

Seminário Final de Acompanhamento e Avaliação

USO DE PEPTÍDEOS COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA NA FIBROSE PULMONAR

Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

Anamélia L. Bocca – coordenadora UnB

Celso Augusto M Silva – colaborador - UnB

Fabiana Pirani Carneiro - colaboradora - SESDF

Florêncio Figueiredo – colaborador - UnB

Verônica Amado – colaboradora - UnB

Viviane Lozano – colaboradora - SESDF

Karina Simon Smidt – Aluna de doutorado durante a execução do projeto

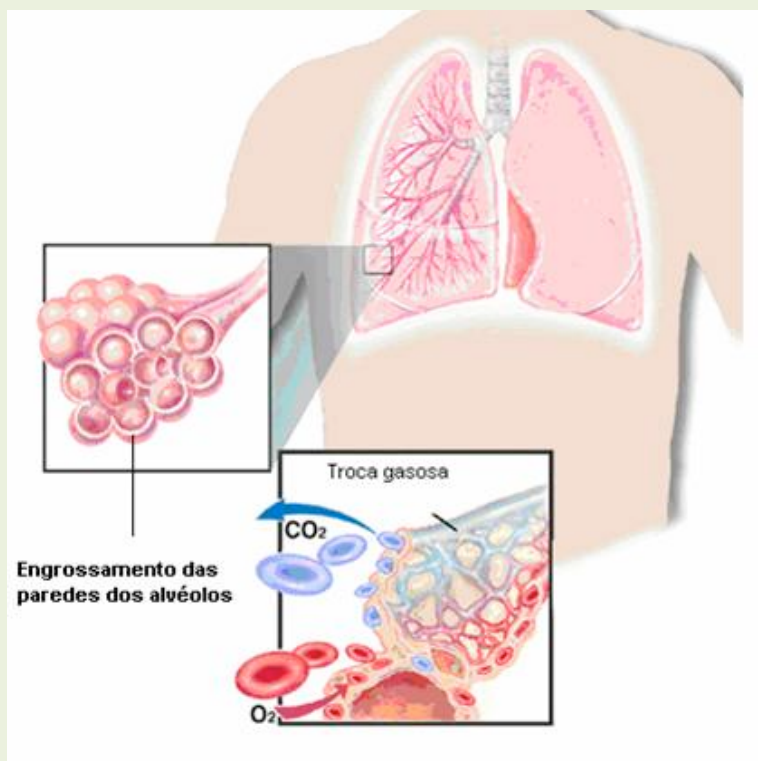
Luísa C. Coelho – aluna de Iniciação científica

Recurso aprovado x gasto

Rubrica	recebido	gasto
capital	42.000,00	41.240,00
custeio	145.750,00	145.750,00
total	187.750,00	187.000,00

