

# **CIGB-552: nuevo péptido penetrador con acción antitumoral mediada por el aumento de los niveles de la proteína COMMD1 en la célula de cáncer**

## **Autoría principal**

**Guerra Vallespi M.<sup>1</sup>, Fernández Massó JR<sup>1</sup> y Oliva Argüelles B<sup>1</sup>.**

## **Otros autores**

**O. Reyes Acosta<sup>1</sup>, H. Garay Perez<sup>1</sup>, L. Delgado Roche<sup>1</sup>, A. Cabrales Rico<sup>1</sup>, G. Pimentel<sup>1</sup>, J. Garza<sup>1</sup>, T. Basaco<sup>1</sup>, I. Sánchez<sup>1</sup>, C. Calderón<sup>1</sup>, J. C. Rodríguez<sup>1</sup>, Y. Tejeda Gomez<sup>1</sup>, O. Mendoza Fuentes<sup>1</sup>, Y. Soria<sup>1</sup>, I. Guillen Perez<sup>1</sup>, D. Palenzuela Gardon<sup>1</sup>, D. Vazquez Blomquist<sup>1</sup>, A. Musacchio Lasa<sup>1</sup>, S. Astrada<sup>1</sup>, M. Bollati Fogolín<sup>1</sup>, L. I Novoa Perez<sup>1</sup>, Y. Gómez Rodríguez<sup>1</sup>, M. Rivera Markelova<sup>1</sup>, I. Fichtner<sup>1</sup>.**

## **Colaboradores (CIGB)**

Gerardo Guillen Nieto, Raimundo Ubieta Gómez, Amanda Colarte González, Tamara Díaz Argudín, Héctor Santana Milian, Héctor Zarate, Arielis Rodríguez Ulloa, Lilian Alvarez, Aniel Sánchez Puente, Yassel Ramos Gomez, Dayana García Lines, Luis Javier González, Vladimir Besada Perez, Teresa Núñez, Isabel Apezteguia Rodriguez, Ever Pérez Hernández, Reinier Acosta Martín, Antonio Antequera Guevara, Juan Hernández Pinero, Mercedes Arencibia Leyva, Yamilé Pérez Chabas, Mariela Vazquez Castillo, Yamilka Rodriguez Barrera, Yeny Cascaret Nápoles, R. Estrada Vazquez, JA. Silva Guirado.

## **Entidad ejecutora**

<sup>1</sup>Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB).

## **Autor para correspondencia**

Maribel Guerra Vallespi.

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

Avenida 31, entre 158 y 190, Playa. CP 10600. La Habana, Cuba

Fax: 273-6008

Email: maribel.guerra@cigb.edu.cu

## **Aporte científico de cada autor al resultado**

- ✓ **Maribel Guerra Vallespi** (24%): Diseño, y dirección científica del estudio, ejecución y análisis de resultados experimentales, escritura de artículos y patente, defensa de resultados.
- ✓ **Julio R Fernández Massó** (18%): Diseño, ejecución y análisis experimentos identificación de blanco y expresión diferencial y mecanismos, escritura de artículo y patente.
- ✓ **Brizaida Oliva Argüelles** (18%): Ejecución y análisis experimentos validación de blancos y mecanismo de acción.
- ✓ **Oswaldo Reyes Acosta** (5%): Diseño y síntesis de péptidos.
- ✓ **Hilda Garay Perez** Diseño (5%): Diseño y síntesis de péptidos.
- ✓ **Liván Delgado Roche** (2%): Diseño, ejecución y discusión de estudios estrés oxidativo.
- ✓ **Ania Cabrales Rico** (2%): Estudios de estabilidad metabólica del péptido y participará en la farmacocinética del EC.

- ✓ **Gilmara Pimentel** (2%): Experimentos de farmacocinética y biodistribución.
- ✓ **Julio Garza** (2%): Experimentos de farmacocinética y biodistribución.
- ✓ **Tais Basaco** (2%): Experimentos de farmacocinética y biodistribución.
- ✓ **Iraida Sánchez** (2%): Experimentos de farmacocinética y biodistribución.
- ✓ **Carlos Calderón** (2%): Experimentos de farmacocinética y biodistribución.
- ✓ **Juan Carlos Rodriguez** (2%): Experimentos de farmacocinética y biodistribución.
- ✓ **Yelaine Tejeda Gomez** (2%): Ejecución y análisis experimentos interacciones.
- ✓ **Osmany Mendoza Fuentes** (1%): Ejecución de estudios preclínicos de eficacia.
- ✓ **Yordanka Soria** (1%): PK/BD en modelo de tumor.
- ✓ **Isabel Guillen Perez** (1%): Ejecución experimentos expresión diferencial.
- ✓ **Daniel Palenzuela Gardon** (1%): Ejecución experimentos expresión diferencial.
- ✓ **Dania Vazquez Blomquist** (1%): Ejecución experimentos expresión diferencial.
- ✓ **Alexis Musacchio Lasa** (1%): Diseño y ejecución de experimentos validación interacciones.
- ✓ **Soledad Astrada** (1%): Ejecución de experimentos microscopia confocal.
- ✓ **Mariela Bollati Fogolín** (1%): Diseño y análisis de resultados experimentos microscopia confocal.
- ✓ **Lidia I Novoa Perez** (1%): Diseño y discusión de estrategias farmacogenómica.
- ✓ **Yolanda Gómez Rodríguez** (1%): Ejecución y análisis experimentos mecanismo de acción.
- ✓ **Maria Rivera Markelova** (1%): Experimentos Farmacocinética y Biodistribución
- ✓ **Iduna Fichtner** (1%): Experimentos Farmacocinética y Biodistribución

