

1.- PEPTIDASAS. INTRODUCCIÓN

1.1. DIVERSIDAD DE LAS ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

La proteólisis juega un rol importante en muchos procesos biológicos tales como la digestión, el recambio de proteínas y la defensa de patógenos (Runeberg-Roos *et al.*, 1994). En los tejidos vegetales, la mayor parte de la investigación se ha centrado en el rol de las peptidasas en la movilización de las reservas proteicas (Glathe *et al.*, 1998), en la activación de proenzimas (Faro *et al.*, 1998) y en la degradación de proteínas defectuosas (Vallon & Kull, 1994).

1.1.1. Clasificación y mecanismos

Las enzimas que hidrolizan enlaces peptídicos son designadas como proteasas, proteinasas, peptidasas o enzimas proteolíticas. La *Enzyme Commission* (EC) del *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (NC-IUBMB, 1992) recomienda el término general **peptidasas** para todas las enzimas que hidrolizan enlaces peptídicos. Esta recomendación es adoptada por Barret *et al.* (1998) en un tratado actual sobre el tema.

La EC (NC-IUBMB, 1992) divide las peptidasas en exo- y endopeptidasas. Las exopeptidasas pueden, a su vez, ser amino- o carboxipeptidasas. Las endopeptidasas son clasificadas por dicha comisión en base al mecanismo catalítico en serínicas, cisteínicas, aspárticas y metaloendopeptidasas.

Barrett *et al.* (1998) utilizan una clasificación diferente de la EC, pues consideran que las peptidasas son listadas allí en forma arbitraria. Estos autores agrupan las peptidasas en familias y clanes, sobre la base de su estructura primaria y terciaria. Una **familia** reúne las peptidasas que muestran una relación estadísticamente significativa entre las secuencias de aminoácidos de la parte de la molécula responsable de la actividad proteolítica. Un **clan** es un grupo de familias cuyos miembros han evolucionado a partir de la misma proteína ancestral pero que han divergido lo suficiente como para que sus estructuras primarias no sean comparables.

Además Barrett *et al.* (1998) agrupan la peptidasas en tipos catalíticos de acuerdo a la naturaleza de los grupos responsables de la catálisis. En ese sentido reconocen cinco clases: serínicas, treonínicas, cisteínicas, aspárticas y metalopeptidasas. Cada familia de peptidasas es nombrada con una letra que denota el tipo catalítico (S, T, C, A y M) seguida de un número arbitrario; las peptidasas cuyo mecanismo catalítico se desconoce se agrupan en la familia U.

1.1.1.1. Peptidasas serínicas (EC 3.4.21) y treonínicas

Las peptidasas en las cuales el mecanismo catalítico depende del hidroxilo de un residuo de serina que actúa como nucleófilo sobre el enlace peptídico son llamadas peptidasas serínicas. Barrett *et al.* (1998) distinguen siete clanes de peptidasas serínicas al comparar las estructuras terciarias y el orden de los residuos catalíticos en las secuencias.

Pertenecen a este grupo las familias de la tripsina y de la subtilisina. Las enzimas que integran la familia de la tripsina son todas endopeptidasas y están presentes tanto en microorganismos procarióticos como eucarióticos, así como en plantas, invertebrados, vertebrados y en virus a ARN (Caffini *et al.*, 1988; Barrett *et al.*, 1998).

La actividad de las peptidasas serínicas suele ser máxima a valores de pH alcalinos, no requiriendo en general activadores, aunque los iones calcio activan algunas proenzimas y podrían estabilizar determinadas enzimas (López, 1995).

Por razones prácticas, las poco conocidas familias de peptidasas dependientes de treonina son incluidas por Barrett *et al.* (1998) dentro del séptimo clan (TA) de las serín-peptidasas, que son todas endopeptidasas en las que el nucleófilo puede ser serina, treonina o cisteína y que incluye enzimas en las que la única actividad es activarse así mismas.