Breve contextualização do problema e relevância do tema

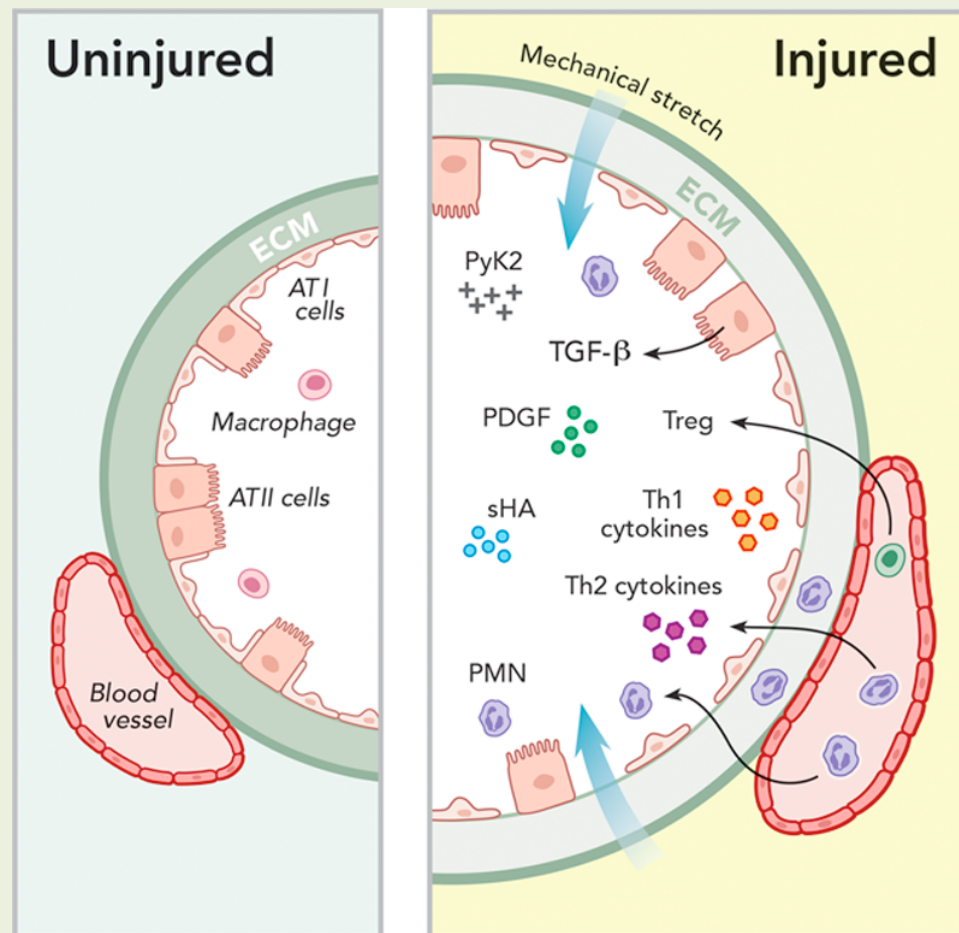
Fibrose Pulmonar



A fibrose pulmonar é uma doença crônica, com uma taxa de mortalidade importante, refratária a tratamentos e que demanda atendimento ao paciente nos diversos níveis de complexidade do sistema de saúde.

É uma sequela de um grupo heterogêneo de doenças pulmonares caracterizadas pela destruição progressiva e irreversível da arquitetura do pulmão causado pela formação de cicatriz (fibrose) que leva a perda da função pulmonar

Até o momento não existe uma abordagem terapêutica que minimize ou reverta a formação de fibrose no tecido pulmonar.



Tratamento com drogas anti-fibróticas



Nintedanib e Pirfenidona

Exercícios para aumentar a função pulmonar



Baixa eficiência na manutenção da qualidade de vida dos pacientes

Comorbidades

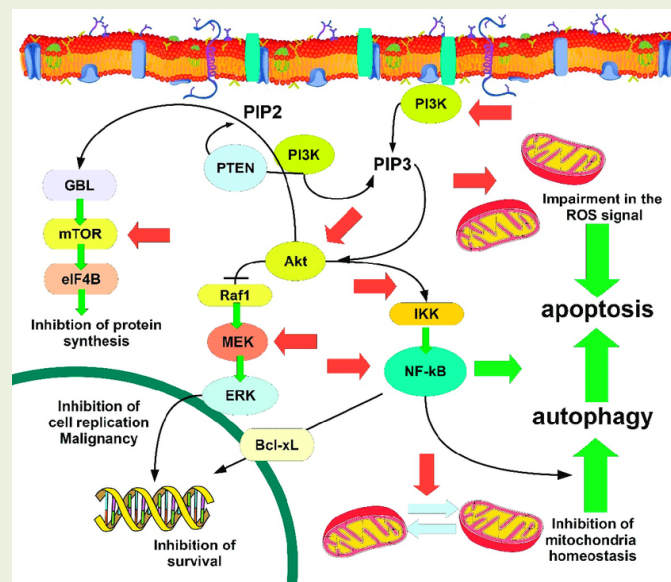
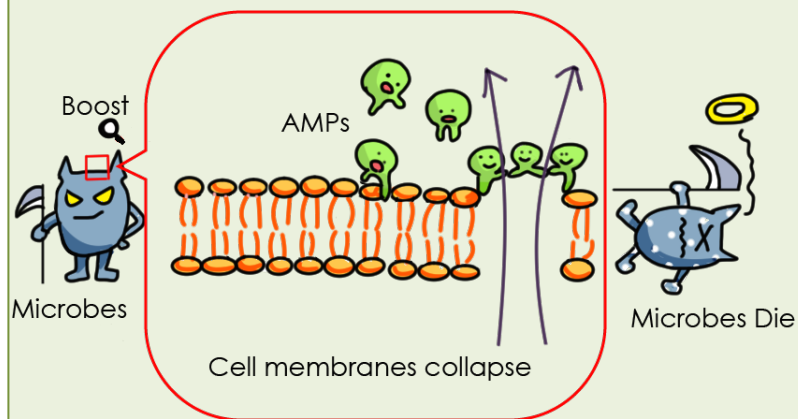
Internações frequentes

Transplante pulmonar

Terapia com peptídeos

Antimicrobiano

anti-inflamatório



Terapia com peptídeos – (2014-2019) – 7% medicamentos baseados em peptídeos 26% medicamentos biológicos

Table 1. Peptide-based drugs approved by the Food Drug Administration (FDA) (2015–2019) [3–6].

