

## RESUMEN

Actualmente las enfermedades crónicas son un foco importante de atención, pues se han convertido en un problema de salud pública. Se estima que uno de cada cuatro adultos padece hipertensión arterial, esta enfermedad se caracteriza por incrementar la presión arterial y causar daño en órganos como el corazón, riñón o cerebro y finalmente, una muerte prematura. Existen múltiples tratamientos para controlarla ya que no existe cura para este padecimiento. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) son los más comunes, y se encargan de limitar la actividad de la ECA, quien hace la conversión de Angiotensina I (compuesto inactivo) a Angiotensina II (Vasoconstrictor), una de las moléculas responsables de elevar la presión, regulando así este padecimiento. Esta revisión es un complemento para ayudar a entender cómo fuentes naturales, ricas en proteínas pueden ser aprovechadas para la producción de compuestos bioactivos. Mostrando, así como los microorganismos como las bacterias (Acido lácticas) BALS pueden contribuir a mejorar la calidad de la vida.

## ABSTRACT

Chronic diseases are currently an important point of attention; they are a public health problem. It is estimated that one in four adults suffer from high blood pressure, this disease is characterized by increased blood pressure and organ damage in, the heart, kidney or brain, leading to premature death. There are many treatments to control, but there is no cure for this condition. Inhibitors of the angiotensin-converting enzyme (ACE) are the most common, they stop the activity of ACE, which converts Angiotensin I (inactive compound) to Angiotensin II (Vasoconstrictor), one of the molecules responsible for pressure elevation, thus regulating this condition. This review is a complement to help understand how natural sources (some considered waste) rich in proteins can be used for the production of the bioactive compounds, in addition to showing how microorganisms such as bacteria (Lactic acid) BALS have a contribution to improve the quality of life.

Keywords: Angiotensin-converting enzyme, Hypertension, Bioactive peptides, BALS

## I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la hipertensión arterial es una enfermedad común, uno de cada cuatro personas sufre de ésta alrededor de todo el mundo. Esto puede causar enfermedades cardiovasculares, renales, y problemas en el corazón. (Wu et al. 2019). Factores como el estilo de vida, estrés, inactividad

física, obesidad, pueden afectar la presión sanguínea, la cual puede ser baja, normal o alta. Cuando la presión sistólica es  $\geq 140$  mmHg y la presión diastólica es  $\geq 90$  mmHg por tres días consecutivos, se puede diagnosticar a una persona como hipertensa (Gupta et al. 2018). Sin embargo, la American Heart Association, ha establecido recientemente un nuevo valor de referencia para la presión sanguínea alta, en  $\geq 130$  mmHg sistólica y  $\geq 80$  mmHg diastólica. La regulación de la presión sanguínea es un sistema complejo, donde interviene el sistema renina angiotensina aldosterona (RAAS), el sistema nervioso autónomo, riñones, sistema oxido nítrico y el mecanismo de balance de fluidos juegan un papel importante en la regulación de la presión sanguínea (Elkhtab et al. 2017). La enzima convertidora de angiotensina (ECA) del RAAS, cataliza la conversión de angiotensina I a angiotensina II (vasoconstrictor), permitiendo un incremento en la presión sanguínea. La inhibición de la ECA produce un descenso de la presión sanguínea (Sompinit et al. 2020). Los inhibidores de la ECA, como captopril, lisonipril, llevan a cabo una inhibición del tipo competitiva al igual que los péptidos y han demostrado una reducción de la presión sanguínea. No obstante, estas drogas pueden causar efectos secundarios indeseables, como: angioedema, hipotensión, dolor de cabeza, tos seca, entre otros. Esta es la principal razón para investigar nuevos tratamientos y evitar estos efectos secundarios (Martin y Deussen 2019). Para entrar en contexto los péptidos son como eslabones que forman a las proteínas. Estos péptidos pueden tener alguna actividad biológica como la antihipertensiva y pueden provenir de alimentos que contienen proteína. Sin embargo, es necesario liberar estos péptidos de la fuente original para que puedan ejercer su actividad. Hay diferentes formas de liberar estos péptidos, como mencionaremos mas adelante.

## ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

La ECA también llamada carboxi-dipeptidil-metalopeptidasa (EC: 3.4.15.1) se trata de una proteína integral de membrana, es una enzima dependiente de  $Zn^{2+}$  el cual es básico para su actividad (Guang et al. 2012). Se conocen dos isoformas de la ECA en humanos, la somática (sECA) de 150-180kDa, y la germinal o testicular (tECA) de 90-110kDa, esto se debe a que la sECA está constituida por dos dominios homólogos (dominio N y C), mientras que tECA solo tiene un dominio casi idéntico al dominio C de sECA. Los dominios C de ambas isoformas tienen una secuencia de aminoácidos muy similar, sin embargo, tECA contiene un extra de 36 aminoácidos en el extremo N-terminal (Figura 1) (Fan et al. 2019).

# ANTIHIPERTENSIVOS ¿AHORA PÉPTIDOS?

Hector Atonal Sánchez<sup>1</sup>, Silvia Luna Suárez<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada - Instituto Politécnico Nacional, carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac - Tepetitla km 1.5, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México, C.P. 90700

\* Autor para correspondencia: silvials2004@yahoo.com.mx, sluna@ipn.mx

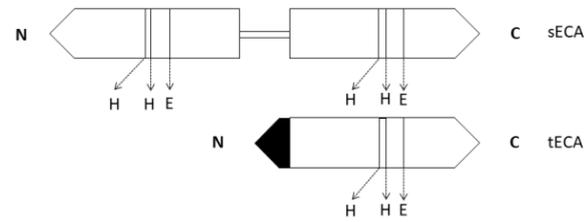


Figura 1. Representación esquemática de las isoformas de la ECA

## MECANISMO DE INHIBICIÓN DE LA ECA

El hígado produce la proteína angiotensinógeno, la cual es hidrolizada por la enzima renina, produciendo así angiotensina I (Ang I), cuando ésta entra en contacto con la ECA en el dominio C de sECA o tECA, por medio del ion de Zn<sup>2+</sup> unido al sitio activo donde están dos histidinas (His383 e His387) y donde también participa un glutamato (Glu411), se libera un dipéptido del extremo C terminal y se origina la angiotensina II (Ang II) el cual es un vasoconstrictor y también inactiva la actividad de la bradiquinina, causando así un desequilibrio en la presión arterial como se ve en la (Figura 2), (Guang et al. 2012). Esto significa que la inhibición de la ECA conduciría a la reducción de la síntesis de Ang II, y de la inactivación de la bradiquinina. Los medicamentos ya existentes como captopril, se basan en el hecho de inhibir competitivamente la actividad de la ECA.

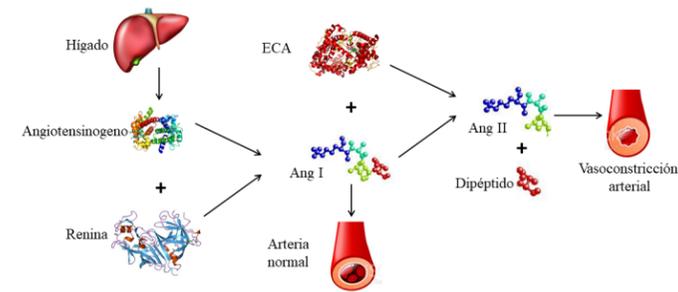


Figura 2. Representación esquemática del mecanismo de regulación de la presión arterial.

