

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 927 977**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

C07K 14/62 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2018** **PCT/EP2018/052822**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.08.2018** **WO18141969**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2018** **E 18705843 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2022** **EP 3570875**

54 Título: **Moduladores peptídicos de la interacción entre el péptido C humano y el receptor de elastina humana para uso terapéutico**

30 Prioridad:

06.02.2017 EP 17154889

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.11.2022

73 Titular/es:

BIOTEMPT B.V. (100.0%)
Kneuterdijk 2
2514 EN Den Haag, NL

72 Inventor/es:

WENSVOORT, GERT

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 927 977 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Moduladores peptídicos de la interacción entre el péptido C humano y el receptor de elastina humana para uso terapéutico

Campo técnico

5 La divulgación pertenece al campo de la medicina humana, y pertenece al campo de la farmacia, la biotecnología y el desarrollo de medicamentos. La divulgación se refiere a la etiología del síndrome metabólico y proporciona el uso de péptidos inmunomoduladores para el tratamiento de la inflamación, la resistencia a la insulina, la enfermedad ateromatosa, la arteriosclerosis, la aterosclerosis, la enfermedad cardiovascular, las patologías micro y macrovasculares en la diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2, en humanos.

10 Antecedentes

Nuestro hábito demasiado humano de comer en exceso y la fácil disponibilidad de alimentos todos los días han resultado en una epidemia mundial de obesidad con graves consecuencias para nuestra salud. Mil quinientos (1,500) millones de personas tienen sobrepeso (de los cuales 500 millones son obesos), y muchos de ellos padecen una enfermedad inflamatoria crónica a menudo llamada síndrome metabólico: la principal causa de envejecimiento no saludable y muerte en personas de ingresos medios y altos. Estos 1,500 millones de personas tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (inflamación crónica de los vasos sanguíneos [enfermedad ateromatosa, arterioesclerosis, aterosclerosis], aumento de la presión arterial [hipertensión] y aumento de los niveles anormales de grasa [dislipidemia] en la sangre), lo que conduce a infarto de miocardio y accidente cerebrovascular. Al menos el 30% de estos 1,500 millones corren un mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (Organización Mundial de la Salud). Otros desarrollan manifestaciones demasiado tempranas del envejecimiento, tales como insuficiencia renal o demencia. La insuficiencia cardíaca, como el infarto de miocardio no fatal y fatal y la enfermedad arterial periférica (EAP) son las manifestaciones iniciales más comunes de la enfermedad cardiovascular en la diabetes tipo 2, otras son los ataques isquémicos transitorios (AIT) o el accidente cerebrovascular isquémico y la angina estable. Vivir una vida sedentaria y fumar aumenta aún más los riesgos de morir por estas afecciones. Actualmente, no existe una comprensión médica satisfactoria (aparte de una dieta excesiva) de los eventos causales que conducen a la enfermedad inflamatoria inicialmente leve pero finalmente crónica que subyace a estas asombrosas cifras. Por qué esta inflamación inducida por la ingesta de alimentos ocurre y afecta a tantas personas es en gran parte desconocida y humanamente debatida.

El péptido C es el péptido de enlace entre las cadenas A y B en la molécula de proinsulina. Después de la escisión en el retículo endoplásmico de las células beta de los islotes pancreáticos, se generan insulina y un péptido de 35 aminoácidos. Este último se procesa hasta el péptido de 31 aminoácidos, péptido C, mediante la eliminación enzimática de dos residuos básicos a cada lado de la molécula. El péptido C se secreta junto con la insulina en cantidades equimolares desde las células beta de los islotes pancreáticos hacia la circulación portal. Además de su contribución al plegamiento de la estructura de insulina de dos cadenas, la actividad biológica adicional del péptido C fue cuestionada durante muchos años después de su descubrimiento.

El péptido C humano es un péptido de 31 aminoácidos que tiene la secuencia

SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ, en el código de aminoácidos de una letra).

Al péptido C clásicamente se le atribuye una estructura general tripartita, con segmentos de los extremos terminales N y C más conservados y una secuencia media más variable, o una porción media interna e hidrófoba. Por lo tanto, en el caso del péptido C humano, el segmento del extremo terminal N a menudo se considera como los residuos 1-12 (SEQ ID NO: 2 (EAEDLQVGQVEL)), la porción media como residuos 13-25 (SEQ ID NO: 3 (GGGPGAGSLQPLA)), y el segmento del extremo terminal C como residuos 25-31 (SEQ ID NO: 4 (LEGSLQ)). El tetrapéptido de la SEQ ID NO: 5 (EAED) se cree que es necesario en el proceso de plegamiento de la estructura de insulina de dos cadenas en las células beta (Chen et al., J Biochem. junio de 2002; 131 (6): 855-9). Recientemente, algunos estudios sugirieron que el pentapéptido del extremo terminal C (SEQ ID NO: 6 EGSQ) en el péptido C humano y la SEQ ID NO: 7 (EVARQ) en el péptido C de rata) del péptido C que muestra una estructura secundaria bien definida puede inducir aumentos de Ca²⁺ intracelular en células tubulares renales humanas (Shafqat et al., Cell Mol Life Sci. Julio de 2002; 59(7): 1185-9).

El péptido C se produce en cantidades iguales a la insulina y es la mejor medida adicional de la secreción de insulina endógena en pacientes con diabetes. La medición de la secreción de insulina usando péptido C se considera útil en la práctica clínica: las diferencias en la secreción de insulina son fundamentales para los diferentes requisitos de tratamiento de la diabetes tipo 1 y tipo 2. Jones y Hattersley (Diabet Med. Julio de 2013; 30 (7): 803-17) revisaron el uso de la medición del péptido C en el manejo clínico de pacientes con diabetes, incluida la interpretación y elección de la prueba del péptido C y su uso para ayudar a la clasificación de la diabetes y la elección del tratamiento, y recomendaciones sobre dónde se debe usar el péptido C, elección de la prueba e interpretación de los resultados. Como las relaciones entre los niveles de péptido C y el control metabólico y las complicaciones crónicas son poco conocidas en la diabetes tipo 2, debido a la lenta disminución de la función de las células beta, Bo et al., (Acta Diabetol. 2000; 37(3): 125-9) evaluaron estas asociaciones en una cohorte de pacientes diabéticos tipo 2. Se cree que los

efectos biológicos del péptido C están mediados por la interacción con la insulina o mediante una interacción de membrana específica o no específica. Algunos estudios en la técnica apoyan la teoría de interacciones específicas con un GPCR aún por identificar. Sin embargo, el enantiómero D del péptido C tiene la misma actividad biológica que el enantiómero L; (Ido et al., Science, 1997, 277(5325): 563-6), encontrando así péptidos C inversos (retro) y de todos los D-aminoácidos (enantio) equipotentes al péptido C nativo, Ido et al., concluyeron que la actividad de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) no está mediada por un receptor, por lo que se recomienda no utilizar un receptor para el péptido C, lo que ha sugerido a los especialistas en la técnica que otras interacciones, independientes del receptor, son importantes para la función del péptido C. La formación de canales selectivos de cationes en las bicapas lipídicas también ha dado lugar a sugerencias de una interacción más inespecífica. Por lo tanto, un receptor para el péptido C ha permanecido esquivo.