Year	Active Ingredient Trade Name	Indication	Features
2015	Insulin degludec Tresiba®	Diabetes	Modified insulin with an aa deletion and a hexadecanedioic acid via γ -Glu at the Lys (B29)
2015	Ixazomib Ninlar®	Multiple myeloma	N-Acylated, C-boronic acid dipeptide
2016	Adlyxin Lixisenatide®	Diabetes	44 aa GLP-1 peptide with (Lys) ₆ at the C-terminal
2017	Abaloparatide Tymlos®	Osteoporosis	34 aa analog of parathyroid hormone-related protein
2017	Angiotensin II Giapreza®	Hypotension	Natural octapeptide
2017	Etelcalcetide Parsabiv®	Hyperparathyroidism	Ac-DCys-DAla-(DArg) ₃ -DAla-DArg-NH ₂ linked to L-Cys through a disulfide bridge
2017	Macimorelin Macrilen®	Growth hormone deficiency	Pseudotripeptide N-formylated
2017	Plecanatide Trulance®	Chronic idiopathic constipation	16 aa with two disulfides
2017	Semaglutide Ozempic®	Diabetes	GLP-1 peptide (31 aa in the chain) with hexadecanedioic acid via γ -Glu and mini PEG at Lys
2018	¹⁷⁷ Lu DOTA-TATE Lutathera®	Neuroendocrine tumors, theranostic	¹⁷⁷ Lu chelated by DOTA bound to Tyr3-octreotate
2019	⁶⁸ Ga DOTA-TOC	Neuroendocrine tumors, diagnostic	⁶⁸ Ga chelated by DOTA bound to Tyr3-octreotide
2019	Afamelanotide Scenesse®	Skin damage and pain	13 aa lineal peptide analog of α -MSH
2019	Bremelanotide Vyleesi®	Women hypoactive sexual desire	7 aa cyclic peptide analog of α -MSH
2019	Enfortumab Vedotin-Ejfv PADCEV®	Cancers expressing Nectin-4	ADC with a synthetic analog of the marine natural peptide dolastatin 10
2019	Polatuzumab Vedotin-Piiq Polivy®	Diffuse large B-cell lymphoma	ADC with a synthetic analog of dolastatin 10 (5-residue peptide alcohol)

Objetivos propostos x realizados

- **O objetivo geral deste trabalho é avaliar a segurança farmacológica da utilização de peptídeos anti-inflamatórios no retardo do estabelecimento da fibrose pulmonar. A partir desses achados pretende-se propor um esquema terapêutico no tratamento da fibrose pulmonar que poderá ser testado em parceria com indústrias farmacêuticas, na geração de, pelo menos, uma molécula a ser testada em futuros ensaios clínicos**

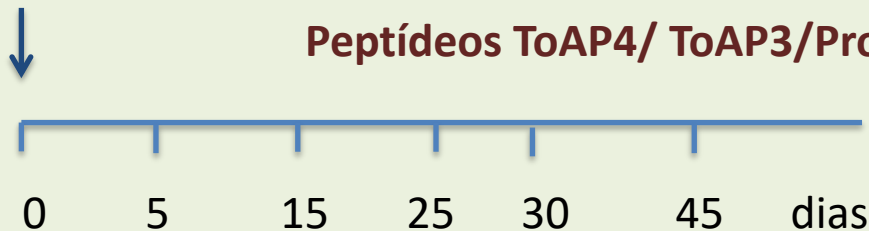
Metas - Atividades planejadas x realizadas

- Induzir a formação de fibrose por bleomicina, em modelo experimental murino, e tratar os animais com peptídeos anti-inflamatórios - 
- Avaliar a atividade destes peptídeos em camundongos normais (não tratados com bleomicina) seguindo os mesmos protocolos; 
- Avaliar a segurança biológica, analisando tecidos como fígado e rins, bem como a produção de enzimas hepáticas 
- Nanoestruturar o(s) peptídeo(s) que apresentarem os melhores resultados e avaliar qual a via de inoculação, comparando com o peptídeo livre