## LIBERACIÓN DE LOS PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS DE FUENTES PROTEICAS

Teóricamente podemos extraer o liberar péptidos de cualquier fuente proteica, sin embargo, para que estos péptidos tengan una función de interés como la antihipertensiva, deben ser proteínas con secuencias particulares de aminoácidos. Es decir, cada secuencia de aminoácidos y longitud del péptido pueden tener funciones diferentes, sin embargo, de manera natural en fuentes como los alimentos ricos en proteína, contienen proteínas cuyas secuencias de aminoácidos poseen actividad de interés. Para poder aprovechar los beneficios de estos péptidos es necesario liberarlos de su fuente original por alguno de los métodos descritos a continuación, pero esto no garantiza que tengan la función que esperamos. Tras la ingesta de estos, algunos aminoácidos son más lábiles que otros ante condiciones gástricas, es decir su estructura y por ende su actividad se ve alterada, y aquellos que logran resistir no son totalmente aprovechados, pues solo los péptidos más cortos de dos a tres aminoácidos pueden pasar por la vía endocítica. Además, existe una limitante más, y es que, para liberar péptidos específicos, se necesitan condiciones específicas, para poner en contexto, es necesario unas tijeras que reconozcan una secuencia en particular de aminoácidos en la secuencia misma de la proteína, esta característica sin duda solo la podemos esperar de una enzima. Sin embargo, se pueden obtener péptidos por diferentes métodos. La obtención de péptidos por hidrólisis enzimática usando enzimas como bromelina, tripsina, papaína, pepsina, tiene resultados muy favorables; pero controlar las condiciones requeridas por la enzima podría ser un poco difícil, ya que se deben controlar el pH, temperatura, entre otros factores, además resulta costoso la adquisición de las enzimas. Liberar péptidos por el método químico, es por su naturaleza el más económico y sencillo de realizar, se realiza en presencia de ácido o una base fuerte, con algunas desventajas claras, ya que no se pueden obtener péptidos homogéneos, es decir mayoritariamente todos los péptidos pueden ser diferentes entre si. Se deben tomar las medidas de precaución necesarias, ya que puede ser peligroso. El uso de microorganismos como las BALs en diferentes procesos tiene ventajas sobre los dos métodos anteriores y se pueden considerar como una combinación de ambos, en el sentido de que se pueden obtener péptidos homogéneos, controlar los parámetros para su crecimiento puede ser más asequible y también puede ser mas baratos que comprar las enzimas mismas, ya que la cepa deseada es capaz de sintetizarlas además se puede conservar y cultivarla cuando sea necesario. La obtención de péptidos se muestra en el Diagrama 1.

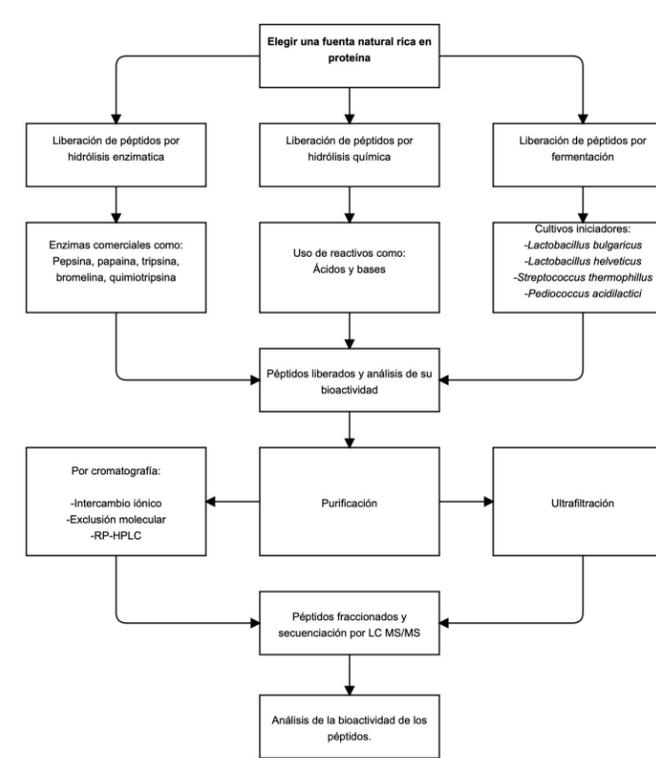


Diagrama 1. Diagrama de flujo para la obtención, liberación, purificación y caracterización de péptidos bioactivos.

## FUENTES DE OBTENCIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS

Como ya se ha mencionado existen un número incontable de fuentes que contienen un porcentaje considerable de proteína. Algunas fuentes tienen una cantidad mayor de proteína que otras. También debemos considerar la accesibilidad de esta, y la naturaleza misma de la secuencia de aminoácidos que contienen. Podemos agrupar estas fuentes alimenticias como provenientes de vegetales o animales (Kaur et al. 2021).

