

9.7 Bioseguridad

La presente investigación no plantea aspectos de bioseguridad debido a que la metodología *in silico* utilizada en la presente investigación no presenta ningún riesgo.

X. Resultados

10.1 Proteolisis *in silico* de proteínas vegetales

El proceso de hidrólisis se realizó por medio del software BIOPEP UWM en el cual fueron sometidas las principales fracciones proteicas de cada vegetal a las enzimas proteolíticas digestivas pepsina, quimotripsina y tripsina. Fueron analizadas 2 y 3 fracciones para el arroz y chícharo, respectivamente, obteniéndose un total de 768 péptidos liberados (tabla 10).

En el caso del arroz, las fracciones glutelina y prolamina fueron utilizadas para el proceso proteolítico, obteniéndose un total de 127 oligopéptidos liberados, 85 fracciones para la glutelina y 42 para la prolamina. Por otro lado, para el caso del chícharo se obtuvieron un total de 543 péptidos liberados, siendo 126, 244 y 173 péptidos para las fracciones de legumina, convicilina y vicilina, respectivamente.

La cantidad de compuestos resultantes del proceso proteolítico de las fracciones glutelina y prolamina, de mayor a menor, comprenden aminoácidos libres, péptidos con una longitud entre 2 a 5 residuos y, finalmente, las fracciones con una longitud mayor a 5 aminoácidos. Por otro lado, para las fracciones de legumina, vicilina y convicilina provenientes del chícharo se obtuvieron en mayor cantidad péptidos con una longitud de entre 2 a 5 aminoácidos, seguido de aminoácidos libres y, por último, en menor cantidad, péptidos con una longitud mayor a 5 residuos (tabla 11).

Tabla 10. Péptidos liberados del proceso de hidrólisis *in silico*.

Fuente	Proteína	Fracciones hidrolizadas
Arroz	Glutelina	M - ASIN - R - PIVF - F - TVCL - F - L - L - CDGSL - AQQL - L - GQSTSQW - QSSR - R - GSPR - GCR - F - DR - L - QAF - EPIR - SVR - SQAGTTF - F - DVSN - EL - F - QCTGVSVVR - R - VIEPR - GL - L - L - PH - Y - TN - GASL - VY - IIQGR - GITGPTF - PGCPEY - QQQF - QQSGQAQL - TESQSQSH - K - F - K - DEH - QK - IH - R - F - R - QGDVIAL - PAGVAH - W - CY - N - DGEVPPVAIY - VTDIN - N - GAN - QL - DPR - QR - DF - L - L - AGN - K - R - N - PQAY - R - R - EVEEW - SQN - IF - SGF - STEL - L - SEAF - GISN - QVAR - QL - QCQN - DQR - GEIVR - VER - GL - SL - L - QPY - ASL - QEQQGQM - QSR - EH - Y - QEGGY - QQSQY - GSGCPN - GL - DETF - CTM - R - VR - QN - IDN - PN - R - ADTY - N - PR - AGR - VTN - L - N - SQN - F - PIL - N - L - VQM - SAVK - VN - L - Y - QN - AL - L - SPF - W - N - IN - AH - SIVY - ITQGR - AQVQVFN - N - N - GK - TVF - N - GEL - R - R - GQL - L - IVPQH - Y - VVVK - K - AQR - EGCAIY - IAF - K - TN - PN - SM - VSH - IAGK - SSIF - R - AL - PTDVL - AN - AY - R - ISR - EEAQR - L - K - H - N - R - GDEF - GAF - TPL - QY - K - SY - QDVY - N - VAESS
	Prolamina	M - K - IIF - F - F - AL - L - AEAACSASAQF - DAVTQVY - R - QY - QL - QQQM - L - SPCGEF - VR - QQCSTVATPF - F - QSPVF - QL - R - N - CQVM - QQCCQQL - R - M - IAQQSH - CQAISVQAIQQ - QL - QQF - SGVY - F - DQAQAQAM - L - GL - N - L - PSICGIY - PSY - N - TVPEIPTVGGIW - Y
Chícharo	Vicilina	SR - SDQEN - PF - IF - K - SN - R - F - QTL - Y - EN - EN - GH - IR - L - L - QK - F - DK - R - SK - IF - EN - L - QN - Y - R - L - L - EY - K - SK - PH - TL - F - L - PQY - TDADF - IL - VVL - SGK - ATL - TVL - K - SN - DR - N - SF - N - L - ER - GDAIK - L - PAGTIAY - L - AN - R - DDN - EDL - R - VL - DL - AIPVN - K - PGQL - QSF - L - L - SGTQN - QPSL - L - SGF - SK - N - IL - EAAF - N - TN - Y - EEIEK - VL - L - EQQEPEPQH - R - R - SL - K - DR - R - QEIN - EEN - VIVK - VSR - EQIEEL - SK - N - AK - SSSK - K - SVSSESGPF - N - L - R - SR - N - PIY - SN - K - F - GK - F - F - EITPEK - N - QQL - QDL - DIF - VN - SVDIK - EGSL - L - L - PN - Y - N - SR - AIVIVTTEGK - GDF - EL - VGQR - N - EN - QGK - EN - DK - EEEQEEETS - QVQL - Y - R - AK - L - SPGDVF - VIPAGH - PVAIN - ASSDL - N - L - IGF - GIN - AEN - N - ER - N - F - L - AGEEDN - VISQVER - PVK - EL - AF - PGSSH - EVDR - L - L - K - N - QK - QSY - F - AN - AQPL - QR - E
	Convicilina	M - ATTVK - SR - F - PL - L - L - F - L - GIIF - L - ASVCVTY - AN - Y - DEGSETR - VPGQR - ER - GR - QEGEK - EEK - R - H - GEW - R - PSY - EK - EEH - EEEK - QK - Y - R - Y - QR - EK - K - EQK - EVQPGR - ER - W - ER - EEDEEQVEEW - R - GSQR - R - EDPEER - AR - L - R - H - R - EER - TK - R - DR - R - H - QR - EGEEER - SSESQEH - R - N - PF - L - F - K - SN - K - F - L - TL - F - EN - EN - GH - IR - R - L - QR - F - DK - R - SDL - F - EN - L - QN - Y - R - L - VEY - R - AK - PH - TIF - L - PQH - IDADL - IL - VVL - N - GK - AIL - TVL - SPN - DR - N - SY - N - L - ER - GDTIK - IPAGTTSY - L - VN - QDDEEDL - R - VVDF - VIPVN - R - PGK - F - EAF - GL - SEN - K - N - QY - L - R - GF - SK - N - IL - EASL - N - TK - Y - ETIEK - VL - L - EEQEK - K - PQQL - R - DR - K - R - TQQGEER - DAIK - VSR - EQIEEL - R - K - L - AK - SSSK - K - SL - PSEF - EPF - N - L - R - SH - K - PEY - SN - K - F - GK - L - F - EITPEK - K - Y - PQL - QDL - DIL - VSCVEIN - K - GAL - M - L - PH - Y - N - SR - AIVVL - L - VN - EGK - GN - L - EL - L - GL - K - N - EQQER - EDR - K - ER - N - N - EVQR - Y - EAR - L - SPGDVVIIPAGH - PVAISSASN - L - N - L - L - GF - GIN - AK - N - N - QR - N - F - L - SGSDDN - VISQIEN - PVK - EL - TF - PGSSQEVN - R - L - IK - N - QK - QSH - F - ASAEPEQK - EEESQR - K - R - SPL - SSVL - DSF - Y
	Legumina A	L - R - EQPEQN - ECQL - ER - L - N - AL - EPDN - R - IESEGGL - IETW - N - PN - N - K - QF - R - CAGVAL - SR - ATL - QH - N - AL - R - R - PY - Y - SN - APQEIF - IQQGN - GY - F - GM - VF - PGCPEY - EEPQESEQGEGR - R - Y - R - DR - H - QK - VN - R - F - R - EGDIIAVPTGIVF - W - M - Y - N - DQDTPVAVSL - TDIR - SSN - N - QL - DQM - PR - R - F - Y - L - AGN - H - EQEF - L - R - Y - QH - QGGK - QEEN - EGN - N - IF - SGF - K - R - DF - L - EDAF - N - VN - R - H - IVDR - L - QGR - N - EDEEK - GAIVK - VK - GGL - SIISPPEK - QAR - H - QR - GSR - QEEDEDEDEER - QPR - H - QR - GSR - QEEDEDEDEER - QPR - H - QR - R - R - GEEEEEK - K - ER - R - GSQK - GK - SR - R - QGDN - GL - EETVCTAK - L - R - L - N - IGPSSSPDIY - N - PEAGR - IK - TVTSL - DL - PVL - R - W - L - K - L - SAEH - GSL - H - K - N - AM - F - VPH - Y - N - L - N - AN - SIY - AL - K - GR - AR - L - QVVN - CN - GN - TVF - DGEL - EAGR - AL - TVPQN - Y - AVAAK - SL - SDR - F - SY - VAF - K - TN - DR - AGIAR - L - AGTSSVIN - N - L - PL - DVVAATF - N - L - QR - N - EAR - QL - K - SN - N - PF - K - F - L - VPAR - QSEN - R - ASA