Ido et al. (Science, 25 de julio de 1997; 277 (5325): 563-6; y la Figura 1 de esta solicitud) muestran fragmentos del péptido C humano con una porción intermedia hidrófoba de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) para normalizar la disfunción vascular inducida por glucosa en tejido granular de rata, sin embargo, no han proporcionado pruebas de fragmentos de péptido C en combinación con el tratamiento de esas ratas con insulina, y se aleja de la actividad mediada por el receptor de los fragmentos que tiene dicha porción media hidrófoba. En el documento US20020107175 un fragmento del péptido C de la SEQ ID NO: 9 (ELGGPGAG) y algunos de sus fragmentos más pequeños estimulan la actividad de la ATPasa Na⁺, K⁺ de las células tubulares renales de rata. Los documentos US20060234914 y 20070082842 enumeran los fragmentos de péptido C del extremo terminal N y/o de extremo terminal C que comprenden al menos una glutamina (Glu en el código de tres letras; E en el código de una letra) para proporcionar actividad biológica no relacionada con la actividad de la porción intermedia hidrófoba discutida anteriormente de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG), cuya secuencia de la porción media no se encuentra en ninguno de los fragmentos enumerados en los documentos US20060234914 ni 20070082842.

La diabetes tipo 1 generalmente se caracteriza por deficiencia de insulina y péptido C, debido a una destrucción autoinmune de las células beta de los islotes pancreáticos. Por lo tanto, los pacientes dependen de la insulina exógena para mantener la vida. Varios factores pueden ser importantes para la patogenia de la enfermedad, por ejemplo, antecedentes genéticos, factores ambientales y una reacción autoinmune agresiva después de una infección temporal. (Akerblom HK et al.: Annual Medicine 29(5): 383-385, (1997)). Actualmente, a los pacientes que necesitan insulina se les proporciona insulina exógena que se ha separado del péptido C y, por lo tanto, no reciben terapia con péptido C exógeno. Por el contrario, la mayoría de los sujetos con diabetes tipo 2 todavía producen inicialmente tanto insulina como péptido C de forma endógena, pero generalmente se caracterizan por resistencia a la insulina en el músculo esquelético, el tejido adiposo y el hígado, entre otros tejidos.

Muchos pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2 en fase terminal (que ya no producen insulina ni péptido C) y otros pacientes que requieren insulina eventualmente desarrollan y sufren una constelación de complicaciones vasculares a largo plazo de la diabetes que en muchos casos son más severas y generalizadas que en la fase temprana de la diabetes tipo 2 (donde todavía se producen insulina y péptido C, pero el paciente es resistente a la insulina). Por ejemplo, las complicaciones microvasculares que involucran la retina, los riñones y los nervios son una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes con diabetes tipo 1 o diabetes tipo 2 en fase terminal, pero generalmente se consideran poco importantes en pacientes resistentes a la insulina. Cada vez hay más apoyo al concepto de que la deficiencia de péptido C puede desempeñar un papel en el desarrollo de las complicaciones a largo plazo de los pacientes diabéticos que requieren insulina. Además, los estudios *in vivo* e *in vitro* en modelos humanos diabéticos y en pacientes con diabetes tipo 1 demuestran que el péptido C posee actividad hormonal (Wahren J et al.: American Journal of Physiology 278: E759-E768, (2000); Wahren J et al.: En International Textbook of Diabetes Mellitus. Ferranninni E, Zimmet P, De Fronzo RA, Keen H, Eds. John Wiley & Sons, (2004), páginas 165-182).

El documento US2007/0082842 divulga el uso terapéutico de diferentes péptidos C y fragmentos (algunos de los cuales comprenden el motivo GxxP o GxxPOG) de los mismos para el tratamiento de la diabetes y sus complicaciones microvasculares. El documento WO2005/118638 divulga análogos resistentes a la degradación de péptidos C y fragmentos de los mismos para el tratamiento de diabetes y complicaciones diabéticas. Qu'aty et al. (2015, J. Dermatol Sci. Vol. 80, No.3, páginas 175-185) divulgan el uso de péptidos sintéticos que imitan el motivo de unión al receptor de elastina para la regeneración de piel humana lesionada o envejecida. Robinet et al. (2004, J. Cell Sci. Vol. 118, No. 2, páginas 343-356) divulgan péptidos derivados de elastina sintética (es decir, VGVAPG) para su uso en ensayos de cicatrización de heridas y tubulogénesis *in vitro*. Kawecky et al. (2014, Arteriosclerosis, Thr. Vasc. Biol. Vol. 34, núm. 12, páginas 2570-2578) divulga el papel de los péptidos derivados de elastina como reguladores de la trombosis. Blaise et al. (2013, Diabetes Vol. 62, No. 11, páginas 3807-3816) divulgan el papel de los péptidos derivados de elastina como reguladores de la resistencia a la insulina en ratones. Blanchevove et al. (2013, J. Biol. Chem. Vol. 288, No. 2, páginas 1317-1328) muestran datos estructurales que describen la interacción entre el péptido de elastina VGVAPG y el receptor de elastina humana. Sin embargo, ninguno de estos documentos enseña o sugiere el uso de los péptidos en ninguna terapia para la enfermedad inflamatoria. Maurice et al. (2013, Trends Cardiovasc Med. 23(6): 211-21) mencionan el uso del péptido V14 (VVGSPSAQDEAPL) como antagonista que afecta la unión de péptidos derivados de elastina (o del péptido VGVAPG) al receptor de elastina en ratones.

La invención

La invención proporciona un péptido aislado o sintético para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG y tiene al menos un aminoácido Q, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido, el péptido consta de 5-30 aminoácidos. Los péptidos típicamente preferidos proporcionados en el presente documento se seleccionan del grupo de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 10, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93, y 94, y péptidos variantes retro-inversos derivados de péptidos enlistados bajo las SEQ ID NOs: 10, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93, y 94. Nota: Los péptidos retroinversos se componen de D-aminoácidos ensamblados en un orden inverso al de la secuencia L original, manteniendo así la topología general de la secuencia nativa. No existen estereoisómeros de glicina en el presente documento, (y en los péptidos retro-inversos que tienen, por ejemplo, motivos retro-inversos GxxP o xGxP) G no es, mientras que otros aminoácidos tales como L, P y A, son fundamentales para carácter de todos los D-aminoácidos del péptido retro-inverso proporcionado en el presente documento. La invención también proporciona péptidos sintéticos en los que el motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG se ha repetido al menos dos veces, preferiblemente tres veces, opcionalmente dichas repeticiones están separadas por un enlazador, dicho enlazador puede comprender uno o más aminoácidos, tal como uno o más aminoácidos seleccionados del grupo de glicina, alanina, leucina, valina, isoleucina o glutamina. En una realización preferida, la invención proporciona un péptido capaz de combinarse con un receptor de elastina humana en una célula e iniciar la misma actividad fisiológica típicamente producida por la unión del péptido C humano al receptor de elastina humana. La invención también proporciona dicho péptido aislado o sintético para su uso en el tratamiento de enfermedades humanas, tal como en el tratamiento de la inflamación humana y/o en el tratamiento de la diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, más preferiblemente para uso en el tratamiento de complicaciones microvasculares, preferiblemente como se observa con la diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG y tiene al menos un aminoácido Q, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido, el péptido consta de 5-20 aminoácidos. Los péptidos típicamente preferidos proporcionados en el presente documento se seleccionan del grupo de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94, y péptidos variantes retroinversos derivados de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94.

En una realización preferida, la invención también proporciona un péptido capaz de combinarse con un receptor de elastina humana en una célula e iniciar la misma actividad fisiológica típicamente producida por la unión del péptido C humano al receptor de elastina humana. La invención también proporciona dicho péptido aislado o sintético para su uso en el tratamiento de enfermedades humanas, tales como en el tratamiento de la inflamación humana y/o en el tratamiento de la diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, más preferiblemente para uso en el tratamiento de complicaciones microvasculares, preferiblemente como se observa con la diabetes tipo 1 y/o con la diabetes tipo 2 en etapa terminal, donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG y tiene al menos un aminoácido Q, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido, el péptido consta de 5-15 aminoácidos. Los péptidos típicamente preferidos proporcionados en el presente documento se seleccionan del grupo de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94, y péptidos variantes retro-inversos derivados de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94.

