

# CARACTERIZACIÓN Y DISEÑO DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS.

## INTERÉS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

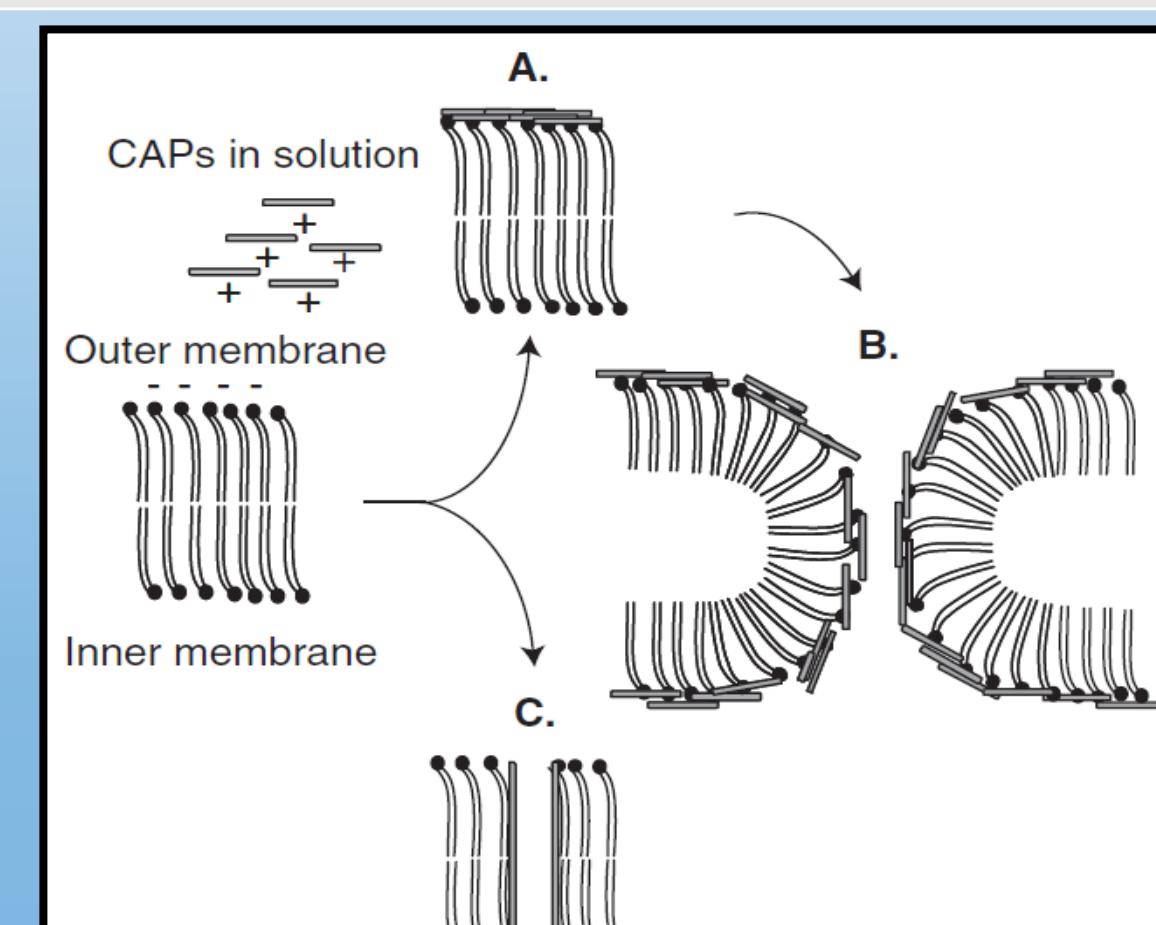
Daniel Balateu Paños ([balateud@gmail.com](mailto:balateud@gmail.com))

Grado en Bioquímica - Universidad Autónoma de Barcelona

Bellaterra, Junio 2015

### INTRODUCCIÓN

❖ Descubrimiento de sustancias bactericidas del sistema inmunitario conservadas evolutivamente en una gran variedad de especies; los péptidos antimicrobianos (AMPs)<sup>1</sup>. Dentro de los estos, se han caracterizado los *cationic antimicrobial peptides* (CAPs), péptidos con propiedades antitumorales<sup>2</sup>.