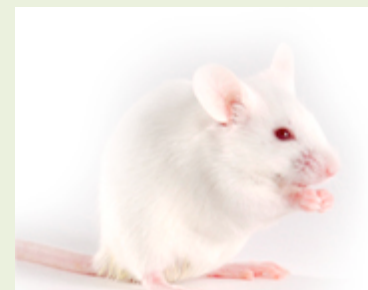
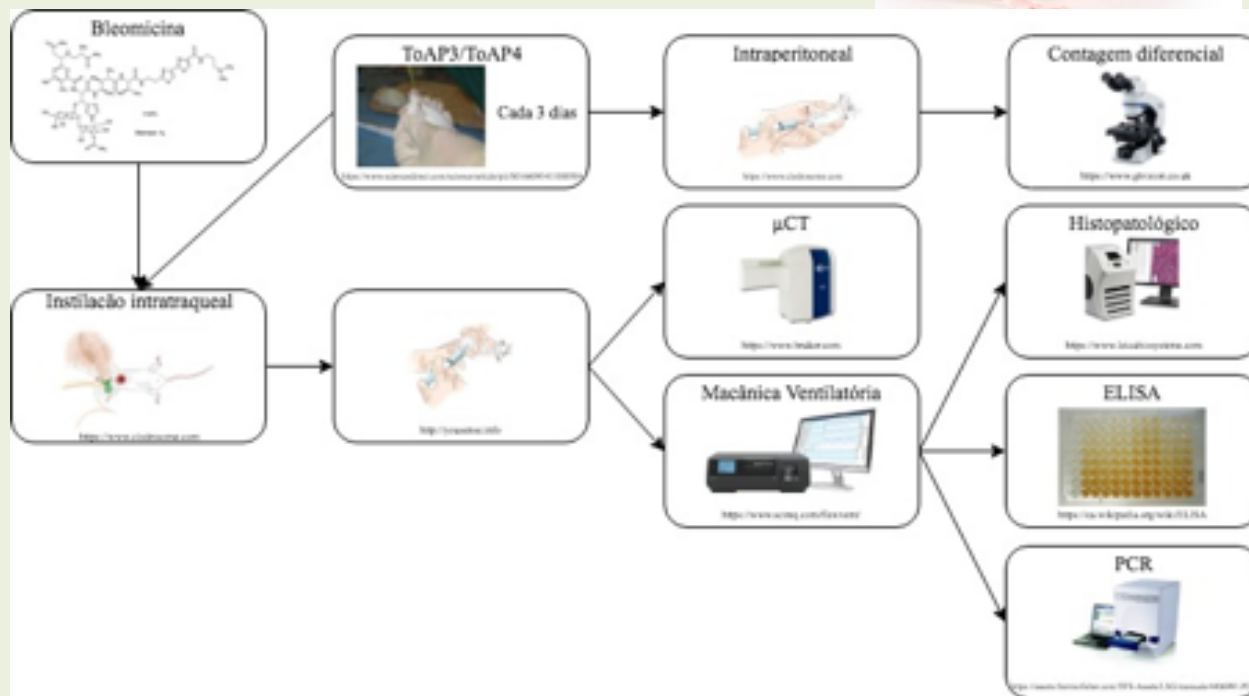
- Correlacionar a migração celular nos camundongos com fibrose induzida com bleomicina e tratados ou não com peptídeos ✓
- Definir quais os melhores peptídeos e realizar um tratamento em conjunto, para definir se existe sinergismo entre eles ✓
- Avaliar o tempo de permanência do peptídeo que apresentou o melhor resultado, para definir tempo de eliminação no tecido ✓
- Avaliar a segurança biológica, analisando tecidos como fígado e rins, bem como a produção de enzimas hepáticas ✓