1.1.1.2. Peptidasas cisteínicas (EC 3.4.22)

Las peptidasas cisteínicas presentan gran analogía en el mecanismo catalítico con las serínicas, en razón de que en ambos grupos la enzima y el sustrato forman un complejo covalente debido a que el nucleófilo es parte de un aminoácido. El dador de protones en todas las peptidasas cisteínicas identificadas es un residuo de histidina (al igual que en la mayoría de las peptidasas serínicas) y el nucleófilo es el grupo sulfidrilo de un residuo de cisteína (Barrett *et al.*, 1998).

Son peptidasas cisteínicas la papaína, la quimopapaína, la bromelina, la cruzipapaína, las caspasas, las catepsinas lisosomales de mamíferos, las calpaínas citosólicas y varias endopeptidasas virales.

Este tipo de enzimas manifiestan su actividad a pH variable según el tipo de enzima y de sustrato. Así, las ubicadas en los lisosomas actúan generalmente a pH ácido, en tanto que la papaína tiene actividad en un amplio rango de pH y las calpaínas son activas a pH superiores a 7,5 (López, 1995).

Dado que el mecanismo catalítico de estas enzimas utiliza a la cisteína como donador de protones, se pueden activar con tioles de bajo peso molecular como tioglicolato, ditiotreitól, 2-mercaptoetanol o cisteína (Storey & Wagner, 1986).

1.1.1.3. Peptidasas aspárticas (EC 3.4.23)

Las peptidasas aspárticas (APs) están ampliamente distribuidas, encontrándose en vertebrados, hongos, plantas, protozoos y retrovirus. Son todas endopeptidasas y se caracterizan por presentar un pH óptimo en el rango ácido y por ser específicamente inhibidas por pepstatina A.

Todos los miembros de la familia A1 de la pepsina han sido hallados en eucariotas. Esta familia incluye a enzimas del tracto digestivo animal, como la pepsina, gastricsina y quimosina, enzimas lisosomales como la catepsina D y E y enzimas involucradas en procesos postraduccionales, como la renina producida en el riñón, que procesa angiotensinógeno en el plasma (Caffini *et al.*, 1988). Las aspartil-peptidasas fúngicas homólogas de la pepsina presentan diversas estructuras y algunas de ellas como la AP de *Rhizopus chinensis* (rizopuspepsina) intervienen en el proceso de esporulación. Las plasmepsinas I y II aisladas del protozoo *Plasmodium falciparum* también son APs homólogas de la pepsina (Barrett *et al.*, 1998) que participan en la degradación de la hemoglobina y cuya inhibición es el blanco de potenciales drogas antimaláricas (Bernstein & James, 1999).

La mayoría de las APs de mamíferos y hongos son enzimas de cadena simple con un peso molecular de aproximadamente 35 kDa. Son sintetizadas como zimógenos inactivos que contienen un segmento N-terminal de aproximadamente 45 aminoácidos, que es cortado y separado en la activación (Davies, 1990).

En plantas se han aislado peptidasas aspárticas en monocotiledóneas (Doi *et al.*, 1980; Belozersky *et al.*, 1989; Sarkkinen *et al.*, 1992), dicotiledóneas (Polanowski *et al.*, 1985; Heimgartner *et al.*, 1990; Rodrigo *et al.*, 1991; Veríssimo *et al.*, 1996) y en gimnospermas (Salmia *et al.*, 1978; Bourgeois & Malek, 1991). Ha sido determinada la especificidad hidrolítica de algunas de estas peptidasas aspárticas (Faro *et al.*, 1992; Kervinen *et al.*, 1993), pero su función biológica es poco conocida.

1.1.1.3.1. Mecanismo de acción

El mecanismo catalítico involucra residuos de ácido aspártico en el sitio activo de la cadena peptídica, unidos a una molécula de agua que es la que actúa como nucleófilo (Barrett *et al.*, 1998). No existen grupos funcionales de estas enzimas que provoquen un ataque nucleofílico sobre el carbonilo de la unión peptídica a escindir y por lo tanto no hay intermediario covalente entre la enzima y el sustrato (Hofmann *et al.*, 1984).

En general, las peptidasas aspárticas actúan mejor sobre uniones peptídicas de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas (Leu-Tyr, Phe-Phe, Phe-Tyr, etc.) pero la afinidad por el sustrato varía grandemente: la pepsina degrada la mayor parte de las

proteínas hasta pequeños péptidos, pero las enzimas utilizadas en la fabricación de quesos coagulan la leche por medio de la escisión selectiva de la unión peptídica Phe105-Met106 de la κ -caseína (Asakura *et al.*, 1997).