Tabla 11. Hidrólisis *in silico* de proteína de arroz (*Oryza sativa*) y chícharo (*Pisum sativum*). Aminoácidos representados con nomenclatura de una sola letra.

Proteína	Fracción	Rango de unidades de aminoácidos	Número de péptidos
Arroz	Glutelina	1	66
		2 a 5	16
		>5	3
	Prolamina	1	18
		2 a 5	14
		>5	10
Chícharo	Legumina	1	45
		2 a 5	68
		>5	13
	Convicilina	1	110
		2 a 5	114
		>5	20
	Vicilina	1	67
		2 a 5	95
		>5	11

10.2 Punto de vinculación

Los péptidos liberados del proceso digestivo *in silico* con una longitud de entre 2 a 5 aminoácidos fueron medidos en su puntaje de afinidad al receptor de proliferación de peroxisomas gamma (PPAR γ) usando el programa HPEPDOCK®. En la tabla 12 se presentan los oligopéptidos que presentaron un puntaje de afinidad menor a -120 puntos, y la frecuencia en los que estos péptidos se encuentran presentes en la proteína. Referente a la proteína del arroz, los oligopéptidos obtenidos que presentaron alta afinidad hacia PPAR γ fueron 36 para glutelina y 7 para prolamina con una frecuencia de 19.45% y 16.66%, respectivamente. Por otro lado, para los péptidos procedentes del chícharo se obtuvo un mayor número de péptidos con un puntaje menor a -120 por parte de la fracción de convicilina con 23 péptidos, seguido por vicilina con 22 péptidos y, finalmente, legumina con 17 péptidos, con frecuencias de 9.43%, 12.57% y 13.49%, respectivamente.

En la tabla 13 se muestra los péptidos que presentaron puntos de afinidad menor a -160. Entre estos oligopéptidos con alta afinidad, los péptidos provenientes del arroz 4 oligopéptidos (PIVF, IVPQH, IIQGR y QPY) estuvieron presentes en la fracción de la glutelina y 1 oligopéptido (QSPVF) se presentó en la fracción prolamina. Para las fracciones proteicas provenientes del chícharo, se presentó 2 oligopéptidos (AQTF y AAVSH) en la fracción legumina, 2 oligopéptidos (VIPVN y PQH) en la fracción convicilina y 2 oligopéptidos (PVAIN y PGSSH) en la fracción de vicilina.

De igual manera, en la tabla 13 se muestra los valores de energía de afinidad ligando-receptor PPAR γ obtenidos por AutoDock Tools para los péptidos que obtuvieron un valor de puntos de vinculación por debajo de -160, así como también, en la figura 13 se muestran los enlaces intermoleculares formados entre ligando y receptor. Las energías de unión de los péptidos provenientes de la fracción glutelina del arroz fueron de -2.18, -1.87 y -2.07 kcal/mol para los oligopéptidos PIVF, IVPQH e IIQGR, respectivamente. Los aminoácidos involucrados en la formación de puentes de hidrógeno fueron, para el caso del

tetrapéptido PIVF, el residuo Phe del ligando y Cys285 del receptor e Ile del ligando y Ser289 del receptor. Para el caso de los pentapéptidos IVPQH y QSPVF tuvieron energía de unión de -1.87 y -2.07 kcal/mol, respectivamente. Siendo los residuos de aminoácidos involucrados en la formación de puentes de hidrógeno Gln del ligando y el Cys285 del receptor para IVPQH, y Arg del ligando y Arg288 del receptor para el pentapéptido IIQGR. Siguiendo con las fracciones proteicas del arroz, el pentapéptido QSPVF proveniente de la fracción prolamina presentó una energía de unión ligando-receptor de -6.38, siendo el aminoácido Phe del ligando con Gly284 del receptor y, Ser con Cys285 los involucrados en la formación de puentes de hidrógenos.

Por otro lado, los dos péptidos procedentes de la fracción legumina del chícharo, fueron de -5.57 y -5.27 kcal/mol para AQTF y AAVSH, respectivamente. Los aminoácidos implicados en la formación intermolecular de puentes de hidrógenos fueron entre Ala y Ser289, Ala y Tyr473 y Thr y Cys285 para el caso del tetra-AQTF, y Ser y Leu340 y dos enlaces de His con Ser342 Para el pentapéptido AAVSH.

Continuando con el chícharo, las fracciones VIPVN y PQH de la convicilina presentaron energías de unión de -4.6 y -5.98 kcal/mol respectivamente. El pentapéptido VIPVN presentó formación de puentes de hidrógeno entre el residuo Val5 y Cys285, y para el tripéptido PQH His y Cys285, y Gln y Ser342.

Finamente, los pentapéptidos PVAIN y PGSSH provenientes de la fracción vicilina presentaron energía de unión de -3.1 y -5.06 kcal/mol, respectivamente. Para el pentapéptido PVAIN los puentes de hidrógenos formados fueron entre Asn y Ser342, y Pro y Ser289 y, para el pentapéptido PGSSH fue entre His e His323, y Ser y Cys285.