En una realización preferida, la invención también proporciona un péptido capaz de combinarse con un receptor de elastina humana en una célula e iniciar la misma actividad fisiológica típicamente producida por la unión del péptido C humano al receptor de elastina humana. La invención también proporciona dicho péptido aislado o sintético para su uso en el tratamiento de enfermedades humanas, tales como en el tratamiento de la inflamación humana y/o en el tratamiento de la diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, más preferiblemente para uso en el tratamiento de complicaciones microvasculares, preferiblemente como se observa con la diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG y tiene al menos un aminoácido Q, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido, el péptido consta de 5-12 aminoácidos. Los péptidos típicamente preferidos proporcionados en el presente documento se seleccionan del grupo de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94, y péptidos variantes retro-inversos derivados de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94.

En una realización preferida, la invención proporciona un péptido capaz de combinarse con un receptor de elastina humana en una célula e iniciar la misma actividad fisiológica típicamente producida por la unión del péptido C humano al receptor de elastina humana. La invención también proporciona dicho péptido aislado o sintético para su uso en el tratamiento de enfermedades humanas, tal como en el tratamiento de la inflamación humana y/o en el tratamiento de la diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, más preferiblemente para uso en el tratamiento de complicaciones microvasculares, preferiblemente como se observa con diabetes tipo 1 y/o la diabetes tipo 2 en etapa terminal, donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG y tiene al menos un aminoácido Q, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido, el péptido consta de 5-9 aminoácidos. Los péptidos típicamente preferidos proporcionados en el presente documento se seleccionan del grupo de péptidos enumerados

bajo las SEQ ID NOs: 29, 43, 93 y 94, y péptidos variantes retro-inversos derivados de péptidos enumerados bajo las SEQ ID NOs: 29, 43, 93 y 94.

La invención se refiere y se limita al uso de agonistas peptídicos y/o antagonistas peptídicos de la interacción del péptido C humano con el receptor de elastina humana para el tratamiento de enfermedades humanas.

- 5 Un primer campo de la invención, denominado Medicamento: péptidos antiinflamatorios, significará cualquier péptido para uso como medicamento para contrarrestar (controlar, reducir o tratar) enfermedades inflamatorias humanas o cualquier componente peptídico de un medicamento para contrarrestar enfermedades inflamatorias humanas o cualquier péptido utilizado en la preparación de un medicamento para contrarrestar enfermedades inflamatorias humanas (contrarrestar en esta descripción también generalmente identificada como tratamiento o uso en el
- 10 tratamiento), donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxP, o su equivalente funcional xGxP, tiene al menos un aminoácido Q, y donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido. Preferiblemente, dicho péptido de este primer campo tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana xGxxPG. Dichos péptidos son útiles en el tratamiento de afecciones inflamatorias, tales como la lesión renal aguda,
- 15 también en afecciones inflamatorias sistémicas agudas como, por ejemplo, la sepsis o el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), que conducen a daño vascular y, a menudo, se agravan por lesiones de órganos (múltiples órganos), o afecciones inflamatorias con diabetes, cuando se administra con una composición antidiabética tal como insulina.

- En el presente documento, un péptido o fragmento de péptido que tiene un dominio PG se define particularmente
- 20 como un péptido que tiene al menos un motivo xGxP, GxxP, GxxPG o xGxPG, siendo G glicina, siendo P prolina, siendo x cualquier aminoácido, el aminoácido que sigue a P preferiblemente permitiendo un giro de tipo VIII-beta, una condición que se cumple cuando P está seguido en el extremo terminal C por una G. La invención proporciona un método para prevenir o tratar enfermedades que comprende proporcionar a un ser humano un péptido capaz de agonizar un receptor de elastina. Los péptidos que se proporcionan en el presente documento se seleccionan
- 25 preferiblemente del grupo de fragmentos de péptido C y equivalentes funcionales del mismo.

- En una primera realización, la invención proporciona un péptido para usar en el tratamiento de la inflamación humana, preferiblemente de un sujeto humano que lo necesite, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto es también tratado con insulina, donde
- 30 dicho péptido se selecciona del grupo de fragmentos de péptido C humano 1-24, preferiblemente aislados y/o sintéticos, preferiblemente no pegilados de la SEQ ID NO: 17 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPL), humano 4-24 de la SEQ ID NO: 20 (DLQVGQVELGGGPGAGSLQPL), humano 7-24 de la SEQ ID NO: 175 (VGQVELGGGPGAGSLQPL), humano 11-24 de la SEQ ID NO: 176 (ELGGGPGAGSLQPL), humano 4-31 de la SEQ ID NO: 10 (DLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ), humano 8-31 de la SEQ ID NO: 13 (GQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) y humano 12-31 de la SEQ ID NO: 14 (LGGGPGGASLQPLALEGSLQ), como se enumera en la Figura 1 en esta solicitud, mostrando dicho péptido el motivo GxxP de la SEQ ID NO: 38 (GGGP), y una normalización significativa (%) de la disfunción vascular inducida por glucosa 30 mM en ratas.
- 35

- Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina,
- 40 como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 10 (DLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) como derivable de la secuencia del péptido C humano. Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente
- 45 documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 11 (LQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) como puede obtenerse a partir de la secuencia del péptido C humano. Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también se trata con
- 50 insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 12 (VGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) como derivable de la secuencia del péptido C humano. Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 13 (GQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) como derivable de la secuencia del péptido C humano. Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido
- 55 sintético y aislado de la SEQ ID NO: 14 (LGGGPGGASLQPLALEGSLQ) como derivable de la secuencia del péptido C humano. Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le
- 60

ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 15 (VGQVELGGGPGAGSLQPLAL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. Además, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) para uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 16 (EVGQVELGGGPGAGSLQPL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, se proporciona para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 17 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLAL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 18 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento, es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 19 (LQVGQVELGGGPGAGSLQPLAL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento, es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 20 (DLQVGQVELGGGPGAGSLQPL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, se proporciona para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se proporciona en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 21 (LQVGQVELGGGPGAGSLQPL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 22 (LGGPGGASLQPL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 23 (VGQVELGGGPGAGSL) como derivable de la secuencia del péptido C humano. En otra realización, un péptido con el motivo de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) enumerado en la Figura 1 del presente documento, para su uso en el tratamiento de la inflamación humana, en particular en un sujeto humano al que se le ha diagnosticado que padece de diabetes tipo 1, lo más preferiblemente cuando dicho sujeto también es tratado con insulina, como se establece en el presente documento, es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 24 (GGGPGAGSLQ) como derivable de la secuencia del péptido C humano.

La invención también proporciona un péptido aislado y/o sintético, preferiblemente no pegilado, identificado en el presente documento como un péptido de elemento modelo regulador o fragmento del mismo que se identifica en el presente documento en elementos reguladores específicos que modulan la inflamación y la reparación de tejidos. La invención proporciona un péptido aislado y/o sintético donde dicho péptido o fragmento del elemento modelo regulador tiene preferiblemente un motivo xGxxPG o xxGxxPG y preferiblemente puede derivarse, por ejemplo, de proteínas identificadas en la Tabla 3 del presente documento. En una realización preferida, el elemento modelo se reconoce mientras está flanqueado por al menos un residuo de aminoácido básico R (arginina) o K (lisina) del extremo terminal N y al menos uno del extremo terminal C. Los fragmentos más pequeños del interior del elemento que no tienen los dos residuos básicos flanqueantes también son útiles para modular la inflamación y la reparación de tejidos. En una realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para su uso en el tratamiento de la inflamación humana como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 25 (FRAAPLQGMLPGLLAPLRT) como derivable de la secuencia COL6A3 humana (en la base de datos de Uniprot, COL6A3 se conoce bajo el identificador P12111 y la secuencia SEQ ID NO: 25 (FRAAPLQGMLPGLLAPLRT) se encuentra en la secuencia de la isoforma 1 alrededor de la posición 605-626). En el presente documento se proporciona que dicho péptido es útil en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos, ya que son fragmentos del mismo. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 26 (AAPLQGMLPGLLAPL) como derivable de la secuencia COL6A3 humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la

inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 27 (LQGMLPGLLAPL) como derivable de la secuencia COL6A3 humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 28 (LQGMLPGLLA) como derivable de la secuencia COL6A3 humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 29 (LQGMLPG) como derivable de la secuencia COL6A3 humana.