1.1.1.3.2. Estructura tridimensional

Los estudios cristalográficos han revelado que las enzimas de la familia de la pepsina son moléculas bilobuladas con el sitio activo localizado entre los dos lóbulos y que cada lóbulo contribuye con un residuo de ácido aspártico. Los lóbulos son homólogos. La secuencia de las dos regiones catalíticas de la mayoría de las APs es característica; en el dominio N-terminal se presenta el motivo: aminoácido hidrofóbico (generalmente Phe)-Asp32-Thr-Gly-Ser y en el dominio C-terminal: (aminoácido hidrofóbico)-Asp215-Thr-Gly-Ser/Thr, siguiendo la numeración de pepsina (Davies, 1990). Si bien en muchas APs los residuos Asp catalíticos están contenidos en la secuencia Asp-Thr-Gly de ambos lóbulos, las APs de plantas contienen Asp-Ser-Gly en uno de los sitios (Mutlu & Gal, 1999).

Por otro lado, las moléculas de la familia de la retropepsina (clan AA) presentan sólo un lóbulo y un residuo catalítico aspártico, por lo que su actividad requiere la formación de un homodímero no covalente. Dentro de esta familia se incluye a la enzima procesadora de poliproteínas del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), del virus del sarcoma de Rous, de la mieloblastosis aviar y del mosaico del coliflor (Rawlings & Barrett, 1995; Barrett *et al.*, 1998).

1.1.1.4. Metalopeptidasas (EC 3.4.24)

Las familias de las metalopeptidasas se pueden reunir en dos grupos: las peptidasas que sólo requieren iones cinc para la catálisis y las que necesitan dos iones metálicos que actúen cocatalíticamente, como es el caso de las peptidasas en las que el cobalto y el manganeso son esenciales para su actividad (Barrett *et al.*, 1998).

El ataque nucleofílico sobre el enlace peptídico es mediado, al igual que en las peptidasas aspárticas, por una molécula de agua (Barrett *et al.*, 1998).

La más estudiada de las metalopeptidasas es la termolisina del *Bacillus thermoproteolyticus*, cuyo sitio activo contiene un átomo de cinc unido a cadenas laterales de histidina y de ácidos glutámico (Caffini *et al.*, 1988).

1.1.1.5. Peptidasas de mecanismo catalítico desconocido

En este grupo se incluyen todas aquellas peptidasas a las que, con la información disponible al momento, no es posible ubicarlas en ninguna de las cinco categorías anteriores. Incluyen di-, endo-, carboxi- y omegapeptidasas que participan del

metabolismo de la pared bacteriana, que hidrolizan diversas proteínas de bacterias y virus o que están involucradas en la esporulación de algunas especies de *Bacillus* (Barrett *et al.*, 1998).

1.2. INHIBIDORES DE PEPTIDASAS

El efecto de los inhibidores permite tener información acerca del tipo catalítico de una peptidasa, aunque pocos de los inhibidores disponibles son reactivos perfectos de diagnóstico, dado que pueden ocurrir falsos positivos y falsos negativos. Cuando se detecta una inhibición parcial, el efecto del tiempo de exposición de la enzima al inhibidor sobre el grado de inhibición, puede ser informativo (Barrett, 1994).

1.2.1. Peptidasas serínicas

La 3,4-dicloro-isocumarina (3,4-DCI) es el reactivo de elección para reconocer las peptidasas serínicas, pues reacciona rápida e irreversiblemente con la mayoría de ellas. Otros reactivos que son útiles para la identificación de este tipo de peptidasas son: el DFP (diisopropilfluorofosfato) y el PMSF (fenilmetilsulfonilfluoruro). Ambos pueden también inhibir peptidasas cisteínicas, pero su efecto es reversible por el agregado de compuestos tiólicos. La desventaja del DFP es su neurotoxicidad (inhibe la acetil colinesterasa), la que se ve incrementada por su volatibilidad (Barrett, 1994). Otras herramientas útiles para identificar peptidasas serínicas son los inhibidores naturales reversibles: aprotinina y el inhibidor de tripsina de soja (Storey & Wagner, 1986).