Materiais e Métodos

Peptídeos ToAP4/ ToAP3/Pronectina

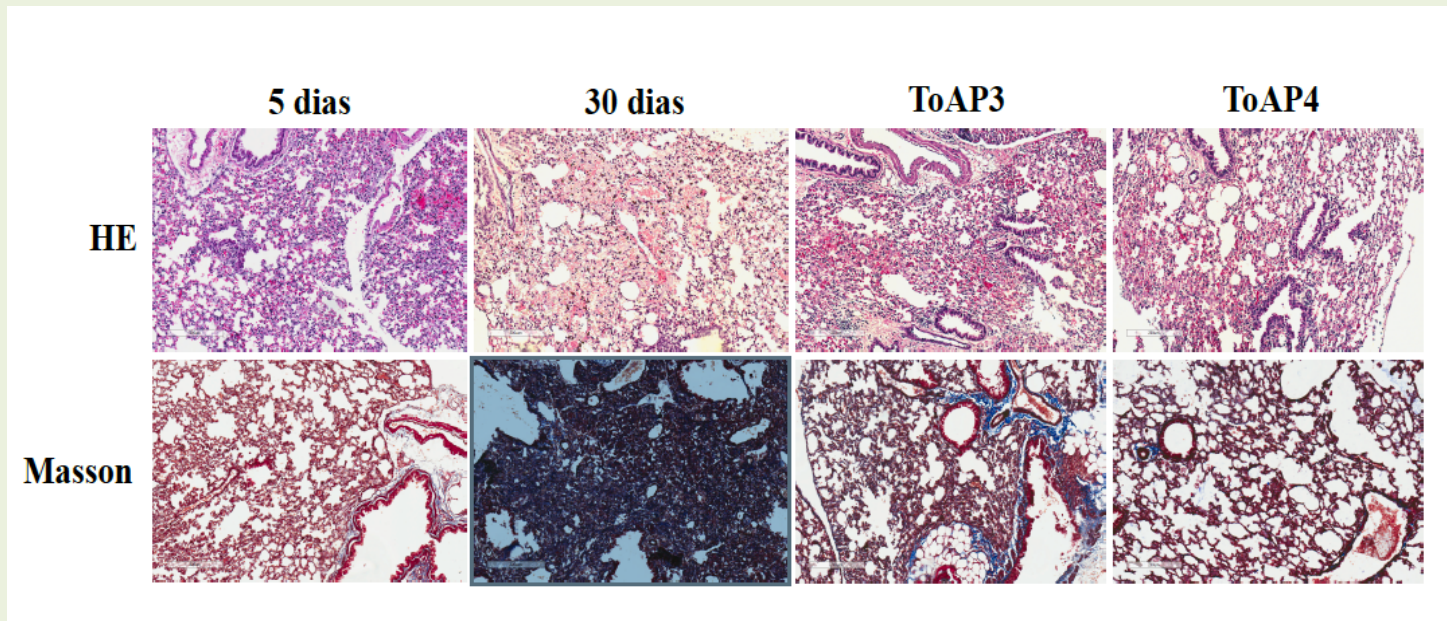


Bleomicina

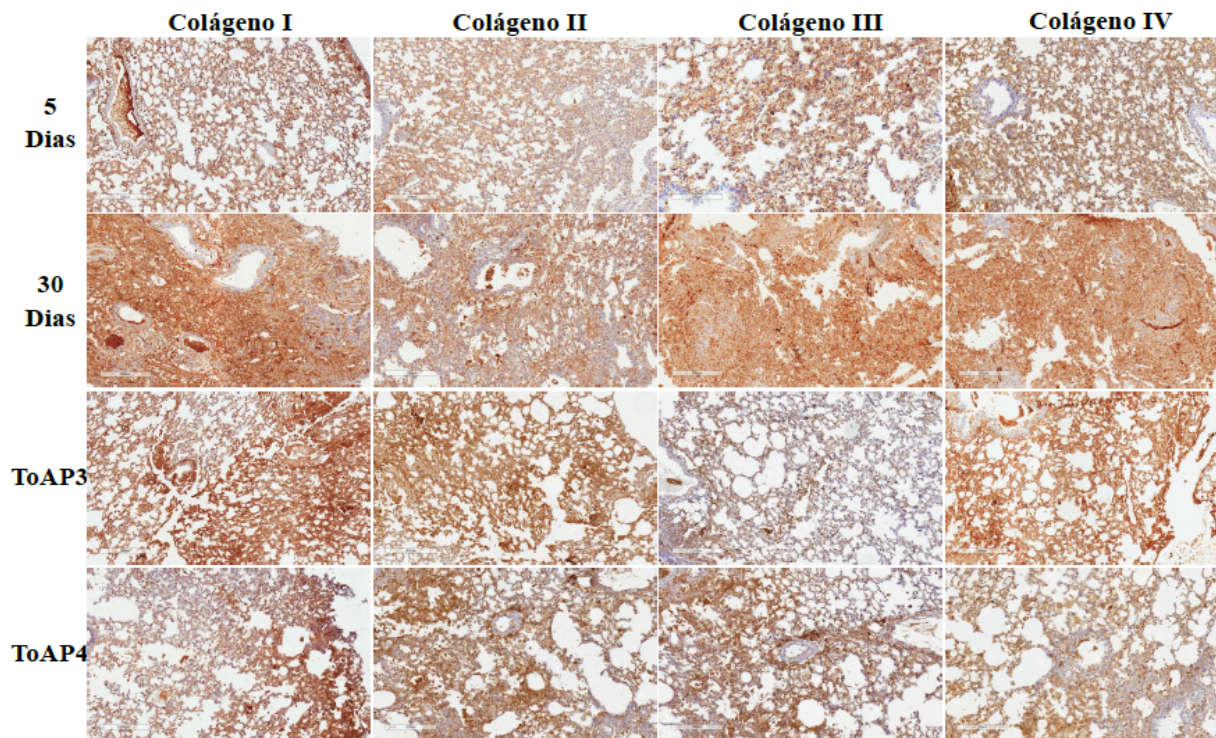


Resultados finais alcançados

- Induzir a formação de fibrose por bleomicina, em modelo experimental murino, e tratar os animais com peptídeos anti-inflamatórios