La elección de la fuente es importante en la liberación de péptidos antihipertensivos, es decir se debe considerar la trazabilidad del producto, en otras palabras, tener un control de la materia prima, que incluye la disponibilidad, que siempre sea la misma, el costo, etc. De esta forma se puede garantizar el producto final esperado. Actualmente se ha buscado optimizar el rendimiento de la materia prima en muchos sectores, y aprovechar no solamente las bondades que esta nos da, si no también lo que hasta hace un tiempo eran desechos, es decir aquellos componentes que no forman parte de la actividad principal hoy pueden tener un nuevo uso. Por ejemplo, el aprovechamiento de los residuos de la producción de vino como los sedimentos, que se estima son el 6% de la producción de vinos. De acuerdo con la organización internacional del vino en 2020, se produjeron

258 millones de hectolitros de vino. Esto significa unos impresionantes 15.48 millones de hectolitros de sedimento. Los sedimentos de vino son una mezcla compleja de células de levadura, ácidos orgánicos, carbohidratos insolubles, proteínas, sales, compuestos fenólicos, etanol, entre otros, donde las proteínas representan un 25% en peso, es decir, impresionantes 3.87 millones de toneladas (Fernández et al. 2021). Esto hace que sea una fuente muy atractiva para lograr obtener péptidos como PAGELHP, TVTNPARIA, los cuales son interesantes por tener aminoácidos como P, V, L, que han sido reportados como antihipertensivos (Bravo et al. 2022). En la tabla 1, se muestra la clasificación de aminoácidos, y sus códigos de tres y una letra.

Tabla 1. Clasificación de los aminoácidos

Por grupo	Código una letra	Código de tres letras	Nombre completo
No polares Alifáticos	A	Ala	Alanina
	G	Gly	Glicina
	L	Leu	Leucina
	V	Val	Valina
	M	Met	Metionina
Aromáticos	I	Ile	Isoleucina
	Y	Tyr	Tirosina
	F	Phe	Fenilalanina
Carga positiva	W	Trp	Triptófano
	R	Arg	Arginina
	H	His	Histidina
Sin carga	K	Lys	Lisina
	P	Pro	Prolina
	N	Asn	Asparagina
	Q	Gln	Glutamina
	S	Ser	Serina
	T	Thr	Treonina
Carga negativa	C	Cys	Cisteína
	E	Glu	Glutamato
	D	Asp	Aspartato

Otro residuo potencial al que se ha podido obtener un beneficio adicional son las proteínas derivadas de la patas de pollo, ya que en algunos casos esto no se había aprovechado, Bravo et al. 2019 ha demostrado que es una gran fuente para obtener hidrolizados con propiedades antihipertensivas, y con ayuda de complejos enzimáticos como (Protamex®) han podido liberarlos, estos péptidos los fraccionó de acuerdo a su tamaño molecular y su hidrofobicidad por ultrafiltración y por RP-HPLC respectivamente. Posteriormente se llevó a cabo la secuenciación de los péptidos que tuvieron mayor actividad inhibitoria frente a la ECA, obteniendo IC50 menores a 100µM, estos fueron probados en un modelo murino. Los péptidos que tuvieron mayor actividad fueron AVFQHNCQE y QVGPLIGRYCG 44.8 y 11µM respectivamente. Otro ejemplo es el caso de los hidrolizados de la proteína de jengibre y cúrcuma, donde Sompinit et al. 2020 usó pepsina y tripsina para su liberación y su secuenciación posterior mediante cromatografía líquida con espectrometría de masas. Además de encontrar propiedades antihipertensivas, también exhibieron propiedades antioxidantes. El péptido más interesante fue VTYM cuyo IC50 fue de 16.4µmol/L, mientras que los péptidos con mayor actividad inhibitoria de la cúrcuma fueron CGVGAA, DVDP, quienes tuvieron un IC50 de 18.3 y 19.0 µmol. También se pueden obtener péptidos con propiedades antihipertensivas de fuentes marinas como (Lee et al. 2014) que obtuvo a partir de la piel de salmón (*Oncorhynchus keta*) con ayuda de enzimas comerciales como: papaína, quimiotripsina y pepsina en condiciones controladas. Se monitoreó la actividad inhibitoria, se purificaron los diferentes péptidos y encontraron que el péptido que mejor actividad mostró fue GLPLNLP cuyo peso molecular fue de 770Da con un IC50 de 18.7µM.