Características de los AMPs <sup>3</sup>	Características de las células tumorales <sup>2</sup>	Interacción electrostática <sup>2,4</sup> = MUERTE CELULAR
Sustancias aminoacídicas cortas (entre 10 y 50 aa) con carga positiva.	Presentan cargas aniónicas en su membrana por expresión de fosfatidil-Serina (las células sanas presentan fosfolípidos zwitteriónicos; carga neta nula).	Lisis directa → Se forman poros en la membrana y conduce a choque osmótico [Fig.1].
Amfipática debido al 50% de regiones hidrofóbicas.	Presentan microvellosidades (+ superficie membranal que células sanas).	Inserción celular y desestructuración de la membrana mitocondrial (activa vía CytC y caspasas → apoptosis).
Papel quimiotáctico → Recluta neutrófilos y linfocitos B.	No presentan colesterol (permiten unión lipídica).	
Sensibilidad a proteasas y producción de efecto hemolítico.		
		
		<p>Figura 1. A) Interacción CAPs-membrana. B) Barrel-stave model, Monómeros de hélice-α que agregan en la membrana y cambian la permeabilidad. Provoca que se formen poros. C)Carpet model. Se agregan a la membrana en paralelo y forman capas hasta que una concentración crítica. Entonces producen la desintegración de la membrana celular</p> <p>(*Imagen extraída de <a href="#">?</a>)</p>

❖ En las últimas 2-3 décadas, ha aparecido resistencia a antibióticos y a tratamientos antitumorales convencionales (ej. quimioterapia). Esto es un problema de salud pública para el cual es importante encontrar soluciones terapéuticas alternativas → Interesante optimizar y sintetizar AMPs.

Efectos negativos de la quimioterapia <sup>2,5</sup>
<i>Multidrug resistance</i> de células cancerosas: □↑ glicoproteínaP (drug transporter) y ↑ Bcl2 (factor antiapoptótico). □Mutaciones inhibidoras de p53 (tumor suppressor gene).
Citotoxicidad debida a la falta de selectividad (ataca a células tumorales y a células sanas).

Interés de los AMPs como agentes antitumorales <sup>2,4</sup>
No generan resistencia debido a: □ Gran selectividad para células tumorales (no interaccionan con células sanas). □ Su gran diversidad de estructuras (origen peptídico) y su corta longitud.
Facilidad de modificación, inmovilización en superficies y síntesis <i>de novo</i> para: □↑ Actividad anticancerígena □↓ Proteólisis y efectos hemolíticos.

### DISEÑO DE AMPs

❖ Para diseñar CAPs como fármacos se deben tener en cuenta distintos factores para llevar a cabo una síntesis correcta:

- Comprobar que tienen actividad antitumoral y que presentan una citotoxicidad baja.
- Poner énfasis en las características más esenciales para aumentar los beneficios.

❖ Existen distintos mecanismos para centrar el diseño:

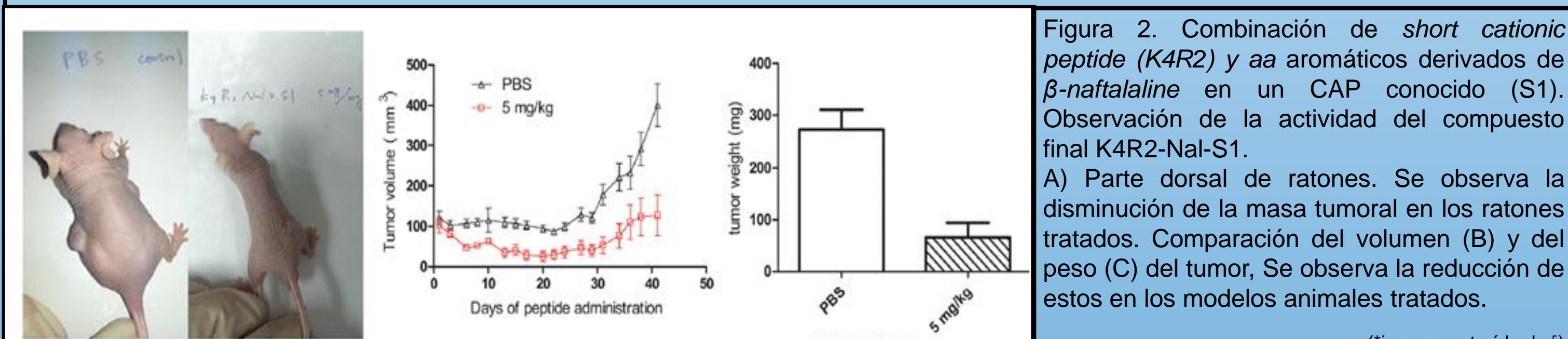
#### MODIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE AMPs CONOCIDOS

❖ Identificación de las secuencias aminoacídicas responsables de ↑ actividad antitumoral y ↓ citotoxicidad en células sanas y la modificación de estos. Uso de estos *patterns* de secuencia para desarrollar péptidos *de novo*<sup>4</sup>.

□ Truncamiento del CAP conocido (solamente aa esenciales) → Menor longitud significa menos hemólisis (pero no pueden ser inferior a 8aa).

□ Aumento de aminoácidos responsables de función en otras partes de la secuencia:  
    ↑ Residuos catiónicos causa mayor selectividad membranal  
    ↑ Residuos aromáticos permiten una mayor actividad lítica.

□ Combinación de métodos de truncamiento y de adición a CAPs conocidos<sup>5</sup> para optimizar sus propiedades antitumorales y citotóxicas [Fig.2].



#### HIBRIDACIÓN O QUÍMERIZACIÓN PEPTÍDICA

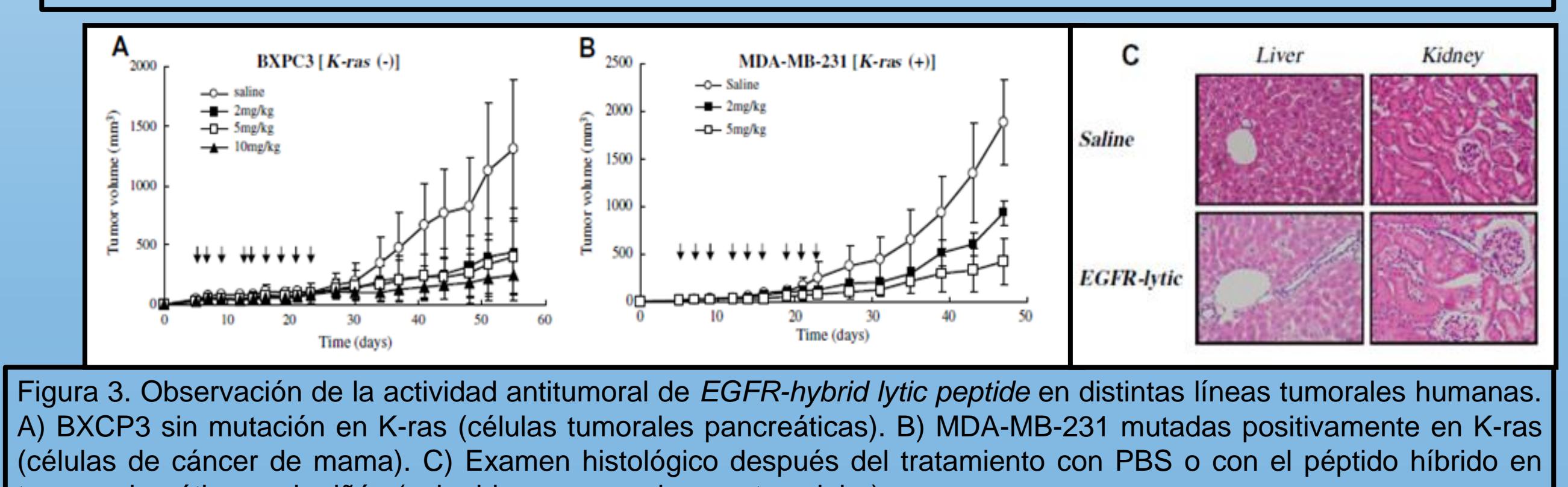
❖ Método basado en la fusión de secuencias peptídicas de CAPs conocidos o de otros péptidos presentes en el organismo<sup>6,7</sup>. Permite:  
□ ↑ Propiedades anticancerosas  
□ ↓ Reducción de la citotoxicidad  
□ Direccionamiento mediante la combinación de secuencias *target* con CAPs para poder aumentar su selectividad en zonas específicas del organismo (tumor con angiogénesis o hormonodependiente).