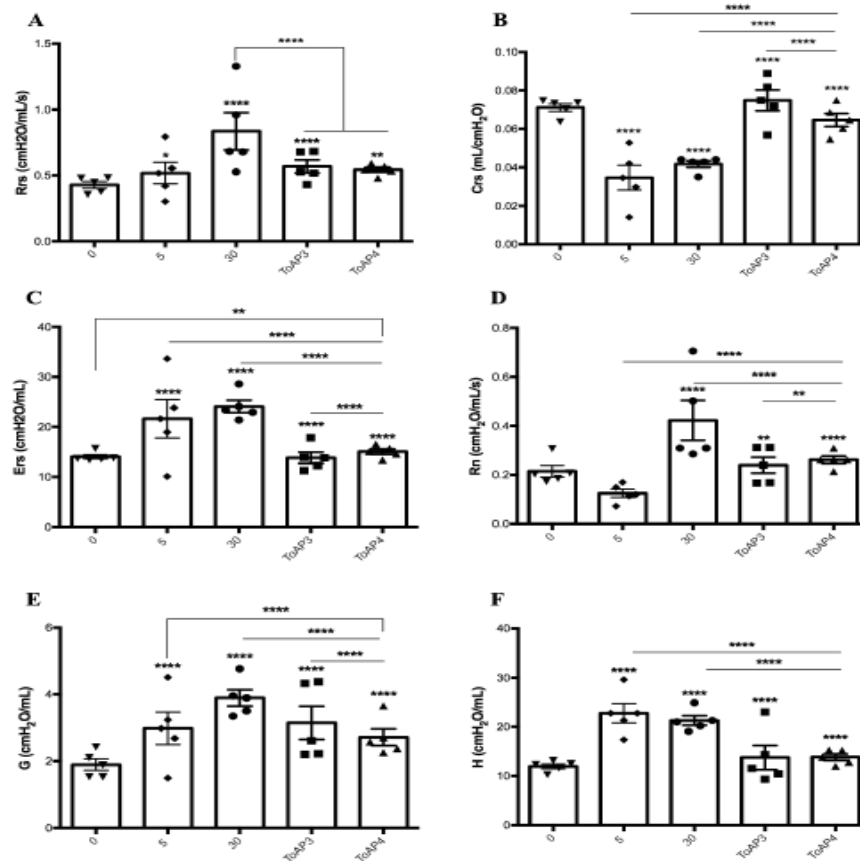
A



- Avaliar a atividade destes peptídeos em camundongos normais (não tratados com bleomicina) seguindo os mesmos protocolos;

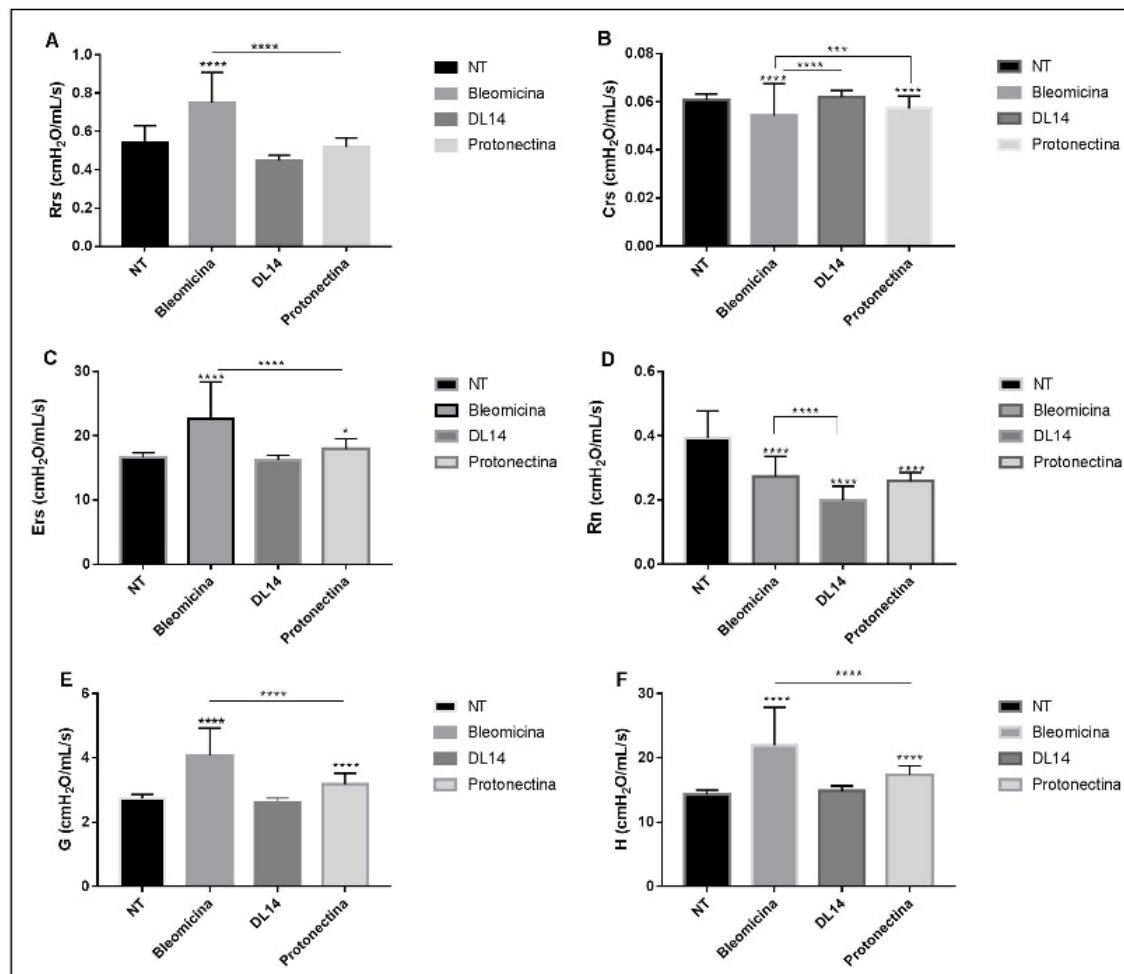
Avaliação da mecânica ventilatória dos animais tratados com ToAP3 ou ToAP4. Camundongos BALB/c sofreram instilação IT de BLM (50µl, 5 U/ml) e depois de 5 dias iniciou-se tratamento com ToAP3 ou ToAP4. Quando completados 30 dias da instilação, esses animais foram sedados e anestesiados com uma solução de cetamina e xilazina (15 ml/kg e 0,1ml/kg, respectivamente) e submetidos a traqueostomia para serem acoplados ao ventilador mecânico. Foram averiguados os parâmetros de

*p<0.05



Foram averiguados os parâmetros de

- (A) resistência do sistema respiratório - Rrs,
- (B) complacência do sistema respiratório- Crs,
- (C) elastância do sistema respiratório - Ers,
- (D) resistência Newtoniana - Rn,
- (E) amortecimento tecidual - G
- (F) elastância tecidual - H.