Tabla 12. Secuencia y frecuencia de oligopéptidos resultantes de digestión con enzimas gastrointestinales *in silico* en PPARy

Proteína	Fracción	Secuencias oligopéptidos con alta afinidad (longitud de 2-5 y vinculación<-120) al PPARy	Frecuencia de oligopepetidos con alta afinidad en la proteína
Arroz	Glutelina	PIVF [-188.223], IVPQH [-170.395], IIQGR [-170.12], QPY [-168.948], PQAY [-159.799], QQQF [-153.57], SIVY [-152.764], GQSTSQW [-151.769], PTDVL [-151.741], QQSQY [-151.415], PIL [-149.902], SSIF [-149.765], SPF [-147.424], ITQGR [-143.941], IAF [-143.063], EGCAY [-142.863], QVAR [-139.737], TVCL [-139.499], TVF [-139.346], VVVK [-139.113], VSH [-137.911], GEIVR [-137.838], QAF [-133.953], VQM [-132.911], ADTY [-132.729], QEGGY [-132.451], VIEPR [-130.835], EPIR [-130.529], GSPR [-128.692], PH [-125.485], SGF [-123.917], CTM [-123.233], QCQN [-122.618], ISR [-121.517], GISN [-120.731], SEAF [-120.368]	19.46%
	Prolamina	QSPVF [-175.734], SGVY [-157.495], PSY [-157.239], QQF [-144.903], QQQM [-144.213], IIF [-142.119], CQVM [-134.411]	16.67%
Chícharo	Legumina	AQTF [-166.561], AAVSH [-165.524], PVGR [-159.281], IPY [-159.236], GIY [-150.29], PETEF [-141.052], VAISL [-140.641], SQIVR [-139.168], VVF [-137.156], VQQVL [-135.375], DSTPR [-132.924], PVL [-130.292], APH [-128.503], VIR [-127.673], SAEY [-125.219], VF [-123.234], IIN [-122.986]	13.49%
	Convicilina	VIPVN [-163.782], PQH [-162.75], AIVVL [-158.794], PSY [-157.239], PEY [-155.179], VPGQR [-155.102], GIIF [-152.917], PSEF [-142.851], PQQL [-142.728], ATTVK [-140.428], TIF [-139.536], PF [-137.518], PQL [-135.661], GEW [-133.69], GSQR [-129.27], QSH [-128.733], PH [125.485], EPF [-124.156], PVK [-123.918], VVDF [-123.416]	9.43%
	Vicilina	PVAIN [-187.42], PGSSH [-179.949], PIY [-159.076], PQY [-155.287], AIPVN [-152.403], VGQR [-148.786], VIVK [-147.641], PGQL [-146.859], QSF [-141.194], PF [-137.518], QSY [-136.693], EAAF [-132.917], IGF [-132.898], QPSL [-132.545], DIF [-130.767], SGTQN [-129.115], AQPL [-128.016], QVQL [-127.612], PH [-125.485], PVK [-123.918], SGF [-123.917], SVDIK [-120.912]	12.57%

Tabla 13. Energías de unión y aminoácidos de unión de péptidos que presentaron puntos de vinculación Por debajo de -160 Kcal/mol.

Fuente	Proteína	Péptido	Punto de vinculación (Kcal/mol)	Energía de unión (Kcal/mol)	Aminoácidos de unión
Arroz	Glutelina	PIVF	-188.22	-2.18	Ser289 Cys285
		IVPQH	-170.40	-1.87	Cys285
		IIQGR	-170.12	-2.07	Arg288
		QPY	-168.94	-5.61	Ser289 Tyr473 Cys285
	Prolamina	QSPVF	-175.73	-6.38	Cys285 Gly284
Chícharo	Legumina	AQTF	-166.56	-5.57	Ser289 Cys285 Tyr473
		AAVSH	-165.52	-5.27	Leu340 Ser342
	Convicilina	VIPVN	-163.78	-4.60	Cys285
		PQH	-162.75	-5.98	Cys285 Ser342
	Vicilina	PVAIN	-187.42	-3.10	Ser342 Ser289
		PGSSH	-179.95	-5.06	His323 Cys285

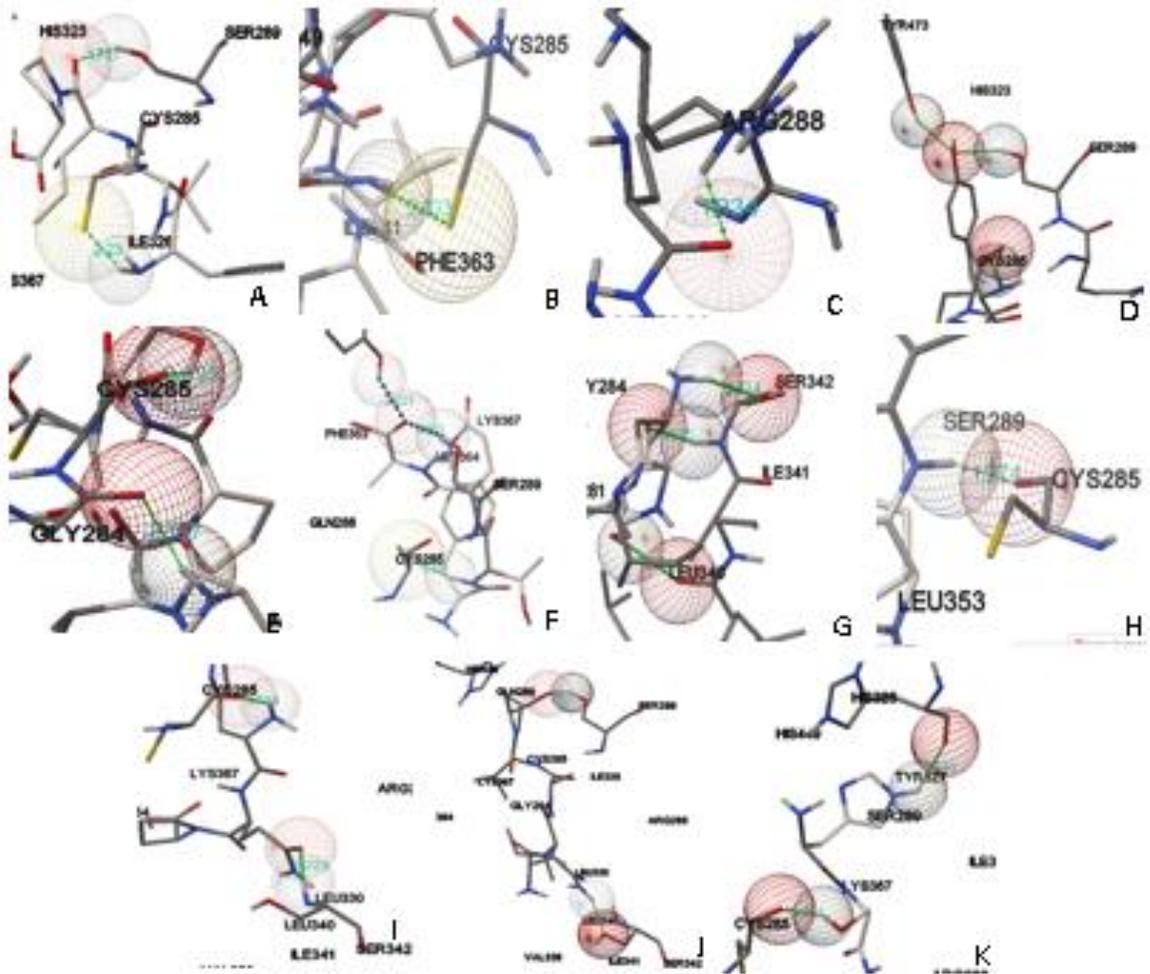


Figura 13. Uniones intermoleculares ligando-receptor. Arroz (glutelina ((A) PIVF, (B) IVPQH, (C) IIQGR)), prolamina ((D) AQTF, (B) AAVSH)), Chícharo (legumina ((E) AQTF, (F) AAVSH), convicilina ((G) VIPVN, (H) PQH), vicilina ((I) PVAIN, (J) PGSSH)).