1.2.2. Peptidasas cisteínicas

Las peptidasas cisteínicas del grupo de la papaína y la calpaína son susceptibles a la rápida, específica e irreversible inactivación por parte del compuesto E-64 (L-trans-epoxisuccinil-leucilamida-(4-guanidino)-butano). Una característica importante del E-64 y otros inhibidores epóxidos es que no reaccionan con tioles de bajo peso molecular, como cisteína y ditiotreitól.

Otras peptidasas cisteínicas (clostripaina, estreptopaína) son pobremente inhibidas por el E-64 y se deben usar reactivos generales para grupos tioles para reconocerlas (iodoacetato, iodoacetamida); estos últimos presentan el inconveniente de reaccionar también con los activadores de las peptidasas cisteínicas (Barrett, 1994).

Algunos de los inhibidores usados para peptidasas cisteínicas no son específicos. Así, los aldehidos y clorometanos peptidílicos como quimostatina y leupeptina pueden reaccionar con peptidasas cisteínicas y serínicas (Storey & Wagner, 1986).

1.2.3. Peptidasas aspárticas

Relativamente pocos inhibidores actúan sobre las peptidasas aspárticas. El complejo de la diazoacetil-DL-norleucina metil éster (DAN) con iones cobre y el EPNP (1,2-epoxy-3-(*p*-nitrofenoxi) inactivan la mayoría de ellas. El más efectivo de los inhibidores de estas peptidasas es la pepstatina A, un isovaleril-pentapéptido (*Figura 1*) aislado de cultivos de varias especies de *Streptomyces*, que en una concentración final de 1-5 μM inhibe reversiblemente la mayoría de las APs y no afecta otro tipo de peptidasas (Barrett, 1994).

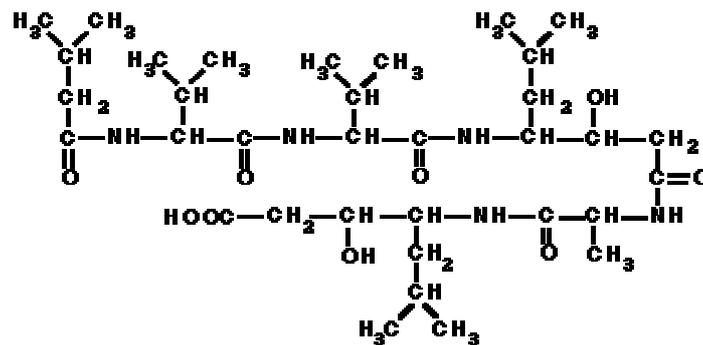


Figura 1.- Estructura de la pepstatina A: Isovaleril-Val-Val-AHMHA-Ala-AHMHA. (AHMHA = ácido heptanoico-4-amino-3-hidroxi-6-metilo)

1.2.4. Metalopeptidasas

La mayoría de los inhibidores de las metalopeptidasas actúan como quelantes del átomo de cinc catalítico. La 1,10-fenantrolina es el más usado de estos inhibidores, mientras que el quelante inespecífico EDTA no provee certeza de que la enzima pertenezca a este grupo pues muchas peptidasas de otros tipos son activadas por cationes como el Ca^{+2} (Barrett, 1994).

1.3. PRINCIPALES APLICACIONES DE LAS PEPTIDASAS

1.3.1. Elaboración de quesos

1.3.1.1. Mecanismo de la coagulación

Dalgleish (1992) considera que la coagulación de la leche por el tratamiento con el cuajo ocurre en dos etapas. La primera es la fase enzimática, durante la cual se produce el ataque de la κ -caseína por enzimas proteolíticas contenidas en el cuajo y la segunda es la fase de coagulación de las micelas que han sido desestabilizadas por el ataque enzimático (*Figura 2*).