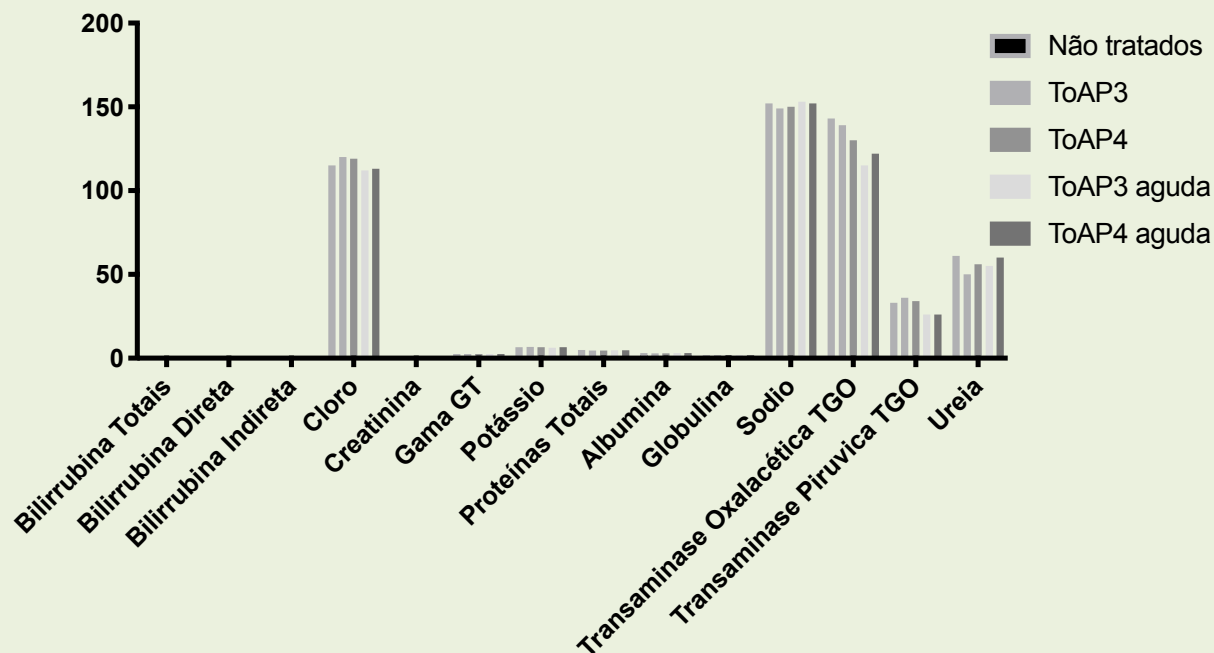


- Correlacionar a migração celular nos camundongos com fibrose induzida com bleomicina e tratados ou não com peptídeos

Tabela 3.2: Migração celular no peritônio dos camundongos induzida por ToAP3 ou ToAP4

Tipo Celular	4h				24 horas				72 horas			
	PBS	Tio	ToAP3	ToAP4	PBS	Tio	ToAP3	ToAP4	PBS	Tio	ToAP3	ToAP4
Neutrófilos	25	60*	13	15	11	0	0	0	11	21	13	9
Linfócitos	63	35	77	73	71	44	68	62	75	30	65	67
Monócitos	9	4	7	11	23	24	23	24	14	8	21	23
Macrófagos	0	1	0	0	1	3	1	1	0	40*	0	0

- Avaliar a segurança biológica, analisando tecidos como fígado e rins, bem como a produção de enzimas hepáticas e marcadores renais
- Todos os tecidos estavam com aspecto histológico normais e a análise do soro com enzimas hepáticas normais



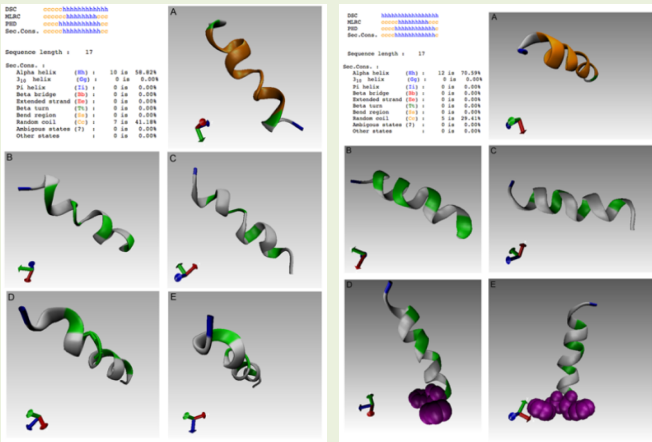
- Avaliar a atividade destes peptídeos em camundongos normais (não tratados com bleomicina)