## **Resumen**

El péptido CIGB-552, derivado de la proteína LALF del cangrejo herradura (*Limulus polyphemus*), es un candidato para la terapia del cáncer por su efecto antitumoral e inocuidad en modelos murinos de cáncer de pulmón y colon. Sin embargo, su mecanismo molecular de citotoxicidad no está bien esclarecido.

**Objetivos: 1:** Describir los mecanismos moleculares que participan en la actividad citotóxica del nuevo péptido. **2:** Demostrar la eficacia y seguridad del péptido en modelos animales de cáncer.

**Resultados:** Se obtuvo el nuevo péptido antitumoral CIGB-552 que demostró efecto citotóxico en líneas celulares de cáncer humano y en diversos modelos murinos de tumor. Se identificó que el CIGB-552 une y estabiliza la proteína COMMD1, la cual inhibe el factor de transcripción NF-κB, un factor vinculado con la proliferación, supervivencia y capacidad metastásica de la célula cancerígena. La acumulación de COMMD1 promueve la ubiquitinación de la subunidad RelA de NF-κB y su degradación proteosomal, provocando la apoptosis de la célula de cáncer. El CIGB-552 modula la expresión de genes relacionados con el ciclo celular, la apoptosis, el estrés oxidativo

entre otros. Se demuestra que el CIGB-552 induce el bloqueo de la proliferación celular seguido de la muerte por apoptosis y provoca daños oxidativos en los lípidos y las proteínas. Se desarrolló una formulación viable para su uso en humanos. Los estudios preclínicos realizados al CIGB-552 demuestran: (1) efecto antitumoral del CIGB-552 en modelos animales de cáncer de pulmón y colon; (2) efecto anti-angiogénico; (3) inocuidad del tratamiento a través del monitoreo del peso corporal de los animales; (4) acumulación del péptido en el tumor.

**Conclusiones:** Estos resultados avalan las posibilidades terapéuticas de este nuevo candidato terapéutico para el tratamiento del cáncer, relacionadas con su capacidad de potenciar mecanismos de apoptosis e inhibición de la angiogénesis en el tumor. Estas características lo hacen único a nivel mundial, constituyendo el primer péptido sintético dirigido a la estabilización de COMMD1 como vía de regulación de NF- $\kappa$ B.

## **Comunicación Corta**

### **Introducción**

A pesar de los avances médicos en oncología a nivel mundial el cáncer continúa como la segunda causa de muerte, superado solamente por las enfermedades cardiovasculares. Cada año en Cuba fallecen unas 19 mil personas debido a tumores malignos y se diagnostica un promedio de 29 mil nuevos casos. El cáncer es la primera causa de muerte de 15-49 años de edad (tasa de 32.5 /100 000 habitantes), y de 50-64 años (tasa de 290 /100 000 habitantes), según Anuario Estadístico de Salud 2010, Cuba.

El desarrollo de nuevos fármacos cada vez más selectivos y efectivos, que minimicen su toxicidad y que puedan usarse en combinación con la terapia estándar constituye un reto en la actualidad. Las terapias dirigidas contra blancos moleculares importantes en la supervivencia, proliferación y diseminación de la célula tumoral, están revolucionando el paradigma del tratamiento del cáncer y probablemente serán usadas en la mayoría de los pacientes en los próximos 10 años.

La relación entre la estructura primaria y la función biológica del LALF32-51 se estudió con el uso de una biblioteca química de péptidos, generada por sustitución de Ala, identificándose los aa esenciales en la unión al LPS y los aa relacionados con la actividad citotóxica. Partiendo de este conocimiento se diseñó un nuevo péptido denominado L-2, el cual pierde su capacidad de unión al LPS y demostró un mayor efecto citotóxico que el péptido AMP LALF32-51 (Vallespi y col., 2010). Estos hallazgos obtuvieron el premio de la ACC en el 2013. Un péptido de segunda generación CIGB-552 se originó por la sustitución de los aa en las posiciones 6 y 12 por sus respectivos D-aa y el bloqueo mediante la reacción de acilación del N-terminal del péptido L-2 para conferir resistencia a la degradación proteolítica. Investigaciones en nuestro proyecto, revelaron que el péptido antimicrobiano CIGB-552, también mostraba un efecto citotóxico en células de cáncer. Sin embargo, su mecanismo molecular de citotoxicidad no estaba esclarecido.