Las micelas de caseína bovina son partículas esféricas compuestas de varios miles de moléculas individuales de los cuatro tipos de caseína (α_{s1} , α_{s2} , β , κ) y fosfato de calcio en estado insoluble. Las diferentes caseínas no están homogéneamente distribuidas en la partícula; en particular, la κ -caseína está localizada principalmente en la superficie de la micela. La molécula de κ -caseína consta de dos regiones: la hidrofóbica *para*- κ -caseína (residuos 1-105) y el caseín-macropéptido hidrofílico (residuos 106-169). En su posición natural sobre la superficie de la micela, la κ -caseína se une al resto de la micela por la parte hidrofóbica, quedando el caseín-macropéptido en la superficie interactuando con el solvente.

Las enzimas coagulantes de la leche cortan la κ -caseína en la unión entre la *para*- κ -caseína y el caseín-macropéptido, es decir entre el residuo Phe105 y Met106. Cuando esto ocurre, el macropéptido difunde dentro del suero, disminuye su actividad estabilizante y cuando ha sido hidrolizada una cantidad suficiente de κ -caseína las micelas coagulan, debido a su carácter hidrofóbico.

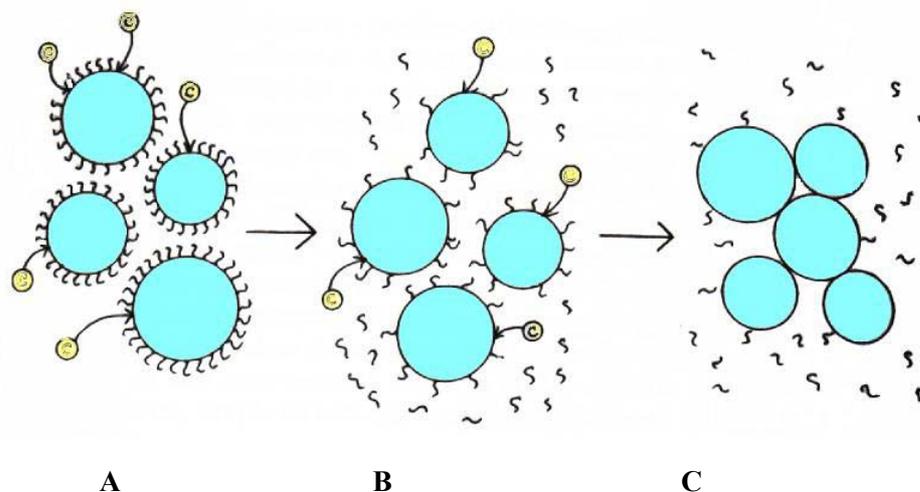


Figura 2.- Esquema del ataque de las enzimas coagulantes (esferas pequeñas) sobre las micelas de caseína (esferas grandes). A) micelas con las cadenas de κ -caseína intacta; B) comienzo de la hidrólisis de la κ -caseína por las enzimas proteolíticas; C) agregación de las micelas por la hidrólisis de la κ -caseína.

Las variaciones en las condiciones de coagulación pueden afectar diferencialmente las dos etapas de la coagulación de la leche. Así, Eck (1990) estableció que el fenómeno de la coagulación es fuertemente dependiente de la temperatura, con mayor velocidad a 40-42°C. Esta influencia de la temperatura es consecuencia de la conjunción de dos efectos, uno sobre la reacción enzimática y el otro sobre la fase de coagulación.

Se observan también diferencias en el tiempo de coagulación con el valor del pH y la concentración de iones calcio. El tiempo de coagulación es más corto y el gel más firme en la medida que el pH desciende por debajo del pH normal de la leche. Por el contrario, a pH superior a 7 no se produce la coagulación (Eck, 1990).

1.3.1.2. Enzimas proteolíticas

La renina o cuajo, conjunto de endopeptidasas que integran los fermentos gástricos de los mamíferos lactantes, ha sido tradicionalmente usada para producir la coagulación de la leche. Contiene quimosina que hidroliza específicamente el enlace Phe105-Met106 de la κ -caseína bovina. Aunque existen diferencias entre las quimosinas de diferentes especies, estas enzimas se caracterizan como peptidasas gástricas neonatales con débil actividad proteolítica y alta actividad coagulante de la leche (Foltmann & Szecsi, 1998). Debido a la escasez y al alto costo de las peptidasas gástricas fetales o neonatales de mamíferos se ha intensificado en los últimos años la búsqueda de nuevos coagulantes de la leche. Además de las razones económicas, en algunos países inciden principios religiosos y culturales. Mas aún, debido a su importancia comercial, la proquimosina de ternero ha sido clonada y expresada en *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* y diferentes hongos filamentosos (Foltmann, 1993; Foltman & Szecsi, 1998).