En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 178 (MLGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAPG) como derivable de la secuencia de procalcitonina humana.

En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 179 (FNKFHTFPQTAIGVGAPG) como derivable de la secuencia de procalcitonina humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 180 (FPQTAIGVGAPG) como derivable de la secuencia de procalcitonina humana.

En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 182 (SHPLGSPGSASDLETSGLQEQ) como derivable de la secuencia de NTproBNP humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 183 (PLGSPGSASDLETSGLQEQ) como derivable de la secuencia de NTproBNP humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 193 (RLQGLAGGAPGQKECR) como derivable de la secuencia de pirina humana. En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 194 (RRNASSAGRLQGLAGGAPGQ) como derivable de la secuencia de pirina humana (marenostrina).

En otra realización, un fragmento peptídico del elemento modelo regulador para uso en el tratamiento de la inflamación humana y/o la reparación de tejidos como se establece en el presente documento es el péptido sintético y aislado de la SEQ ID NO: 195 (LQGLAGGAPGQ) como derivable de la secuencia de pirina humana. La invención también divulga el uso en seres humanos de un péptido que consta de 4-40 aminoácidos, preferiblemente de 4-20, más preferiblemente de 4-15, más preferiblemente de 4-12, lo más preferiblemente de 4-9 aminoácidos, comprendiendo el péptido al menos un dominio PG, preferiblemente con un motivo xGxP o GxxP, GxxPG o xGxPG.

La invención también proporciona un método para prevenir o tratar la enfermedad de un ser humano que comprende proporcionar a dicho ser humano un péptido capaz de agonizar un receptor de elastina de dicho ser humano.

La invención muestra que la llamada inflamación en el síndrome metabólico se ve aumentada por una activación de cerradura y llave hasta ahora pasada por alto del receptor de elastina, una proteína involucrada en la reparación de elastina vascular (vasos sanguíneos), con el péptido C, una pequeña proteína que se produce en una proporción de 1:1 junto con la insulina ampliamente conocida. El receptor de elastina humana es la cerradura que se activa mediante un motivo de llave de aminoácidos (GxxP) que se encuentra en el péptido C y en los productos de degradación (fragmentos GxxP) del mismo. Hasta ahora, nadie ha descubierto nunca esta interacción de cerradura y llave entre los dos, lo que ahora brinda nuevos avances en el desarrollo de nuevos péptidos para el tratamiento del síndrome metabólico, explotando el hallazgo de que no solo las llaves normales del receptor de elastina (péptidos de elastina), sino también el péptido C, un péptido que producimos junto con la insulina cada vez que aumenta la glucosa en nuestra sangre después de una comida, interactúa en un modo de cerradura y llave con el receptor de elastina. En resumen, la invención proporciona la idea de que la ingesta excesiva de alimentos activa directamente el péptido C como la llave para desbloquear el síndrome metabólico. Comer en exceso todos los días da como resultado un aumento diario de los niveles de péptido C (y el motivo GxxP que contiene fragmentos de descomposición del mismo) en la sangre. Dado que el receptor de elastina se encuentra principalmente en las células que producen elastina y en las células que reparan nuestros vasos sanguíneos (en conjunto denominadas células vasculares), la activación diaria de cerradura y llave de GxxP del receptor de elastina por el exceso de péptido C y sus fragmentos da como resultado el daño diario hecho a los vasos sanguíneos. Dado que el 30% de las paredes de nuestros vasos sanguíneos están compuestas de elastina y las células inflamatorias reparan continuamente el daño causado a los vasos sanguíneos, la alteración de la reparación de la elastina y la inflamación de los vasos sanguíneos no pueden quedar sin consecuencias. De hecho, la activación continua del receptor de elastina por parte del péptido C y los fragmentos GxxP deja un estado de reparación vascular excesiva, hasta ahora llamado inflamación y también llamado aterosclerosis, una afección caracterizada por el engrosamiento de las paredes de los vasos sanguíneos con células inflamatorias y vasculares activadas que subyace a todas las afecciones de síndrome metabólico. A lo largo de los años, y de forma gradual que

varía de una persona a otra, la elasticidad y la fuerza de la vasculatura de varios órganos se dañan cada vez más (como el corazón, los vasos sanguíneos, el páncreas, los riñones y el cerebro), lo que generalmente provoca aterosclerosis, hipertensión y dislipidemia, y en última instancia conduce a diversas manifestaciones como enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, insuficiencia renal crónica y demencias vasculares.

5 El hallazgo explica cómo la ingesta diaria excesiva de alimentos da como resultado una reparación excesiva de los vasos sanguíneos, también llamada inflamación crónica. En resumen: cada vez que consumimos alimentos con glucosa (azúcar) producimos insulina y, por lo tanto, péptido C, cada vez que comemos demasiada glucosa, producimos más y más insulina y, por lo tanto, más y más (exceso) de péptido C. Es este exceso de péptido C y los fragmentos del mismo que aún tienen el motivo de desbloqueo con la llave GxxP lo que causa la activación excesiva
10 del receptor de elastina, lo que lleva a una reparación vascular excesiva con inflamación. Comer en exceso todos los días causa directamente un exceso de producción de péptido C y sus fragmentos GxxP que todos los días se suman a la reparación excesiva inducida por el receptor de elastina, lo que conduce a la reparación excesiva crónica y la llamada inflamación, la dislipidemia, la hipertensión y, en última instancia, los vasos sanguíneos no saludables que se observan en el síndrome metabólico. Con esta idea, el hallazgo divulga caminos para desarrollar y utilizar productos (péptidos inmunomoduladores) para bloquear la interacción de cerradura y llave de GxxP para prevenir enfermedades,
15 entre las que se encuentran la hipertensión y la aterosclerosis. Además, la invención explica los riesgos añadidos de una vida sedentaria. En resumen: no usar nuestra ingesta poco saludable de alimentos azucarados como combustible para nuestros músculos insta a nuestros cuerpos a producir más y más insulina para ayudar al hígado a convertir el exceso de azúcar en grasa que puede regresar a la sangre y causarnos dislipidemia. Una vez más, se produce un exceso de péptido C junto con la insulina, lo que nuevamente pone en marcha la activación del receptor de elastina de cerradura y llave, lo que conduce a la desregulación del metabolismo de las grasas como se describió. En tercer lugar, la invención explica también los riesgos añadidos de fumar. En resumen: fumar (o de manera similar: la contaminación del aire) daña el tejido elástico del pulmón, lo que libera fragmentos de elastina que tienen el motivo GxxP (llamados péptidos de elastina en este documento) que se sabe que causan la activación del receptor de elastina.
20 Por lo tanto, fumar agrega más péptidos con el motivo GxxP a los fragmentos de péptido C que ya circulan con ese motivo. Esta acumulación de péptido C inducido por la dieta y péptido de elastina inducido por el tabaquismo aumenta la reparación excesiva agravada y la llamada inflamación y, por lo tanto, agrava la enfermedad cardiovascular o renal crónica en aquellas personas que fuman y consumen demasiada azúcar en su dieta. La invención muestra una relación causal común aún completamente desconocida entre enfermedades causadas por diferentes afecciones de estilo de vida, comer en exceso, ser sedentario y fumador. La invención proporciona péptidos para bloquear la interacción de cerradura y llave de GxxP para prevenir enfermedades. Tanto el péptido C como los péptidos de elastina y sus productos de descomposición o fragmentos son relativamente estables en la sangre y la orina. Mientras que la insulina se degrada rápidamente en el hígado y desaparece de la sangre, el péptido C (y los fragmentos de descomposición con el motivo GxxP), así como los péptidos de elastina, tienen una vida mucho más larga en la sangre y solo se excretan por vía renal. Por lo tanto, ya sea comiendo y produciendo nueva insulina con nuevo péptido C, o continuar fumando y produciendo más decaimiento de la elastina de los pulmones; los niveles de péptido C y péptidos de elastina se acumulan y, con el tiempo, causan cada vez más daño vascular a través de la activación del receptor de elastina mediada por GxxP. La interacción de cerradura y llave de GxxP tanto del péptido C como de los péptidos de elastina puede bloquearse con péptidos apropiados para prevenir enfermedades dependiendo del resultado de estas pruebas de diagnóstico como se divulga en el presente documento. Además, la invención proporciona péptidos que estimulan (agonistas) o inhiben (antagonistas) la unión del receptor de GxxP. Los agonistas se pueden usar en pacientes en los que los niveles de péptido C son bajos, tal como en personas que padecen diabetes tipo 1 o diabetes tipo 2 en fase terminal. Los antagonistas pueden usarse en pacientes en los que los niveles de péptido C son altos, en particular en personas que padecen o son propensas a padecer síndrome metabólico.