**Objetivos de la investigación:**

1. Describir los mecanismos moleculares que participan en la actividad citotóxica del nuevo péptido.
2. Demostrar la eficacia y seguridad del péptido en modelos animales de cáncer.

**Importancia del trabajo:**

El estudio de expresión diferencial de genes identificó la respuesta al estrés oxidativo dentro de las rutas y los procesos biológicos modulados por el CIGB-552 en la línea celular de cáncer de pulmón NCI-H460. Se demostró que el CIGB-552 provoca el aumento de las ERO, lo que provoca daños en la mitocondria e incrementa la oxidación de los lípidos y las proteínas. Por otra parte, los estudios de proteómica revelaron que el CIGB-552 interacciona con complejos biológicos esenciales para la proliferación y la supervivencia de las células tumorales. Además, se evidenció que la proteína COMMD1 es un blanco molecular del CIGB-552. El tratamiento con el CIGB-552 en la línea celular NCI-H460 provocó un aumento en la expresión de COMMD1 que resultó importante para la actividad citotóxica mediada por la apoptosis. Estos hallazgos aportan elementos sobre las bases moleculares que contribuyen a fundamentar el mecanismo citotóxico del CIGB-552. Desde el punto de vista práctico, los resultados de los estudios farmacológicos y toxicológicos avalan la seguridad del CIGB-552 para su uso en humanos.

**Resultados:**

***Caracterización de los mecanismos moleculares que participan en la actividad anticáncer del CIGB-552.*** El péptido antitumoral CIGB-552 facilita la acumulación de la proteína COMMD1 en células de cáncer. La acumulación de COMMD1 promueve la inhibición del factor transcripcional NF- $\kappa$ B, el cual está involucrado en la supervivencia de la célula de cáncer y la progresión del tumor. El CIGB-552 tiene la novedad de inhibir el factor NF- $\kappa$ B interviniendo en una vía de señalización posterior a la activación de las quinasas IKK e I $\kappa$ B. Además, el CIGB-552 modula la expresión de genes relacionados con el ciclo celular, la apoptosis y el estrés oxidativo entre otros. Se demuestra que el CIGB-552 induce el bloqueo de la proliferación celular seguido de la muerte de la célula por apoptosis. El CIGB-552 provoca un fallo de las defensas antioxidantes y este efecto está acompañado de daños oxidativos en los lípidos y las proteínas. La modulación del estrés oxidativo e inhibición del factor NF- $\kappa$ B, por el CIGB-552 puede ser la vía por la cual ocurre la sensibilización de las células de cáncer a los antitumorales citotóxicos como el 5-FU y el Cisplatino.

**Evaluación Preclínica.** Se desarrolló una formulación viable para su uso en humanos. Los estudios preclínicos realizados al CIGB-552 demuestran: (1) efecto antitumoral del CIGB-552 en modelos animales de cáncer de pulmón y colon; (2) efecto antiangiogénico; (3) tolerabilidad del tratamiento a través del monitoreo del peso corporal de los animales y (4) acumulación del péptido en el tumor lo que avala su seguridad para realizar ensayos clínicos fase I en pacientes con tumores sólidos.

**Conclusiones:**

Estos resultados avalan las posibilidades terapéuticas de este nuevo candidato terapéutico para el tratamiento del cáncer, relacionadas con su capacidad de potenciar

mecanismos de apoptosis e inhibición de la angiogénesis en el tumor. Estas características lo hacen único a nivel mundial, constituyendo el primer péptido sintético dirigido a la estabilización de COMMD1 como vía de regulación de NF-kB.

### **Publicaciones**

- ✓ Julio R. Fernández Massó, Brizaida Oliva Arguellez, Yelaine Tejeda, Soledad Astrada, Hilda Garay, Osvaldo Reyes, Livan Delgado-Roche, Mariela Bollati-Fogolín, and Maribel G. Vallespi. The Antitumor Peptide CIGB-552 Increases COMMD1 and Inhibits Growth of Human Lung Cancer Cells. *Journal of Amino Acids*. Volume 2013, Article ID 251398, 13 pages.
- ✓ M. Guerra Vallespi, J.R. Fernandez Masso, A. Musacchio Lasa, J. Gil Valdez, O. Reyes Acosta, B. Oliva Arguellez. Péptido que interacciona con la proteína COMMD1 y su uso en el tratamiento del cáncer. PCT/CU2011/000003. N0. Publicacion Internacional WO 2011/150897 A2. Otorgada en USA.
- ✓ Vallespi, M.G., Pimentel, G., Cabrales-Rico, A., Garza, J., Oliva, B., Mendoza, O., Gomez, Y., Basaco, T., Sanchez, I., Calderon, C., Rodriguez, J.C., Markelova, M.R., Fichtner, I., Astrada, S., Bollati-Fogolin, M., Garay, H.E. y Reyes, O. (2014) Antitumor efficacy, pharmacokinetic and biodistribution studies of the anticancer peptide CIGB-552 in mouse model. *Journal of peptide science : an official publication of the European Peptide Society*. Nov;20(11):850-859. doi: 10.1002/psc.2676. Epub 2014 Jul 20.