XI Discusión

11.1 Digestión *in silico*

Hay dos importantes factores que influyen la biodisponibilidad de las proteínas. Estas son la resistencia a la degradación y el transporte a través de la pared intestinal. El proceso por el cual los componentes proteicos son absorbidos está en función de la longitud de la cadena de aminoácidos. Aunque hay información que indica que proteínas en su estado intacto pueden ser absorbidos por medio de transporte pasivo a través de los espacios intercelulares del intestino, la mayor absorción se presenta en péptidos que comprenden una longitud menor a 6 residuos de aminoácidos (Aito-Inoue et al., 2007; Miner-Williams et al., 2014). La absorción de di-péptidos y tri-péptidos se lleva a cabo por medio de proteínas transportadoras intestinales denominadas PepT1 y PepT2 (SLC15A1, oligopéptido transportador dependiente de protón) (Vij et al., 2016). Por otro lado, el proceso de absorción de péptidos con una longitud de 4 y 5 residuos de aminoácidos es llevada a cabo por proteínas transportadoras denominadas SOPT1/SOPT2. Además, los péptidos con una longitud de 4 y 5 aminoácidos se pueden transportar, al igual que las proteínas intactas, por medio de difusión pasiva entre espacios intercelulares de enterocitos (Chothe et al., 2011). Por otro lado, se reporta que péptidos que presentan una cadena de aminoácidos por encima de 3 residuos son más susceptibles a que se expongan a un proceso hidrolítico y, por lo tanto, presentan una menor biodisponibilidad (Ganapathy et al., 2008).

Sin embargo, los oligopéptidos analizados en este proyecto de investigación fueron resultado de un proceso proteolítico con enzimas digestivas (pepsina, quimotripsina y tripsina), por lo que estos péptidos con longitudes comprendidas entre 2 a 5 residuos de aminoácidos podrían estar intactos en las porciones del intestino donde se realiza el proceso de absorción. A su vez, hay que considerar la composición de aminoácidos de las fracciones proteicas, ya que ciertos aminoácidos pueden afectar la conformación de las proteínas, provocando un cambio en el grado de su proteólisis. Tal es el caso de la fracción de la prolamina en el arroz. El alto contenido del aminoácido cisteína que presenta la prolamina

puede formar agregados proteicos por medio de la formación de enlaces disulfuros, los cuales son los principales enlaces que determina el ordenamiento espacial de la proteína, afectando así el grado de hidrólisis de la molécula (Carbonaro et al., 2015). Igualmente, se ha reportado que las proteínas procedentes del chícharo presentan cierta resistencia a enzimas proteolíticas debido a la conformación proteica de láminas beta que presentan estas (Carbonaro et al., 2015). Además, ciertas características fisicoquímicas presentes en la proteína podrían afectar el proceso proteolítico, tal como residuos específicos presentes, carga, peso molecular, sitios potenciales de unión de puentes de hidrógenos y la presencia de residuos hidrofóbicos, ya que esto podría afectar la biodisponibilidad, bioaccesibilidad y bioactividad por medio de la interacción que presentan con otros componentes encontrados dentro de la matriz alimentaria, tales como lípidos, hidratos de carbono, minerales, polifenoles, entre otros (Udenigwe & Aluko, 2012).

Tal es el caso de un estudio realizado por González-Espinosa de los Monteros et al. (2011), en el que reportaron que péptidos procedentes de un proceso proteolítico de germinado de soya (2-5 días) presenta un efecto en la inhibición de la acumulación lipídica e incremento en el proceso de adipólisis en la línea celular 3T3-L1. Los investigadores concluyeron que el aumento de los fitoquímicos y proteólisis, aunado al proceso de germinación, fueron los principales causantes del efecto antiadipogénico.

Además, existen diversas técnicas culinarias de procesado de alimentos, utilizadas ampliamente, que afectan las conformaciones de las proteínas y elimina factores “antinutritivos” que pudieran afectar la hidrólisis proteica, mejorando así, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de las proteínas (Mohan et al., 2016).

Por lo tanto, debido a que el proceso proteolítico de la presente investigación se realizó por medio de un programa bioinformático, no se toma en consideración factores que pudieran interferir en el grado de hidrólisis de las proteínas estudiadas en un modelo *in vitro* e *in vivo*, tales como la conformación proteica,

la presencia de componentes de naturaleza no proteica en la matriz del alimento, cinética enzimática causada por los cambios de pH y la inaccesibilidad estérica y ratio enzima:sustrato . Por lo tanto, las enzimas utilizadas solamente se basa en la afinidad que presentan a ciertos enlaces peptídicos sin tomar en cuenta la naturaleza dinámica compleja que se lleva a cabo en el proceso digestivo, desde la preparación del alimento hasta los procesos digestivos realizadas en la última porción del tracto gastrointestinal (Boland, 2016). Sin embargo, la digestión *in silico* ha sido una herramienta importante en la identificación y detección de moléculas con bioactividad potencial (Nongonierma & FitzGerald, 2018).

11.2 Afinidad ligando-receptor

El factor de proliferación de peroxisomas gamma (PPAR γ) es la principal proteína involucrada en el proceso de la adipogénesis, por lo tanto, este receptor ha sido uno de los más estudiados para la detección de moléculas con actividad potencial antiadipogénica (tabla 7). Siendo los residuos de aminoácidos Phe264, His266, Ile281, Cys285, Arg288, Ser289, Met348 e His449 del receptor los sitios de unión de moléculas con actividad antiadipogénicas conocidas (Aranaz et al., 2019; Ye et al., 2006).

Utilizando el programa HPEPDOCK se obtuvo que 11 péptidos presentaron valores de afinidad alto (<-160 kcal/mol). Estos péptidos son los que mayor bioactividad pudieran presentar ya que son los que menor energía de unión presentan en sitios activos del receptor PPAR γ . De hecho, se ha reportado que la determinación de energía de unión basado en métodos experimentales *in silico* exhiben buena correlación con resultados obtenidos experimentalmente (Kandemir-Cavas et al., 2019; Li et al., 2013).

Para ello se tiene que analizar los tipos de enlaces involucrados en las interacciones intermoleculares. Siendo los puentes de hidrógeno los que mayor contribución representa en la estabilidad del complejo ligando-receptor. En la figura 13 se muestra de manera gráfica los puntos de unión intermoleculares en la que se formó puentes de hidrógenos. Se encontró que el tripéptido QPY

presentó el valor de energía más bajo, comparado con los otros péptidos de la fracción glutelina, con enlaces de puentes de hidrógeno formados en los residuos del receptor Ser289, Tyr473 y Cys285. Sin embargo, el pentapéptido QSPVF fue el que mayor afinidad presentó dentro de las proteínas del arroz, con una vinculación hacia los residuos Cys285 y Gly284. En el caso de las proteínas procedentes del chícharo, los péptidos AQTF y AAVSH presentaron energía de unión similares, -5.57 y -5.27 kcal/mol; no obstante, solo el tetrapéptido AQTF presentó la formación de puentes de hidrógenos en los residuos del sitio activo Ser289 y Cys285. Los dos péptidos procedentes de la fracción convicilina presentaron uniones al principal residuo con actividad antagonista en PPAR γ (Cys285), de igual manera para el pentapéptido PGSSH de la vicilina, que presentó una energía de unión de -5.06 kcal/mol a esta misma región del receptor. Por último, el pentapéptido PVAIN presento una energía de unión de -3.1 kcal/mol con el residuo del sitio activo Ser289.

De igual manera, los resultados obtenidos de la molécula GW9662 muestra energía de unión de -7.98 kcal/mol, con formación de puentes de hidrógenos a Ser289 y Cys285, mismo que se ha reportado ampliamente en la literatura científica su efecto antiadipogénico en PPAR γ (Ohtera et al., 2015; Seargent et al., 2004, p. 96). De igual manera, la molécula G3335, el cual es de naturaleza peptídica, y es conocida ampliamente el efecto antiadipogénico por medio de unión PPAR γ , mostró una energía de unión de -5.64 kcal/mol con formación de puentes de hidrógenos Tyr473, Met364, His323 y Ser289 .