45 En otra realización, dicho producto se proporciona con al menos un agente activo adicional eficaz para tratar la enfermedad microvascular. Tal producto como se proporciona en este documento puede usarse para tratar la nefropatía o para preparar un medicamento para tratar la nefropatía, o para tratar la neuropatía o para preparar un medicamento para tratar la neuropatía, o para tratar la retinopatía o para preparar un medicamento para tratar la retinopatía. Tal producto se puede usar adicionalmente o proporcionarse con un agente para el control glucémico, preferiblemente insulina o un agente antidiabético funcionalmente equivalente a la insulina, preferiblemente donde el agente antidiabético comprende insulina regular o un análogo de insulina tal como insulina lispro, insulina glulisina, insulina aspart, insulina degludec, insulina glargina, o en donde el agente antidiabético comprende una sulfonilurea o una meglitinida o metformina.

Los péptidos sintéticos con motivo de secuencia de aminoácidos GxxP, que permiten un giro beta de tipo VIII, preferiblemente en los que dicho sitio comprende un motivo de secuencia de aminoácidos GxxPG, como se establece en el presente documento, son útiles en el tratamiento de afecciones inflamatorias, tales como la lesión renal aguda, también en afecciones inflamatorias sistémicas agudas tales como, por ejemplo, sepsis o síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), que conducen a daño vascular y, a menudo, se agravan por insuficiencia orgánica (múltiples órganos), o afecciones inflamatorias con diabetes, cuando se administran con una composición antidiabética tal como la insulina. En una realización adicional de la invención, los péptidos con motivo de secuencia de aminoácidos GxxP, que permiten un giro beta de tipo VIII, preferiblemente donde dicho sitio comprende un motivo de secuencia de aminoácidos GxxPG, como se proporciona en este documento, se encapsulan en una cápsula resistente a los ácidos. Tales cápsulas (farmacéuticas) se usan ampliamente en el campo farmacéutico como formas de dosificación oral para

administración a seres humanos y animales. Rellena con un péptido de acuerdo con la invención, dicha cápsula es útil para la administración enteral de un péptido sintético provisto de al menos uno, preferiblemente dos o tres motivos pentapeptídicos GxxPG o xGxPG (siendo G glicina, siendo P prolina y x cualquier amino ácido), preferiblemente donde al menos un aminoácido en una posición x se selecciona del grupo de glicina, alanina, leucina, valina o isoleucina, dicho péptido también provisto de al menos una glutamina. Tal administración aliviaría o trataría enfermedades como la enfermedad de Crohn donde las células endoteliales intestinales necesitan regeneración. Además, tal administración sería útil en el tratamiento del daño gastrointestinal obtenido después de un exceso de radiación. Los péptidos con motivo de secuencia de aminoácidos GxxP, que permiten un giro beta de tipo VIII, preferiblemente donde dicho sitio comprende un motivo de secuencia de aminoácidos GxxPG, como se establece en el presente documento, también se pueden combinar ventajosamente con otros inmunomoduladores terapéuticos, tal como con péptidos inmunomoduladores, tal como péptidos con la SEQ ID NO: 1 (LQGV), AQQ o la SEQ ID NO: 2 (AQQV), o con otros inmunomoduladores, tal como con anticuerpos inmunomoduladores o proteínas dirigidas contra citoquinas como TNF-alfa, IL-1 o IL-6.

Legendas de las figuras

Figura 1

Ido et al. (Science, 25 de julio de 1997; 277 (5325): 563-6) muestran la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) de la porción media del péptido C humano para normalizar la disfunción vascular inducida por la glucosa. Sin embargo, al encontrar péptidos C inversos (retro) y todos los D-aminoácidos (enantio o inverso) equipotentes al péptido C nativo, concluyen que la actividad de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) no está mediada por un receptor, por lo que se recomienda no utilizar un receptor para el péptido C. Esta especificación muestra que lo contrario es un caso. Todos los péptidos con el motivo de la porción media GxxP (SEQ ID NO: 38 (GGGP) en péptido C humano y de rata, SEQ ID NO: 39 (GAGP) en péptido C inverso y PGAG estereoquímicamente equivalente en el péptido C de forma D) normalizan la disfunción vascular mientras que ninguno de los péptidos sin ese motivo lo hace. Por lo tanto, el motivo de unión a EBP GxxP en la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) es necesario y suficiente para normalizar la disfunción vascular. Por lo tanto, el péptido C humano puede considerarse un ligando de la EBP que modula la reparación vascular a través del ERC. La eficacia se expresa como un porcentaje promedio del efecto del péptido C humano 100 nM. Significativamente diferente para glucosa 30 mM: *p<0.05. Los motivos GxxP en los péptidos se unen al receptor de elastina cuando permiten una confirmación de giro beta cercana a un tipo VIII, una condición que se considera que siempre cumple el motivo xGxxPG. Todos los péptidos que tienen el motivo GxxP (SEQ ID NO: 38 (GGGP) o SEQ ID NO: 39 (GAGP), o PGAG todo D que es estereométricamente equivalente a la SEQ ID NO: 39 toda L (GAGP)) muestran una normalización significativa de la disfunción vascular mientras que ninguno de los péptidos sin el motivo muestra efectos significativos, lo que ilustra que el motivo de unión al receptor de elastina GxxP es necesario y suficiente para provocar la actividad biológica del péptido C. Figura adaptada de Ido Y, et al.

Prevención de disfunción vascular y neural en ratas diabéticas por el péptido C. Science 1997; 277: 563-66.