Cualquier sustituto de la quimosina que se elija debe no sólo coagular la leche, sino también tener baja actividad proteolítica y producir quesos de características reológicas y de sabor aceptables.

Si bien han sido investigadas muchas enzimas, sólo unas pocas están siendo utilizadas en la elaboración de quesos, debido a que las diferencias en la estabilidad y en el pH óptimo de las peptidasas utilizadas pueden hacer necesario modificar el proceso de elaboración. Se utilizan principalmente quimosina bovina, pepsina de cerdo, mezcla de quimosina y pepsina bovinas (1:1) y algunas peptidasas de hongos (Dalglish, 1992).

Dentro de las enzimas fúngicas, se han ensayado particularmente las de *Mucor bacilliformis* (Areces *et al.*, 1992), *M. pusillus* (Arima *et al.*, 1970), *Penicillium roqueforti* (Paquet & Gripon, 1980), *P. caseicolum* (Lenoir *et al.*, 1979), *P. camemberti* (Chrzanowska *et al.*, 1995) y varios *Basidiomycetes* (Kobayashi *et al.*, 1994), aunque su uso en la fabricación de quesos no se ha generalizado.

Varias peptidasas de plantas son capaces de coagular la leche, aunque la mayoría son inapropiadas para la producción de quesos debido a su alta actividad proteolítica, que produce la degradación del coágulo. Así, Gupta & Eskin (1977) estudiaron la actividad coagulante de la leche de extractos parcialmente purificados de *Benincasa cerifera*. A su vez, Yamaguchi *et al.* (1982) detectaron alta actividad proteolítica en

jenjibre, espárrago y en frutos tales como higo, kiwi y ananá. También se han estudiado en este sentido las peptidasas presentes en hojas de *Calotropis procera* (Aword & Nakai, 1986; Aword & Muller, 1987), en semillas de *Oryza sativa* (Asakura *et al.*, 1997), en tallos de *Dieffenbachia maculata* (Padmanabhan *et al.*, 1993), en semillas, hojas y flores de *Onopordum turcicum* (Tamer, 1993) y en flores de *Centaurea calcitrapa* (Tavaria *et al.*, 1997) y de *Cynara cardunculus* L. (Heimgartner *et al.*, 1990; Cordeiro *et al.*, 1992; Veríssimo *et al.*, 1995).

1.3.2. Elaboración de cerveza

Las peptidasas se utilizan en la industria de la cerveza con la finalidad de proporcionarle buena estabilidad coloidal a bajas temperaturas, es decir, impedir que como consecuencia del enfriamiento se manifieste turbiedad o se sedimenten componentes que se mantienen solubles a temperatura ambiente, como los complejos tanino-proteína. Se usan enzimas proteolíticas como papaína, ficina, bromelina o pepsina para digerir esos complejos. La hidrólisis requiere ser controlada, ya que la cerveza debe mantener una adecuada proporción de proteína coloidal para tener “cuerpo” y producir espuma abundante y duradera (Sicard, 1982).

1.3.3. Tiernización de carnes

Los habitantes de algunas regiones de Centro y Sudamérica utilizan el jugo de mamón (*Carica papaya* L.) para tiernizar las carnes que consumen. Esto se debe a que las peptidasas contenidas en dicho jugo producen la hidrólisis parcial de las proteínas del tejido conectivo (colágeno y elastina) y en menor grado las de las mismas fibras musculares (Caffini *et al.*, 1988). En la industria de la carne se logra un excelente tiernizado inyectando al animal por vía endovenosa, antes de ser faenado, una solución de enzima reversiblemente inactivada; la peptidasa es reactivada por el poder reductor que adquiere el músculo luego de la muerte (Bernholdt, 1982). Con este tratamiento también se mejora la digestibilidad del producto.

Las enzimas que se utilizan en la tiernización de carnes son: papaína, bromelina, ficina, elastasa, colagenasa y varias peptidasas microbianas (Uhlig, 1998).