Por lo tanto, tomando como referencia la energía de unión reportadas por compuestos con ya conocidos efectos antiadipogénicos vía PPAR γ , se puede establecer que los compuestos con una energía de unión menores a -4.8 kcal/mol pudieran presentar bioactividad antiadipogénica, siendo los péptidos QPY y QSPVF de las fracciones glutelina y prolamina del arroz, y AQTF y AAVSH de la legumina, PQH de la convicilina y, PGSSH de la vicilina, del chícharo (tabla 13) (Aranaz et al., 2019; Ye et al., 2006).

Además de los puentes de hidrógenos, es crucial considerar las interacciones hidrofóbicas, lo cual está dada por el contenido de aminoácidos de naturaleza hidrofóbica. Los péptidos estudiados presentaron un contenido de 81.8% de aminoácidos hidrofóbicos en nitrógeno terminal. Así como también, péptidos con un contenido de aminoácidos hidrofóbicos en carbono terminal y, en las dos porciones terminales fue de 27.7%. La bioactividad que pudieran presentar estos péptidos con base a su contenido de aminoácidos hidrofobos está determinada por reportes que indican que el contenido de aminoácidos hidrofóbicos (V, L, I, A, F, W, M, P) en péptidos es crucial para su funcionalidad como compuestos bioactivos (Choe et al., 2019; Nongonierma & FitzGerald, 2019). De igual manera, Oseguera Toledo et al. (2016) reporta que los péptidos FFL, LLSL, QQEG y LVLL, los cuales presentan aminoácidos hidrofóbicos en ambas terminaciones, excepto para el tetrapéptido QQEG, presentan una inhibición de la acumulación lipídica del 13-28% en la línea celular 3T3-L1 (tabla 14). De igual manera, se ha reportado que las regiones hidrofóbicas presentan efecto en la reducción de triglicéridos sanguíneos, así como también, estimulación lipolítica en células grasa (Kagawa et al., 1996).

Por lo tanto, la hidrofobicidad de estas moléculas es de importancia ya que su efecto antiadipogénico se establece principalmente por medio de la interacción de PPAR γ en tejido adiposo. Además, se ha reportado que péptidos que poseen bioactividad por lo general son de naturaleza hidrofóbica (Li-Chan, 2015).

Tabla 14. Energías de unión *in silico* de ligandos al sitio activo de PPAR γ .

Compuesto	Energías de unión (kcal/mol)
GW9662	-7.98
G3335	-5.64
QPY	-5.61
QSPVF	-6.38
AQTF	-5.57
AAVSH	-5.27
VIPVN	-4.6
PQH	-5.98
PGSSH	-5.06

Fuente: Aranaz et al. (2019); Ye et al. (2006)

De igual manera, numerosos estudios a nivel *in vitro*, utilizando la línea celular 3T3-L1, ampliamente usada para la generación de conocimiento de la biología de la adipogénesis, corroboran la bioactividad antiadipogénica que presentan proteínas hidrolizadas procedentes de diferentes vegetales. Tal es el caso del péptido RLLPH procedente de avellana (*Corylus avellana*) el cual mostró una disminución del 82.06% de la acumulación lipídica comparado a las células que no recibieron tratamiento alguno (J. Wang et al., 2020). Igualmente, péptidos hidrolizados de la fracción proteica de la quinoa (*Chenopodium quinoa*) ha mostrado actividad antiadipogénica de una manera proporcional a la cantidad de péptidos que fueron expuestos a la línea celular 3T3-L1 (Shi et al., 2019).

También se ha reportado efectos antadipogénicos de proteínas de origen animal. Tal como proteínas derivadas de productos y coproductos de pescado, con actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina conocida previamente, en el que se reportó un contenido de lípidos 20.9% menor comparada con las células controles en el que no se les expusieron los hidrolizados proteicos (Ben Henda et al., 2015). De la misma forma para la caseína, proteína encontrada mayoritariamente en la leche, se ha reportado que sus hidrolizados ejercen una disminución del 4% de la adipogénesis en la línea celular 3T3-L1 (Martinez-Villaluenga et al., 2008), en donde también se ha reportado actividad antiobesogénica en ratones expuestos a una dieta alta en grasa (Lillefosse et al., 2013).

Si bien, PPAR γ , es una de las proteínas receptoras principalmente estudiadas para la detección de compuestos con actividad antiadipogénica, hay otras vías implicadas en este proceso en el cual se ha reportado que diferentes péptidos de origen vegetal presentan actividad moduladora en la diferenciación de adipocitos, tales como C/EBP α , C/EBP β , Ap2, SREBP-1c, FAS, HMGCCR y β -Actina (Oseguera Toledo et al., 2016; Tsou et al., 2013; J. Wang et al., 2020), las cuales serían importantes estudiar en un futuro. De igual manera, se ha reportado que péptidos vegetales pueden interferir en el proceso de acumulación de masa grasa por medio de la inhibición de enzimas implicadas en la digestión de compuestos

de naturaleza lipídica, tal es el caso de inhibidores de la enzima lipasa, Alfa-amilasa o por medio de la unión a las sales biliares inhibiendo su reabsorción (Jakubczyk et al., 2017; Yang et al., 2012). Además, los diferentes compuestos que pudieran encontrarse unidos a las proteínas (ej. polifenoles) podrían tener un impacto en la bioactividad del compuesto, pudiendo así, presentar un efecto antagónico a la actividad ejercida por las proteínas en su estado puro, así como también, un efecto sinérgico en la que podría presentar una bioactividad mayor comparada con su estado puro (González-Espinosa de los Monteros et al., 2011; Prabhu & Rajeswari, 2018).

XII. Conclusión

Además del papel nutricional que presentan las proteínas dentro de la alimentación, también se ha reportado ampliamente la bioactividad presente en péptidos liberados por procesos proteolíticos. Este estudio nos indica que los péptidos liberados de la glutelina (PIVF, IVPQH, IIQGR, QPY) y prolamina (QSPVF) por parte de arroz (*Oryza sativa*) y, los péptidos liberados de legumina (AQTF, AAVSH), convicilina (VIPVN, PQH) y vicilina (PVAIN, PGSSH) procedentes del chícharo (*Pisum sativum*), por medio de un proceso enzimático con enzimas digestivas (tripsina, quimotripsina y pepsina) pudieran presentar actividad antiadipogénica con base a las energías de enlaces intermoleculares formadas en sitios de unión claves antagónicos del procesos de adipogénesis vía PPAR γ . Sin embargo, debido a las limitaciones que presentan la metodología *in silico* es necesario la realización de estudios a nivel *in vitro* e *in vivo*, en el que tome en consideración los diferentes factores claves que intervienen en los procesos digestivo de cada órgano del tracto gastrointestinal, así como también los diferentes factores alimentarios que pudieran afectar la biodisponibilidad y bioaccesibilidad del proceso digestivo de las proteínas. De igual manera, es necesario la implementación de líneas celular y/o modelos animales para conocer la actividad y el mecanismo de acción que pudieran presentar estos péptidos en la biología de la adipogénesis.