Figura 2

Descripción resumida de los efectos vasculares patológicos de la deficiencia del péptido GxxP frente al exceso de GxxP

Figura 3

Se acoplaron varios hexapéptidos GxxP en el sitio de unión de péptidos de la proteína de unión a elastina (EBP) utilizando Vina/Autodock y PyMOL (1, 2, 3). La conformación de unión de cada péptido se eligió entre las 20 poses con mejor puntuación. Se utilizó un modelo de homología de EBP (4) como receptor en el procedimiento de acoplamiento. Los péptidos probados fueron:

SEQ ID NO: 41 (VGVA PG) (prototipo del ligando del péptido GxxP de EBP (4))

SEQ ID NO: 34 (LG GPG) (seleccionado del péptido C humano (5))

SEQ ID NO: 43 (QGQL PG) (péptido inmunomodulador proporcionado en el presente documento)

SEQ ID NO: 44 (PGAY PG) (seleccionado de galectina-3 humana (6))

SEQ ID NO: 45 (QGVLP A) (seleccionado del bucle 2 de beta-hCG humana (7))

Referencias: 1. Trott, O & Olson, AJ (2010) AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, J Comp Chem 31: 455-461.

2. Seeliger, D & de Groot, BL (2010) Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. J Comput-Aided Mol Des 24: 417-422.

3. www.pymol.org

4 Blanchevove, C et al. (2013) Interaction between the elastin peptide VGVAPG and human elastin binding protein, J Biol Chem 288: 1317-28.

5 Ido, Y et al. (1997) Prevention of vascular and neural dysfunction in diabetic rats by C-peptide Science 277: 563-6

6 De Boer, R et al. (2011) Plasma Galectin-3 Is Associated with Near-Term Rehospitalization in Heart Failure: A Meta-Analysis Journal of Cardiac Failure Vol 17, Issue 8, S93

7 Khan, NA et al. (2010) Mitigation of septic shock in mice and rhesus monkeys by human chorionic gonadotrophin-related peptides, Clin Exp Immunol 160: 465-478.

De manera similar, el péptido GPGAG de todos los D-aminoácidos encaja en el modelo de EBP diseñado para acoplar también el prototipo de péptido de elastina de la SEQ ID NO: 41 (VGVAPG). Además, los péptidos de L-aminoácido de la SEQ ID NO: 40 (GGGPG) y la SEQ ID NO: 46 (GAGPG) también se ajustan al modelo. Se considera que la bioactividad asociada a EBP depende de si el péptido GXXP puede adaptarse a una confirmación de giro beta de tipo VIII en la prolina (P).

Figura 4

Descripción general de las vías fisiopatológicas en el síndrome metabólico, la aterosclerosis y la diabetes

Figura 5

Esta nueva perspectiva arroja nueva luz sobre las enfermedades asociadas con la aterosclerosis y la resistencia a la insulina (p. ej., enfermedad cardiovascular, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica, demencia, enfermedad renal crónica e insuficiencia de las células beta que conduce a la diabetes). No solo vincula el azúcar y el tabaquismo, sino también varios otros factores de riesgo coexistentes que resultan de la dieta (consumo excesivo de almidones refinados o de productos cárnicos procesados con exceso de elastina), o estilo de vida (exposición a la calina o falta de ejercicio). La invención presenta la activación del receptor de elastina por el péptido C como la causa de la resistencia a la insulina, la hipertensión y la inflamación crónica baja o la reparación excesiva de los vasos sanguíneos en el síndrome metabólico y relaciona este síndrome con otras afecciones de resistencia a la insulina, tales como la EPOC debida al tabaquismo y exposición a materia en partículas finas, donde los péptidos derivados de elastina pueden activar el receptor de elastina para causar una reparación excesiva de la resistencia a la insulina.

Descripción adicional de las divulgaciones

La solicitud describe la presencia de un motivo de unión al receptor de elastina canónico, GxxP o xGxxPG, en el péptido C humano, un hecho que ha sido pasado por alto por la comunidad médica en general. Además, el motivo está ubicado en una porción intermedia hidrófoba del péptido C que ya en 1997 se identificó como central para su actividad biológica, pero se rechazó como posible sitio de unión al receptor. Esta solicitud muestra que el rechazo no es válido. La invención presenta la activación del receptor de elastina por el péptido C como la causa de la resistencia a la insulina, la hipertensión y el exceso de reparación crónico bajo en el síndrome metabólico y relaciona este síndrome con otras afecciones de resistencia a la insulina, tales como la EPOC debida al tabaquismo y la exposición a materia en partículas finas, donde los péptidos derivados de elastina pueden activar el receptor de elastina para causar resistencia a la insulina y reparación excesiva.

Todas las secuencias de aminoácidos del presente documento se representan con el código de una letra. El péptido C se encuentra en todos los mamíferos que producen insulina, ya que es coproducido y coexcretado con insulina por las células del páncreas. La secuencia de aminoácidos del péptido C humano común es la SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ). En el presente documento se divulga que los péptidos C de una amplia variedad de especies tienen motivos de unión al receptor de elastina dentro de su porción media hidrófoba (SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) en humanos).

Un receptor para el péptido C se identifica en el presente documento como la proteína de unión a elastina, que se puede encontrar en el complejo del receptor de elastina como la galactosidasa empalmada alternativamente derivada de la beta-galactosidasa, codificada por el gen GLB1 (Uniprot identificador P16278). La isoforma 1 del producto génico se relaciona con la beta galactosidasa (beta-Gal) mientras que la isoforma 2 se relaciona con la galactosidasa empalmada alternativamente (S-Gal). <http://www.piphuman.eu/site/home.html>. Beta-Gal (isoforma 1) escinde residuos de galactosilo terminal ligados a beta de gangliósidos, glicoproteínas y glucosaminoglucanos, y se localiza principalmente en los lisosomas.

La isoforma 2 (S-Gal) tiene poca o ninguna actividad catalítica de beta-galactosidasa, pero desempeña papeles funcionales en la formación de fibras elásticas extracelulares (elastogénesis) y en el desarrollo del tejido conectivo. S-Gal se considera idéntica a la proteína de unión a elastina (EBP), un componente principal del receptor de superficie celular no integrina expresado en fibroblastos, células de músculo liso, condroblastos, leucocitos y ciertos tipos de células cancerosas. En las células productoras de elastina, la EBP se asocia con la tropoelastina intracelularmente y funciona como una chaperona molecular de reciclaje que facilita las secreciones de tropoelastina y su ensamblaje en fibras elásticas.

A modo de teoría no limitativa en cuanto a la función, el daño y la destrucción de las células beta no solo es causal en la diabetes tipo 1, sino que también se observa en el desarrollo de la diabetes tipo 1.5 y 2, y también el síndrome metabólico en conjunto, y los fenómenos observados con la resistencia a la insulina son secundarios o paralelos a los eventos iniciales en las células beta pancreáticas. El daño y la destrucción de las células beta es causado principalmente por una sobreproducción de péptido C que es secretado por estas células, depositado en su periferia y que conduce a una inflamación crónica de bajo grado e inicialmente heterogénea de las células beta y los islotes de Langerhans por interacción de péptidos C con células que portan el receptor de elastina, una interacción mediada en péptidos C humanos mediante la unión del receptor a la porción media hidrófoba de la SEQ ID NO: 32 (LGGGPGAG). Antes, durante o después de estos eventos iniciales o junto con ellos y cuando se mantiene la sobreproducción de péptido C, la inflamación de bajo grado se extiende a los tejidos periféricos donde también se deposita el péptido C y nuevamente se estimulan las células que contienen el receptor de elastina.

Además, se divulgan péptidos derivados del péptido C humano (Uniprot identificador > sp|P01308|57-87) o equivalentes de mamíferos funcionales del mismo que consisten en un octapéptido, hexapéptido, heptapéptido, pentapéptido o tetrapéptido que comprende un motivo GxxP o xGxP donde G es glicina, P es prolina, y x es cualquier aminoácido, y variantes retro inversas del octapéptido, hexapéptido, heptapéptido, pentapéptido o tetrapéptido que comprende el motivo xGxP o GxxP. Téngase en cuenta que no existen estereoisómeros de glicina, en el presente documento L-glicina y D-glicina representan glicina. A modo de ejemplo no limitante, los péptidos pueden sintetizarse mediante un método de fase sólida con un sintetizador de péptidos automatizado (tal como el modelo 990; Beckman Instrument, Fullerton, CA). Los péptidos pueden purificarse mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (tal como Capcell Pak C-18, Shiseido, Tokio, Japón). La secuencia del péptido puede confirmarse con un espectrómetro de masas (tal como Voyager, Linear-DE/K, Preseptive Biosystems, TX).