Tecido pulmonar de aspecto normal e padrão de citocinas não alterados (ambiente anti-inflamatório)

- Avaliar o tempo de permanência do peptídeo que apresentou o melhor resultado, para definir tempo de eliminação no tecido

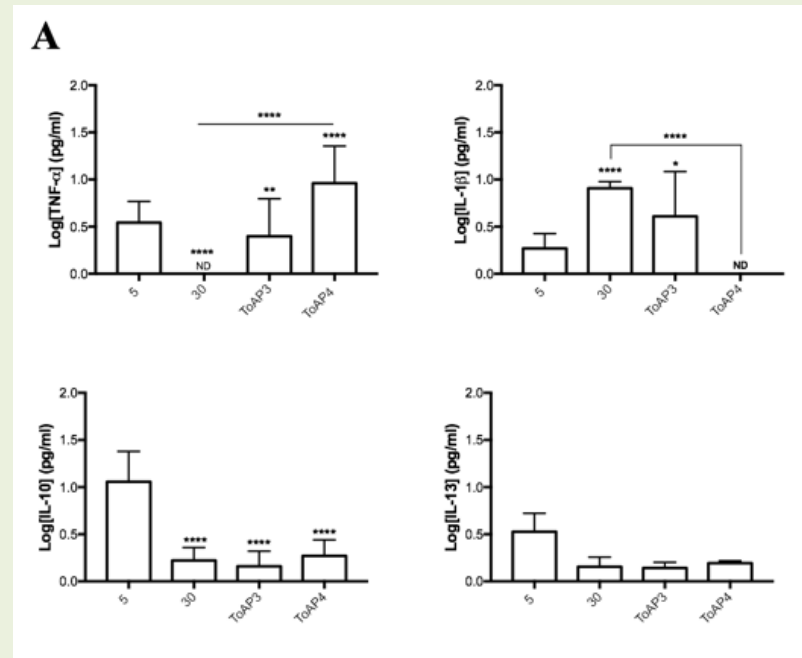
Não foram detectados os peptídeos no soro dos animais – alterações nas metodologia

- Definir quais os melhores peptídeos e realizar um tratamento em conjunto, para definir se existe sinergismo entre eles



Análise da estrutura dos peptídeos

Atividade de modulação dos genes inflamatórios



ação aditiva e não sinérgica.

Como os resultados poderão ser incorporados pelo SUS?

Genes pró-fibróticos					
Símbolo	Descrição	Tratamento ToAP3		Tratamento ToAP4	
		Fold Change	P Value	Fold Change	P Value
Akt1	Proto-oncogene Viral de Timoma 1	0.34	0.043212	0.83	0.570278
Ccl11	Quimicina (motivo c-c) ligante 11	3.18	0.021522	4.41	0.323722
Ccr2	Receptor de Quimicina (motivo c-c) 2	1.18	0.593361	0.14	0.043364
Fasf	Fas ligante (superfamília de TNF, membro 6)	4.30	0.006065	0.20	0.060712
Il1a	Interleucina 1 alfa	6.53	0.000911	3.19	0.239425
Il1b	Interleucina 1 beta	2.27	0.046645	0.62	0.750740
Itgav	Integrina alfa V	0.46	0.045766	1.79	0.375390
Itgb6	Integrina beta 6	0.21	0.005560	0.83	0.678812
Mmp14	Metaloperoxidase de matriz 14	0.18	0.015702	0.46	0.278868
Mmp2	Metaloperoxidase de matriz 2	0.39	0.043679	1.86	0.365113
Pdgfa	Fator de crescimento derivado de plaquetas, alfa	0.25	0.020553	1.18	0.536549
Serpine1	Inibidor de peptidase serina (ou cisteína), clado E, membro 1	0.40	0.026483	0.24	0.000152
Serpinh1	Inibidor de peptidase serina (ou cisteína), clado H, membro 1	0.21	0.025890	1.59	0.358584
Smad4	Homólogo de MAD 4 (Drosófila)	0.92	0.778855	0.50	0.035041
Tgfb1	Fator de crescimento transformador, beta 1	0.28	0.029165	2.23	0.338805
Tgfb2	Fator de crescimento transformador, beta 2	0.47	0.019035	1.74	0.355887
Tgfb3	Fator de crescimento transformador, beta 3	0.37	0.011840	0.71	0.155044
Tgfb1	Receptor do fator de crescimento transformador, beta 1	0.44	0.035557	0.71	0.142083
Tgfb2	Receptor do fator de crescimento transformador, beta 2	0.45	0.000265	1.34	0.038078

A finalização da análise dos dados permitirá iniciar os ensaios clínicos de fase I utilizando apenas o TOAP3