XIII. Bibliografía

- Abernathy, R. P., & Black, D. R. (1996). Healthy body weights: An alternative perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 63(3 Suppl), 448S-451S.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/63.3.448>
- Aburto, T. C., Pedraza, L. S., Sánchez-Pimienta, T. G., Batis, C., & Rivera, J. A. (2016). Discretionary Foods Have a High Contribution and Fruit, Vegetables, and Legumes Have a Low Contribution to the Total Energy Intake of the Mexican Population. *The Journal of Nutrition*, 146(9), 1881S-1887S. <https://doi.org/10.3945/jn.115.219121>
- Adams, K. F., Schatzkin, A., Harris, T. B., Kipnis, V., Mouw, T., Ballard-Barbash, R., Hollenbeck, A., & Leitzmann, M. F. (2006). Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *The New England Journal of Medicine*, 355(8), 763-778. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa055643>
- Adebiyi, A. P., Adebiyi, A. O., Hasegawa, Y., Ogawa, T., & Muramoto, K. (2009). Isolation and characterization of protein fractions from deoiled rice bran. *European Food Research & Technology*, 228(3), 391-401.
- Aito-Inoue, M., Lackeyram, D., Fan, M. Z., Sato, K., & Mine, Y. (2007). Transport of a tripeptide, Gly-Pro-Hyp, across the porcine intestinal brush-border membrane. *Journal of Peptide Science*, 13(7), 468-474. <https://doi.org/10.1002/psc.870>
- Amagliani, L., O'Regan, J., Kelly, A. L., & O'Mahony, J. A. (2017). The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 64, 1-12.
- Aranaz, P., Navarro-Herrera, D., Zabala, M., Miguélez, I., Romo-Hualde, A., López-Yoldi, M., Martínez, J. A., Vizmanos, J. L., Milagro, F. I., & González-Navarro, C. J. (2019). Phenolic Compounds Inhibit 3T3-L1 Adipogenesis Depending on the Stage of Differentiation and

Their Binding Affinity to PPAR γ . *Molecules*, 24(6).

<https://doi.org/10.3390/molecules24061045>

Ávila, M. H., Dommarco, J. R., Levy, T. S., Nasu, L. C., Acosta, L. M. G., Pineda, E. B. G., Martínez, M. R., Gómez-Humarán, I. M., Hernández, P. S., Hernández, S. V., Gutiérrez, J. P., Arcos, M. A. Á., López, E. R. M., Domínguez, J. M., & López, D. E. G. (2016). *Responsables de la ENSANUT MC 2016*. 149.

Ben Henda, Y., Laamari, M., Lanneluc, I., Travers, M.-A., Agogué, H., Arnaudin, I., Bridiau, N., Maugard, T., Piot, J.-M., Sannier, F., & Bordenave-Juchereau, S. (2015). Di and tripeptides from marine sources can target adipogenic process and contribute to decrease adipocyte number and functions. *Journal of Functional Foods*, 17, 1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.050>

Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242.
<https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>

Bhosale, S. (2015). Processing and Nutritional Composition of Rice Bran. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 3(1), 74-80.
<https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.3.1.08>

Boland, M. (2016). Human digestion - a processing perspective: Human digestion - a processing perspective. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7), 2275-2283.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7601>

Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414-431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>

- Cao, X., Wen, H., Li, C., & Gu, Z. (2009). Differences in functional properties and biochemical characteristics of congenetic rice proteins. *Journal of Cereal Science*, *50*(2), 184-189.
- Carbonaro, M., Maselli, P., & Nucara, A. (2015). Structural aspects of legume proteins and nutraceutical properties. *Food Research International*, *76*, 19-30.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.007>
- Chandi, G. K., & Sogi, D. S. (2007). Functional properties of rice bran protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, *79*(2), 592-597.
- Cho, D.-H., & Lim, S.-T. (2016). Germinated brown rice and its bio-functional compounds. *Food Chemistry*, *196*, 259-271. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.025>
- Choe, J., Seol, K.-H., Son, D.-I., Lee, H. J., Lee, M., & Jo, C. (2019). Identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from enzymatic hydrolysates of pork loin. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 1112-1121.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1629690>
- Choi, S.-S., Park, J., & Choi, J. H. (2014). Revisiting PPAR γ as a target for the treatment of metabolic disorders. *BMB Reports*, *47*(11), 599-608.
<https://doi.org/10.5483/BMBRep.2014.47.11.174>
- Chothe, P., Singh, N., & Ganapathy, V. (2011). Evidence for two different broad-specificity oligopeptide transporters in intestinal cell line Caco-2 and colonic cell line CCD841. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *300*(6), C1260-C1269.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00299.2010>
- Dahl, W. J., Foster, L. M., & Tyler, R. T. (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *British Journal of Nutrition*, *108*(S1), S3-S10.
<https://doi.org/10.1017/s0007114512000852>

- de Sá, P. M., Richard, A. J., Hang, H., & Stephens, J. M. (2017). Transcriptional Regulation of Adipogenesis. En R. Terjung (Ed.), *Comprehensive Physiology* (pp. 635-674). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160022>
- Dogara, A. M., & Jumare, A. I. (2014). *Origin, Distribution and Heading date in Cultivated Rice*. 6.
- Elik, S., Baman, A., & Yalin, E. (2004). Effects of Irradiation on Protein Electrophoretic Properties, Water Absorption and Cooking Quality of Dry Bean and Chickpea. *Food Science and Technology Research*, 10(4), 410-415. <https://doi.org/10.3136/fstr.10.410>
- Elzebroek, A. T. G., & Wind, K. (2008). *Guide to cultivated plants*. CABI.
- Fernandez-Quintela, M. T. Macarulla, & J. A. Martínez. (1997). *Composition and functional properties of protein isolates obtained from commercial legumes grown in northern Spain*. 12.
- Forli, S., Huey, R., Pique, M. E., Sanner, M. F., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2016). Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nature Protocols*, 11(5), 905-919. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051>
- Ganapathy, V., Ganapathy, M. E., & Leibach, F. H. (2008). Protein Digestion and Assimilation. En T. Yamada (Ed.), *Textbook of Gastroenterology* (pp. 464-477). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781444303254.ch19>
- Genetic assessment of the genus *Pisum* L. based on sequence specific amplification polymorphism data. (2012). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(6). <https://doi.org/10.5897/JMPR11.471>
- González-Espinosa de los Monteros, L. A., Ramón-Gallegos, E., Torres-Torres, N., & Mora-Escobedo, R. (2011). Effect of Germinated Soybean Protein Hydrolysates on

- Adipogenesis and Adipolysis in 3T3-L1 Cells. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(4), 355-362. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0263-z>
- Gupta, P. P., Singh, S., Kumar Panda, P., Ibrahim Jasnaik, D., Chhajed, S. S., & Bastikar, V. A. (2017). Screening and Identification of Structural Analogs of GW9662 and T0070907 Potent Antagonists of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma: In-Silico Drug-Designing Approach. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 10(3). <https://doi.org/10.4172/jpb.1000428>
- Hood-Niefer, S. D., Warkentin, T. D., Chibbar, R. N., Vandenberg, A., & Tyler, R. T. (2012). Effect of genotype and environment on the concentrations of starch and protein in, and the physicochemical properties of starch from, field pea and fababean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 141-150. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4552>
- Hruby, A., Manson, J. E., Qi, L., Malik, V. S., Rimm, E. B., Sun, Q., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2016). Determinants and Consequences of Obesity. *American Journal of Public Health*, 106(9), 1656-1662. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303326>
- Jakubczyk, A., Karaś, M., Złotek, U., & Szymanowska, U. (2017). Identification of potential inhibitory peptides of enzymes involved in the metabolic syndrome obtained by simulated gastrointestinal digestion of fermented bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. *Food Research International*, 100, 489-496. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.046>
- Jensen, E. S., Peoples, M. B., & Hauggaard-Nielsen, H. (2010). Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research*, 115(3), 203-216. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.10.008>
- Jones, J. R., Barrick, C., Kim, K.-A., Lindner, J., Blondeau, B., Fujimoto, Y., Shiota, M., Kesterson, R. A., Kahn, B. B., & Magnuson, M. A. (2005). Deletion of PPAR in adipose tissues of mice protects against high fat diet-induced obesity and insulin resistance. *Proceedings*

of the National Academy of Sciences, 102(17), 6207-6212.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0306743102>