Un ejemplo de octapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el octapéptido de la SEQ ID NO: 32 (LGGGPGAG) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 8 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGGGL, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9 aminoácidos, que comprenden el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGGGL. Nota: no existen estereoisómeros de glicina, en el presente documento (y en péptidos retro inversos que tienen, por ejemplo, motivos retro inversos GxxP o xGxP) G no lo es, mientras que se proporcionan otros aminoácidos, tales como L, P y A, que son fundamentales para el carácter de todos los D-aminoácido del péptido retro inverso en el presente documento.

Un ejemplo de hexapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el hexapéptido de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 7 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGGG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 8 aminoácidos, que comprenden el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGGG.

Otro ejemplo de hexapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el heptapéptido de la SEQ ID NO: 47 (LGGGPGA) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 7 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro-inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGGG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 7 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos AGPGGGL.

Un mejor ejemplo de heptapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el hexapéptido de la SEQ ID NO: 48 (GGPGAG) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 6 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro-inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 6 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos GAGPGG.

Otro ejemplo de heptapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el heptapéptido de la SEQ ID NO: 34 (LGGGPG) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 6 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GPGGGL, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 6 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos GPGGGL.

Otro ejemplo de heptapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el hexapéptido de la SEQ ID NO: 49 (GGGPGA) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 6 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos AGPGGG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 6 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos AGPGGG.

Un mejor ejemplo de pentapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el heptapéptido de la SEQ ID NO: 40 (GGGPG) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 6 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GPGGG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 5 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos GPGGG.

Otro ejemplo de pentapéptido es el péptido de la SEQ ID NO: 46 (GAGPG), y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferentemente de a lo sumo 25, preferentemente de a lo sumo 20, preferentemente de a lo sumo 12, preferentemente de a lo sumo 9, preferentemente de a lo sumo 5 aminoácidos, que comprenden el péptido de la SEQ ID NO: 46 (GAGPG).

Otro ejemplo de pentapéptido es una variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos GPGAG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo de 9, preferiblemente de a lo sumo 5 aminoácidos, que comprenden el péptido de todos los D-aminoácidos GPGAG.

Un mejor ejemplo de tetrapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo xGxP o GxxP derivado del péptido C humano es el tetrapéptido de la SEQ ID NO: 38 (GGGP) que se selecciona de la secuencia del péptido C humano como un todo y es muy adecuado para uso humano teniendo en cuenta su homología del 100 % en el tramo de 6 aminoácidos en el péptido C del que se deriva. También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos PGGG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 4 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos PGGG.

Otro tetrapéptido como se divulga en el presente documento que comprende el motivo GxxP es el tetrapéptido de la SEQ ID NO: 39 (GAGP). También se proporciona la variante retro inversa, el péptido de todos los D-aminoácidos PGAG, y péptidos o peptidomiméticos de a lo sumo 30, preferiblemente de a lo sumo 25, preferiblemente de a lo sumo 20, preferiblemente de a lo sumo 12, preferiblemente de a lo sumo 9, preferiblemente de a lo sumo 4 aminoácidos, que comprende el péptido de todos los D-aminoácidos PGAG.

En las células beta, la insulina se produce junto con el péptido C a partir de la misma molécula precursora, la preproinsulina. Tanto la insulina como el péptido C se excretan en cantidades iguales en la sangre, por lo que la insulina puede actuar sobre los tejidos periféricos solo durante un período breve, con una vida media de aproximadamente 5 minutos. El péptido C, sin embargo, tiene una vida media informada de 30 minutos y circula mucho más tiempo en la sangre. Aunque hace tiempo que no se comprende la función del péptido C, actualmente se le atribuyen muchas actividades, entre las que se encuentran las actividades proinflamatorias. No se ha explicado el origen de estas actividades proinflamatorias. Como se proporciona en el presente documento, el análisis estructural del péptido C revela la presencia de un motivo de unión al receptor de elastina que, sin estar ligado a una teoría particular, es la causa del efecto proinflamatorio.

La secuencia de aminoácidos del péptido C humano común es: SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAG SLQPLALEGSLQ). La porción media, la SEQ ID NO: 42 (ELGGGPGAGS), tiene un dominio PG característico adicional, hasta ahora desapercibido, que explica el llamado carácter proinflamatorio del péptido C y, en particular, explica la inflamación crónica de bajo grado, inicialmente heterogénea (identificada en este documento como reparación excesiva de los vasos sanguíneos) que se observa con la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico, y más en particular, explica el inicio, la etiología, de la diabetes tipo 2 en su conjunto. Se reconoce en este documento que la SEQ ID NO: 42 (ELGGGPGAGS) tiene una secuencia canónica de xGxP, GxxP, GxxPG y xGxPG (siendo x cualquier aminoácido, preferiblemente un aminoácido hidrófobo) encontrada en péptidos reactivos con la proteína de unión a elastina, EBP. La proteína de unión a elastina (EBP), una variante empalmada de la beta-galactosidasa lisosomal, es el principal receptor de los péptidos de elastina que, por ejemplo, se han relacionado con el enfisema, el aneurisma y la progresión del cáncer. Las secuencias reconocidas por EBP comparten el patrón de consenso GxxP que se encuentra en numerosas proteínas de la matriz, especialmente en la elastina, donde se repite el motivo de la SEQ ID NO: 41 (VGVAPG). En el presente documento, el péptido C se reconoce por primera vez como un ligando de EBP o del receptor de elastina. Por lo tanto, el péptido C tiene el mismo conjunto de actividades quimiotáxicas, activadoras de metaloproteinasas de matriz (MMP), proliferativas y poco inflamatorias o de reparación vascular que tienen los péptidos de elastina conocidos derivados de proteínas de matriz extracelular (ECM). Esta interacción del receptor no ha sido reconocida públicamente antes, ni por los expertos en la técnica de la investigación de la diabetes

o de la investigación de los trastornos metabólicos, ni por los expertos en la técnica de la ECM o la investigación del péptido de elastina.

Habiendo identificado un sitio de unión EBP en el péptido C, ahora se explica la reparación vascular o la modulación poco inflamatoria por el péptido C. Los pericitos, las células del músculo liso, los fibroblastos, las células del tejido adiposo, las células estrelladas pancreáticas y otras células del tejido conjuntivo, junto con las células endoteliales y las células inmunitarias innatas circulantes, tales como los leucocitos y los monocitos, pueden responder a la unión de EBP a proteínas y péptidos que contienen GxxPG por proliferación mediada por interleucina-1-beta y activación inflamatoria de bajo grado. El análisis del proteoma humano muestra que las proteínas con múltiples motivos GxxPG están muy relacionadas con la matriz extracelular (ECM). Las proteínas de matriz con múltiples sitios GxxP, xGxP o GxxPG incluyen fibrilina-1, -2 y -3, elastina, fibronectina, laminina y varias tenascinas y colágenos.

En segundo lugar, los leucocitos y monocitos circulantes muestran una fuerte quimiotaxis a las proteínas y péptidos que contienen GxxP, xGxP, GxxPG o xGxPG, por lo que el péptido C atraerá a esas células a cualquier lugar donde esté presente el péptido C.