Por otro lado, Las propiedades nutricionales de la leche son ya conocidas y sabemos que es un alimento rico en proteína, por ello es propicio aprovechar esta bondad, como Elkhtab et al. 2017 pudo liberar péptidos con potencial antihipertensivo por medio de una fermentación con bacterias obtenidas y aisladas de su cultivo Kombucha (medio hecho de té verde e inóculo Kombucha), donde midió la actividad inhibitoria, purificó e identificó los péptidos por medio espectrometría de masas. 3 péptidos, VAPFPEVFGK, LVYPFPGPLH y FVAPEPFVFGKEK demostraron tener la mayor actividad con un IC50 de 0.03, 0.03 y 0.75 µM, respectivamente. Por otra parte, los alimentos cárnicos porcinos son ampliamente conocidos y distribuidos, (Kong et al. 2020) llevaron a cabo una fermentación con bacterias (*Lactobacillus plantarum* CD101 y *Staphylococcus simulans* NJ201) en medio MRS y TSA a temperaturas entre los 37 y 30°C por 24h. Posteriormente evaluaron la actividad del hidrolizado y purificaron los péptidos menores de 3kDa. El hidrolizado que obtuvieron con estas 2 cepas bajo estas condiciones demostró tener un IC50 250µg/mL. En la tabla 2 observamos algunos ejemplos de péptidos obtenidos a

partir de diferentes fuentes, así como su capacidad inhibitoria frente a la ECA.

Tabla 2.- Ejemplos de péptidos obtenidos de diferentes fuentes y su capacidad inhibitoria frente a la ECA.

Modelo	Origen	Tipo de liberación	Péptido	*IC <sub>50</sub>	Referencia
<i>In vitro</i>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Alcalase®	Hidrolizado <1kDa	3.6µg/mL	(Ketnawa et al. 2019)
<i>In vitro</i>	Jengibre	Pepsina y tripsina	VTYM	16µmol/L	(Sompinit et al. 2020)
<i>In vitro</i>	Leche	Fermentación con <i>L. lactis</i>	DDQNP	0.034µg/mL	(Rodríguez-Figueroa et al. 2012)
<i>In vitro</i>	<i>Mytilus edulis</i>	Corolase®	Hidrolizados	790µg/mL	(CunhaNeves et al. 2022)
<i>In vitro</i>	<i>Camellia oleifera</i>	Tripsina, proteasa alkanina, papaína	Hidrolizados <1kDa	678µg/mL	(Yao et al. 2019)
<i>In vitro</i>	Pata de pollo	Protamex®	AVFQHNCQE, QVGPLIGRYCG	100µM	(Bravo et al. 2019)
<i>In vitro</i>	Leche	Fermentación con inóculo Kombucha	VAPFPEVFGK, LVYPFPGPLH y FVAPEPFVFGKEK	0.03, 0.03 y 0.75µM respectivamente	(Elkhtab et al. 2017)
<i>In vitro</i>	Cárnicos porcinos	Fermentación con <i>L. plantarum</i> y <i>S. simulans</i>	Hidrolizados <3kDa	250µg/mL	(Kong et al. 2020)

\*Cantidad necesaria para inhibir el 50% de la actividad máxima de la ECA.

## CONCLUSIONES

Las moléculas bioactivas actualmente están teniendo un gran auge, pues son consideradas una gran alternativa para tratar o controlar diversos padecimientos. La posibilidad de aprovechar recursos que por naturaleza podrían ser considerados desechos, resulta benéfico para quienes los producen y para quienes los aprovechan económicamente hablando. El uso de microorganismos como las BALs, y los complejos enzimáticos para la liberación de péptidos es recomendable por la presencia de enzimas que ayudan a liberación de estos y puede hacerse la producción a gran escala y controlada. Los péptidos son provenientes de fuentes naturales y podrían aportar más de un beneficio, ya que se ha probado que algunos péptidos presentan diferentes actividades además de antihipertensivos. Por su puesto los péptidos antihipertensivos han demostrado inhibir la actividad de la ECA y por ende controlar la presión alta y lo mejor es que no se han reportado efectos secundarios.

## AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Investigación y Posgrado-IPN, y al CONACYT por el apoyo a los proyectos [20210150] y [256478].

## REFERENCIAS

Bravo I, Capdevila A, López R, Torres C, Mulero M, Alcaide M, Muguerza B (2022) Identification of novel antihypertensive peptides from wine lees hydrolysate. *Food Chemistry* 366(March 2021).

Bravo I, Capdevila A, Margalef M, Arola A, Muguerza B (2019) Novel Antihypertensive Peptides Derived from Chicken Foot Proteins. *Molecular Nutrition and Food Research* 63: 1–8.

Cunha A, Harnedy A, Fitz J (2022) In vitro angiotensin-converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory, and antioxidant activity of blue mussel (*Mytilus edulis*) byssus collagen hydrolysates. *European Food Research and Technology* 248: 1721–1732.

Elkhtab E, Alfay M, Shenana M, Mohamed A, Yousef E (2017) New potentially antihypertensive peptides liberated in milk during fermentation with selected lactic acid bacteria and kombucha cultures. *Journal of Dairy Science* 100: 9508–9520.

Fan H, Liao W, Wu J (2019) Molecular interactions, bioavailability, and cellular mechanisms of angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides. *Journal of Food Biochemistry* 43: 1–8.

Guang C, Phillips D, Jiang B, Milani F (2012) Three key proteases - Angiotensin-I-converting enzyme (ACE), ACE2 and renin - Within and beyond the renin-angiotensin system. *Archives of Cardiovascular Diseases* 105: 373–385.

Gupta R, Gupta P, Prakash H, Agrawal A, Sharma K, Deedwania C (2018) 25-Year trends in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control in an Indian urban population: Jaipur Heart Watch. *Indian Heart Journal* 70: 802–807.

Kaur A, Kehinde A, Sharma P, Sharma D, Kaur S (2021) Recently isolated food-derived antihypertensive hydrolysates and peptides: A review. *Food Chemistry* 346: 128719.

Ketnawa S, Suwal S, Huang Y, Liceaga M (2019) Selective separation and characterisation of dual ACE and DPP-IV inhibitory peptides from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) protein hydrolysates. *International Journal of Food Science and Technology* 54: 1062–1073.

Kong W, Feng M, Sun J (2020) Effects of *Lactobacillus plantarum* CD101 and *Staphylococcus simulans* NJ201 on proteolytic changes and bioactivities (antioxidant and antihypertensive activities) in fermented pork sausage. *Lwt* 133: 109985.

Lee K, Jeon K, Byun G (2014) Antihypertensive effect of novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) skin in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Functional Foods* 7: 381–389.

López R, Margalef M, Torres C, Ávila J, Aragonès G, Muguerza B, Bravo I (2021) Enzyme-assisted extraction to obtain phenolic-enriched wine lees with enhanced bioactivity in hypertensive rats. *Antioxidants* 10: 1–18.

Martin M, Deussen A (2019) Effects of natural peptides from food proteins on angiotensin converting enzyme activity and hypertension. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59: 1264–1283.

Rodríguez C, González F, Torres J, Garcia S, Vallejo B (2012) Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *Journal of Dairy Science* 95: 5536–5543.

Sompinit K, Lersiripong S, Reamtong O, Pattarayingsakul W, Patikarnmonthon N, Panbangred W (2020) In vitro study on novel bioactive peptides with antioxidant and antihypertensive properties from edible rhizomes. *Lwt* 134: 110227.

Wu N, Xu W, Liu K, Xia Y, Shuangquan (2019) Angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from *Lactobacillus delbrueckii* QS306 fermented milk. *Journal of Dairy Science* 102:7 5913–5921.

Yao L, He W, Wu G, Chen J, Hu W, Yu J (2019) Purification of Angiotensin-I-Converting enzyme inhibitory peptides derived from *Camellia oleifera* Abel seed meal hydrolysate. *Journal of Food Quality* 2019.