#### DISEÑO *de novo* POR SCREENING VIRTUAL

❖ Modelaje computacional que compara datos de escala molecular de distintos AMPs → Estimación cuantitativa de las propiedades fisicoquímicas y su actividad mediante estudios SAR (*structure-activity relation*)<sup>3</sup>.

❖ Son predicciones informáticas, por lo que se requiere la comparación con CAPs naturales para determinar si realmente se han mejorado sus características<sup>4</sup>.

- Diseño computacional de HFUs (*helix forming units*) formadas por un cuore tripeptídico de Phe, Ile y Arg → ↑ Actividad lítica y ↓ hemólisis como más unidades HFU se añadan (límite 3 unidades).
- Diseño computacional de un péptido cíclico de 14aa derivado de citotoxinas; el L1AD3 → Activa la vía de la caspasa 8 en células tumorales leucémicas (apoptosis y reducción de la masa tumoral).



### CONCLUSIONES

❖ AMPs son moléculas de gran interés para el futuro desarrollo de terapias antitumorales ya que no generan resistencia y pueden combinarse con quimioterapia (inhiben citotoxicidad).

❖ El método más prometedor de la biología sintética de AMPs es la hibridación de secuencias modificadas de AMPs conocidos con péptidos *target* específicos del individuo.

❖ La nanotecnología se prevé que permita la integración de CAPs en nanopartículas (protección hasta la diana).

❖ El efecto limitante es el elevado coste y tiempo de manufacturar estos AMPs. → Urge desarrollar nuevos métodos que permitan mejorar y simplificar el diseño (realizar + experimentos).

❖ Permitirán el tratamiento personalizado del cáncer y también las abre para el tratamiento de otro tipo de enfermedades como el caso de la infección por VIH.

#### REFERENCIAS

1. Rivas-santiago, B., C. M., Sada, E., Hernández-pando, R. & Tsutsumi, V. Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. **48**, 62–71 (2006).
2. Mader, J. S. & Hoskin, D. W. Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment. *Expert Opin. Investig. Drugs* **15**, 933–946 (2006).
3. Bahar, A. A. & Ren, D. Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals (Basel)* **6**, 1543–75 (2013).
4. Fjell, C. D., Hiss, J. A., Hancock, R. E. W. & Schneider, G. Designing antimicrobial peptides: form follows function. *Nature Reviews Drug Discovery* (2012). doi:10.1038/nrd3653
5. Chou, H.-L. et al. Novel Antimicrobial Peptides with High Anticancer Activity and Selectivity. *PLoS One* **10**, e0126390 (2015).
6. Kohno, M. et al. A novel hybrid peptide targeting EGFR-expressing cancers. *Eur. J. Cancer* **47**, 773–783 (2011).
7. Liu, Y., Xia, X., Xu, L. & Wang, Y. Design of hybrid β-hairpin peptides with enhanced cell specificity and potent anti-inflammatory activity. *Biomaterials* **34**, 237–250 (2013).