Jood, S., Chauhan, B. M., & Kapoor, A. C. (1989). Protein digestibility (in vitro) of chickpea and blackgram seeds as affected by domestic processing and cooking. *Plant Foods for Human Nutrition*, 39(2), 149-154. <https://doi.org/10.1007/BF01091894>

Kagawa, K., Matsutaka, H., Fukuhama, C., Watanabe, Y., & Fujino, H. (1996). Globin digest, acidic protease hydrolysate, inhibits dietary hypertriglyceridemia and Val-Val-Tyr-Pro, one of its constituents, possesses most superior effect. *Life Sciences*, 58(20), 1745-1755. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(96\)00156-7](https://doi.org/10.1016/0024-3205(96)00156-7)

Kandemir-Cavas, C., Pérez-Sanchez, H., Mert-Ozuppek, N., & Cavas, L. (2019). In Silico Analysis of Bioactive Peptides in Invasive Sea Grass *Halophila stipulacea*. *Cells*, 8(6), 557. <https://doi.org/10.3390/cells8060557>

Kroker-Lobos, M. F., Pedroza-Tobías, A., Pedraza, L. S., & Rivera, J. A. (2014). The double burden of undernutrition and excess body weight in Mexico. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100(6), 1652S-1658S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.083832>

Kumar, M. S. (2019). Peptides and Peptidomimetics as Potential Antiobesity Agents: Overview of Current Status. *Frontiers in Nutrition*, 6, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00011>

Lebovitz, H. E. (2019). Thiazolidinediones: The Forgotten Diabetes Medications. *Current Diabetes Reports*, 19(12), 151. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1270-y>

Lefebvre, J., Dagorn-Scaviner, C., & Gueguen, J. (1987). Emulsifying properties of pea globulins as related to their adsorption behaviors. *Journal of Food Science*, 52(2), 335.

- Leterme, P., Monmart, T., & Baudart, E. (1990). Amino acid composition of pea (*Pisum sativum*) proteins and protein profile of pea flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(1), 107-110. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740530112>
- Lezáun, J. A., & Lafarga, A. (2013). *Guía de cultivo de guisante proteaginoso en Navarra*. 5.
- Li, X., Ye, L., Wang, X., Shi, W., Liu, H., Qian, X., Zhu, Y., & Yu, H. (2013). In silico investigations of anti-androgen activity of polychlorinated biphenyls. *Chemosphere*, 92(7), 795-802. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.022>
- Li-Chan, E. C. (2015). Bioactive peptides and protein hydrolysates: Research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 1, 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.09.005>
- Lillefosse, H. H., Tastesen, H. S., Du, Z.-Y., Ditlev, D. B., Thorsen, F. A., Madsen, L., Kristiansen, K., & Liaset, B. (2013). Hydrolyzed Casein Reduces Diet-Induced Obesity in Male C57BL/6J Mice. *The Journal of Nutrition*, 143(9), 1367-1375. <https://doi.org/10.3945/jn.112.170415>
- Liu, C.-W., Sung, Y., Chen, B.-C., & Lai, H.-Y. (2014). Effects of Nitrogen Fertilizers on the Growth and Nitrate Content of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(4), 4427-4440. <https://doi.org/10.3390/ijerph110404427>
- Martinez-Villaluenga, C., Bringe, N. A., Berhow, M. A., & Gonzalez de Mejia, E. (2008). β -Conglycinin Embeds Active Peptides That Inhibit Lipid Accumulation in 3T3-L1 Adipocytes in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10533-10543. <https://doi.org/10.1021/jf802216b>

- Masson-Boivin, C., & Sachs, J. L. (2018). Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia—The roots of a success story. *Current Opinion in Plant Biology*, 44, 7-15.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.12.001>
- Mession, J.-L., Assifaoui, A., Cayot, P., & Saurel, R. (2012). Effect of pea proteins extraction and vicilin/legumin fractionation on the phase behavior in admixture with alginate. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 335-346. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.003>
- Miner-Williams, W. M., Stevens, B. R., & Moughan, P. J. (2014). Are intact peptides absorbed from the healthy gut in the adult human? *Nutrition Research Reviews*, 27(2), 308-329.
<https://doi.org/10.1017/S0954422414000225>
- Minkiewicz, Iwaniak, & Darewicz. (2019). BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5978.
<https://doi.org/10.3390/ijms20235978>
- Mohan, V. R., Tresina, P. S., & Daffodil, E. D. (2016). Antinutritional Factors in Legume Seeds: Characteristics and Determination. En *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 211-220). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00036-2>
- Multari, S., Stewart, D., & Russell, W. R. (2015). Potential of Fava Bean as Future Protein Supply to Partially Replace Meat Intake in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 511-522. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12146>
- Nongonierma, A. B., & FitzGerald, R. J. (2018). Enhancing bioactive peptide release and identification using targeted enzymatic hydrolysis of milk proteins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3407-3423. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0793-9>

- Nongonierma, A. B., & FitzGerald, R. J. (2019). Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from dietary proteins. *Journal of Food Biochemistry*, *43*(1), e12451. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12451>
- Obatolu, V. A., Fasoyiro, S. B., & Ogunsunmi, L. (2007). PROCESSING AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF YAM BEANS (SPHENOSTYLIS STENOCARPA). *Journal of Food Processing & Preservation*, *31*(2), 240-249.
- Ohtera, A., Miyamae, Y., Yoshida, K., Maejima, K., Akita, T., Kakizuka, A., Irie, K., Masuda, S., Kambe, T., & Nagao, M. (2015). Identification of a New Type of Covalent PPAR γ Agonist using a Ligand-Linking Strategy. *ACS Chemical Biology*, *10*(12), 2794-2804. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.5b00628>
- Oseguera Toledo, M. E., Gonzalez de Mejia, E., Sivaguru, M., & Amaya-Llano, S. L. (2016). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein-derived peptides increased insulin secretion, inhibited lipid accumulation, increased glucose uptake and reduced the phosphatase and tensin homologue activation in vitro. *Journal of Functional Foods*, *27*, 160-177. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.001>
- Palomer, X., Barroso, E., Pizarro-Delgado, J., Peña, L., Botteri, G., Zarei, M., Aguilar, D., Montori-Grau, M., & Vázquez-Carrera, M. (2018). PPAR β/δ : A Key Therapeutic Target in Metabolic Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(3), 913. <https://doi.org/10.3390/ijms19030913>
- Pasco, J. A., Nicholson, G. C., Brennan, S. L., & Kotowicz, M. A. (2012). Prevalence of Obesity and the Relationship between the Body Mass Index and Body Fat: Cross-Sectional, Population-Based Data. *PLOS ONE*, *7*(1), e29580.