1.3.4. Panificación

En panificación se adicionan peptidasas fúngicas aisladas de *Aspergillus oryzae*, papaína o bromelina para mejorar la textura y elasticidad de la masa, lo que provoca un incremento sustancial del volumen, con la consiguiente reducción del tiempo de amasado y mejor calidad del producto (Sicard, 1982). Esto se debe a la acción de las peptidasas

sobre el gluten. Peptidasas de diferente origen producen patrones peptídicos distintos, por lo que se debe seleccionar la enzima adecuada para cada tipo de producto (Uhlig, 1998).

1.3.5. Proteínas modificadas para la industria alimenticia

Otro uso importante de las enzimas proteolíticas consiste en la obtención de hidrolizados proteicos para la producción de aditivos alimentarios. Un problema que suele presentarse es la formación de péptidos con sabor amargo debido a la presencia de aminoácidos aromáticos, lo que se soluciona enmascarándolos con ácido glutámico o polifosfatos o evitando su formación al seleccionar cuidadosamente las peptidasas y las condiciones de reacción.

La hidrólisis parcial de ciertas proteínas permite modificar algunas de sus propiedades fisicoquímicas, aumentando la solubilidad o la capacidad emulgente. En este sentido pueden emplearse hidrolizados de proteínas de soja y de trigo en la elaboración de bebidas, sopas, salsas, mayonesas y aderezos. También se han obtenido proteínas modificadas de soja y de trigo que producen espuma abundante y estable, lo que es de particular importancia en la fabricación de “souffles”, “mousses”, merengues, helados y cremas (Caffini *et al.*, 1988; Uhlig, 1998).

1.3.6. Aditivos en polvos detergentes

Otra aplicación de las peptidasas es su incorporación a polvos detergentes, en los que están habitualmente asociados a lipasas y amilasas. Las más utilizadas son las peptidasas de origen microbiano (Caffini *et al.*, 1988).

1.3.7. Manufactura de cueros

En la manufactura de cueros se utilizan enzimas proteolíticas para realizar la depilación de la piel y el posterior “batido”, que consiste en preparar el cuero para el teñido con la remoción de restos de pelos, glándulas, células epiteliales y tejidos superficiales no separados en tratamientos previos. Se utiliza principalmente pancreatina y se han ensayado con buenos resultados papaína, bromelina y peptidasas fúngicas y bacterianas (Sicard, 1982).

1.3.8. Uso en la industria textil

Las fibras textiles son “encoladas” con una preparación de polímeros (“colas”), a los efectos de aumentar la resistencia a la tracción y abrasión. Con posterioridad al hilado se deben “desencolar” los hilos para restituir las propiedades de los mismos. Como las fibras

artificiales son habitualmente impregnadas con gelatina, se usa para el “desencolado” la peptidasa neutra de *Bacillus subtilis* o la peptidasa alcalina de *B. licheniformis* (Sicard, 1982).

1.3.9. Usos farmacológicos

Se utilizan enzimas proteolíticas en tratamientos postquirúrgicos para el desbridamiento de heridas y en clínica gastroenterológica como coadyuvantes en trastornos digestivos. La aplicación más trascendente de estas enzimas radica en sus probadas propiedades antiinflamatorias, siendo papaína, bromelina y ficina las peptidasas más usadas en tal sentido (López, 1995).

Algunos investigadores mencionaron una presunta actividad citostática de la bromelina (Batkin *et al.*, 1988a, 1988b; Maurer *et al.*, 1988), aunque este efecto no ha sido confirmado por posteriores investigaciones.

También se ha ensayado el tratamiento de hernias de discos intervertebrales con inyecciones locales de quimopapaína, que actuaría hidrolizando los proteoglicanos presentes en la afección (Walreavens *et al.*, 1993).

Las peptidasas que hidrolizan secuencias específicas de la molécula de caseína pueden resultar de interés en el aislamiento e identificación de péptidos biológicamente activos. Así se han aislado péptidos derivados de caseína que poseen actividad opioidea, inmunoestimulante, antitrombótica, antibacteriana y/o antihipertensiva, entre otras (Loukas *et al.*, 1983; Fiat *et al.*, 1993; Dziuba *et al.*, 1999)