- Petsalaki, E., & Russell, R. B. (2008). Peptide-mediated interactions in biological systems: New discoveries and applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(4), 344-350.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.06.004>
- Prabhu, D. S., & Rajeswari, V. D. (2018). In vitro and in silico analyses of *Vicia faba* L. on Peroxisome proliferator-activated receptor gamma: D AND V. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(9), 7729-7737. <https://doi.org/10.1002/jcb.27123>
- Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation.* (2007). World Health Organization.
- Rangel, A., Domont, G. B., Pedrosa, C., & Ferreira, S. T. (2003). Functional Properties of Purified Vicilins from Cowpea (*Vigna unguiculata*) and Pea (*Pisum sativum*) and Cowpea Protein Isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(19), 5792-5797.
<https://doi.org/10.1021/jf0340052>
- Ravichanthiran, K., Ma, Z., Zhang, H., Cao, Y., Wang, C., Muhammad, S., Aglago, E., Zhang, Y., Jin, Y., & Pan, B. (2018). Phytochemical Profile of Brown Rice and Its Nutrigenomic Implications. *Antioxidants*, 7(6), 71. <https://doi.org/10.3390/antiox7060071>
- Razaq, M., Zhang, P., & Shen, H. (2017). Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of Acer mono. *PLOS ONE*, 12(2), e0171321.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>
- Rong, Y., Zhou, T., Cheng, W., Guo, J., Cui, X., Liu, Y., & Chen, W. (2013). Particle-size-dependent cytokine responses and cell damage induced by silica particles and macrophages-derived mediators in endothelial cell. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(3), 921-928. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.08.007>

- Roy, F., Boye, J. I., & Simpson, B. K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International*, 43(2), 432-442.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>
- Rubio, L. A., Pérez, A., Ruiz, R., Guzmán, M. Á., Aranda-Olmedo, I., & Clemente, A. (2014). Characterization of pea (*Pisum sativum*) seed protein fractions: Characterization of pea (*Pisum sativum*) seed protein fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 280-287. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6250>
- Rungruangmaitree, R., & Jiraungkoorskul, W. (2017). Pea, *Pisum sativum*, and Its Anticancer Activity. *Pharmacognosy reviews*, 11(21), 39-42.
https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_57_16
- Seargent, J. M., Yates, E. A., & Gill, J. H. (2004). GW9662, a potent antagonist of PPAR γ , inhibits growth of breast tumour cells and promotes the anticancer effects of the PPAR γ agonist rosiglitazone, independently of PPAR γ activation: Special Report. *British Journal of Pharmacology*, 143(8), 933-937. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705973>
- Shi, Z., Hao, Y., Teng, C., Yao, Y., & Ren, G. (2019, junio 1). *Functional properties and adipogenesis inhibitory activity of protein hydrolysates from quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)*. *Food Science & Nutrition*.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/fsn3.1052>
- Shih, F. F. (2003a). An update on the processing of high-protein rice products. *Nahrung - Food*, 47(6), 420-424. <https://doi.org/10.1002/food.200390093>
- Shih, F. F. (2003b). An update on the processing of high-protein rice products. *Nahrung/Food*, 47(6), 420-424. <https://doi.org/10.1002/food.200390093>

- Tanaka, K., Sugimoto, T., Ogawa, M., & Kasai, Z. (1980). Isolation and Characterization of Two Types of Protein Bodies in the Rice Endosperm. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44(7), 1633-1639. <https://doi.org/10.1080/00021369.1980.10864167>
- Thamnarathip, P., Jangchud, K., Jangchud, A., & Vardhanabhuti, B. (2016). Functional properties of protein hydrolysates from Riceberry rice bran. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(5), 1110-1119. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13071>
- Tömösközi, S., Lásztity, R., Haraszi, R., & Baticz, O. (2001). Isolation and study of the functional properties of pea proteins. *Nahrung - Food*, 45(6), 399-401. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20011001\)45:6<399::AID-FOOD399>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20011001)45:6<399::AID-FOOD399>3.0.CO;2-0)
- Tran, K. N., Witt, T., Gidley, M. J., & Fitzgerald, M. (2018). Accounting for the effect of degree of milling on rice protein extraction in an industrial setting. *Food Chemistry*, 253, 221-226. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.147>
- Tsou, M.-J., Kao, F.-J., Lu, H.-C., Kao, H.-C., & Chiang, W.-D. (2013). Purification and identification of lipolysis-stimulating peptides derived from enzymatic hydrolysis of soy protein. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1454-1460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.149>
- Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2012). Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Food Science*, 77(1), R11-R24. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02455.x>
- Van Spaendonk, H., Ceuleers, H., Witters, L., Patteet, E., Joossens, J., Augustyns, K., Lambeir, A.-M., De Meester, I., De Man, J. G., & De Winter, B. Y. (2017). Regulation of intestinal permeability: The role of proteases. *World Journal of Gastroenterology*, 23(12), 2106. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i12.2106>

- Vij, R., Reddi, S., Kapila, S., & Kapila, R. (2016). Transepithelial transport of milk derived bioactive peptide VLPVPQK. *Food Chemistry*, *190*, 681-688.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.121>
- Wang, J., Zhou, M., Wu, T., Fang, L., Liu, C., & Min, W. (2020). Novel anti-obesity peptide (RLLPH) derived from hazelnut (*Corylus heterophylla* Fisch) protein hydrolysates inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes by regulating adipogenic transcription factors and adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *129*(3), 259-268.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.09.012>
- Wang, Q. A., Scherer, P. E., & Gupta, R. K. (2014). Improved methodologies for the study of adipose biology: Insights gained and opportunities ahead. *Journal of Lipid Research*, *55*(4), 605-624. <https://doi.org/10.1194/jlr.R046441>
- Wu, X., Song, M., Qiu, P., Li, F., Wang, M., Zheng, J., Wang, Q., Xu, F., & Xiao, H. (2018). A metabolite of nobiletin, 4'-demethylnobiletin and atorvastatin synergistically inhibits human colon cancer cell growth by inducing G0/G1 cell cycle arrest and apoptosis. *Food & Function*, *9*(1), 87-95. <https://doi.org/10.1039/C7FO01155E>
- Xue, P., Hou, Y., Zuo, Z., Wang, Z., Ren, S., Dong, J., Fu, J., Wang, H., Andersen, M. E., Zhang, Q., Xu, Y., & Pi, J. (2020). Long isoforms of NRF1 negatively regulate adipogenesis via suppression of PPAR γ expression. *Redox Biology*, *30*, 101414.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101414>
- Yang, L., Chen, J.-H., Lv, J., Wu, Q., Xu, T., Zhang, H., Liu, Q.-H., & Yang, H.-K. (2012). Rice protein improves adiposity, body weight and reduces lipids level in rats through modification of triglyceride metabolism. *Lipids in Health and Disease*, *11*(1), 24.
<https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-24>

Ye, F., Zhang, Z.-S., Luo, H.-B., Shen, J.-H., Chen, K.-X., Shen, X., & Jiang, H.-L. (2006). The Dipeptide H-Trp-Glu-OH Shows Highly Antagonistic Activity against PPAR γ : Bioassay with Molecular Modeling Simulation. *ChemBioChem*, 7(1), 74-82.

<https://doi.org/10.1002/cbic.200500186>

Zhao, Q., Selomulya, C., Xiong, H., Chen, X. D., Li, X., Wang, S., Bai, C., Peng, H., Zhou, Q., & Sun, W. (2014). Rice Dreg Protein as an Alternative to Soy Protein Isolate: Comparison of Nutritional Properties. *International Journal of Food Properties*, 17(8), 1791-1804.

<https://doi.org/10.1080/10942912.2012.732167>

Zhou, P., Jin, B., Li, H., & Huang, S.-Y. (2018). HPEPDOCK: A web server for blind peptide–protein docking based on a hierarchical algorithm. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W443-W450.

<https://doi.org/10.1093/nar/gky357>