En tercer lugar, la unión de EBP a proteínas y péptidos portadores de GxxP, xGxP, xGxPG o GxxPG se ha asociado con el desprendimiento de EBP de las superficies celulares y una mayor presentación del receptor de interleucina-1 que tiene afinidad por la interleucina-1-beta, lo que permite la endocitosis obstaculizada o para una proliferación continua mediada por interleucina-1-beta y activación inflamatoria dondequiera que estén presentes depósitos de péptido C.

En cuarto lugar, la unión de EBP a proteínas y péptidos portadores de GxxP o GxxPG se ha asociado con la activación de la neuraminidasa y la liberación de ácido siálico de proteínas que inducen resistencia a la insulina, en particular de adipocitos y hepatocitos.

En quinto lugar, la unión de EBP a proteínas y péptidos que contienen GxxP o GxxPG se ha asociado con el desprendimiento de EBP de las superficies celulares y la disminución de la presentación de PPCA con actividad proteolítica hacia la endotelina-1, por lo que el aumento de los niveles de endotelina-1 debido a la disminución de la actividad proteolítica de PPCA da como resultado aumento de la hipertensión.

Las divulgaciones se refieren también en parte a la identificación de un tipo de receptor que se une a péptidos C o fragmentos de péptido C, induciendo así la bioactividad relacionada con el péptido C asociada con diversos trastornos, tales como trastornos inmunitarios como el síndrome metabólico y la diabetes. Tal tipo de receptor que se une o interactúa con péptidos C o fragmentos de péptido C como se divulga en el presente documento, es un receptor de elastina de mamífero conocido por unirse a péptidos de elastina que incluyen, entre otros, el complejo receptor de elastina, que incluye una proteína de unión a elastina (EBP) de 67 kDa identificada como una variante empalmada de beta-galactosidasa, y sus homólogos e isoformas relacionados, que se encuentra de forma ubicua en células inmunitarias innatas, células de matriz extracelular, fibroblastos, células de músculo liso vascular y ciertas células tumorales. También se unen a estos motivos elastasas pancreáticas, entendiéndose en el presente documento que también tienen actividad de unión del tipo de proteína de unión a elastina. El tipo de proteína de unión a elastina, normalmente se une a motivos canónicos xGxP, GxxP, GxxPG y xGxPG (siendo x cualquier aminoácido, preferiblemente un aminoácido hidrófobo) en proteínas de matriz extracelular, tales como elastina, lamininas, colágeno tipo IV y fibrilina-1 y dicho motivo se identifica en el presente documento por primera vez en péptidos C. La interacción proteína de unión a elastina/péptido de elastina también se puede encontrar con integrinas y galectina, EBP, integrinas y galectinas y otros receptores capaces de unirse a motivos xGxP, GxxP, GxxPG y xGxPG comúnmente llamados tipo de proteína de unión a elastina. La identificación de un "receptor de elastina" que interactúa con el péptido C para promover una modulación de la respuesta biológica asociada con trastornos metabólicos e inmunitarios proporciona a su vez un componente valioso y esencial cuando se practican realizaciones adicionales, que incluyen, pero no se limitan a, métodos, usos y péptidos identificados para el tratamiento de diversos trastornos.

Se pueden encontrar, por ejemplo, otros péptidos agonistas o antagonistas útiles *in silico* empleando el modelo de homología del sitio de unión a elastina de la EBP humana. Blanchevoy et al., construyeron recientemente un modelo de homología de esta proteína y mostraron acoplamiento de la SEQ ID NO: 41 (VGVAPG) en este modelo (Blanchevoy et al., INTERACTION BETWEEN THE ELASTIN PEPTIDE VGVAPG AND HUMAN ELASTIN BINDING PROTEIN, doi: 10.1074/jbc.M112.419929 jbc.M112.419929; cuyo contenido, tal como las coordenadas atómicas relevantes del sitio de unión, se incluyen en el presente documento como referencia).

Descripción detallada

El péptido C humano se encuentra como ligando del receptor de elastina humana.

Receptor de elastina significará un grupo químico o molécula en la superficie celular o en el interior celular que tiene afinidad por un péptido que tiene un motivo de aminoácido GxxP, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina y x para cualquier aminoácido, el aminoácido que sigue a la P permite preferiblemente un giro beta tipo VIII, una condición que se cumple cuando P es seguida en el extremo terminal C por una G, dicho receptor de elastina típicamente representado en humanos por la proteína de unión

a elastina conocido en la base de datos de acceso público Uniprot como isoforma 2 GLB1 bajo el identificador: P16278-2.

Péptido C

5 significará un péptido típicamente producido por las células beta en el páncreas junto con la insulina, dicho péptido C representado en humanos por el péptido conocido en la base de datos de acceso público Uniprot como isoforma 1 INS bajo el identificador: P01308-1, posición 57-87.

El péptido C humano, que conecta las cadenas de insulina inmadura A y B y se secreta en una proporción de 1:1 con la insulina madura en la circulación portal, se ha considerado tradicionalmente inerte, a pesar de la creciente evidencia de su actividad biológica. Se demuestra que en exceso en la dieta, el exceso de péptido C en suero conduce a una inflamación crónica de bajo grado, resistencia a la insulina e hipertensión y es causal del síndrome metabólico. Se muestra que el péptido C que tiene un motivo xGxxPG hasta ahora no reconocido específico para la unión de péptidos de elastina al receptor de elastina, desempeñando dicho receptor diversas funciones en la inflamación y reparación de tejidos. Hallazgos recientes muestran que este receptor promueve la resistencia a la insulina, la dislipidemia, la hipertensión y la aterogénesis, todas características del síndrome metabólico. Este hallazgo pone al péptido C en el centro de atención, vinculando el síndrome metabólico con otras afecciones de resistencia a la insulina, tales como EPOC, cuando los péptidos derivados de la elastina circulantes pueden combinarse con el péptido C para estimular la resistencia a la insulina mediada por el receptor de elastina y la inflamación.

Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina (RI) es central en el síndrome metabólico^{1,2}. Ocupa un lugar crucial en la etiología de afecciones inflamatorias crónicas, relacionadas con el estilo de vida, la dieta o la edad, tal como la enfermedad cardiovascular aterosclerótica y la diabetes tipo 2. Las características del síndrome metabólico son RI, hipertensión, dislipidemia, hiperinsulinemia y alteración de la tolerancia a la glucosa. Existen incertidumbres sobre la causa de la RI. Simplificado, la vista principal^{1,3} mantiene la inflamación crónica de bajo grado para impulsar la RI y la subsiguiente hiperinsulinemia; una visión aparentemente opuesta² mantiene un aumento de la hiperinsulinemia para impulsar la RI y la inflamación posterior.

En seres humanos con excesos en la dieta, el exceso de péptido C en suero causa inflamación crónica de bajo grado, así como RI e hipertensión que conducen al síndrome metabólico, siendo el péptido C hasta ahora no reconocido como un ligando para el receptor de elastina.

El receptor de elastina

30 El receptor de elastina humana⁴⁻⁶ participa en la quimiotaxis de los leucocitos y en la activación de las metaloproteinasas de la matriz, en la migración y angiogénesis de las células endoteliales y en la proliferación de fibroblastos y células del músculo liso vascular. El receptor es activado por fragmentos (proteolíticos) de matriz extracelular en el tejido de granulación después de una lesión o inflamación tisular, cumpliendo trabajos manuales para la reparación de tejidos.

35 El receptor consta de una variante empalmada alternativamente de beta-galactosidasa humana. Se une a un motivo hexapéptido x-Gly-xx-Pro-Gly (xGxxPG) en (fragmentos proteolíticos de) proteínas de la matriz extracelular como la elastina y la fibrilina-1⁴. El representante más conocido del motivo es el hexapéptido de la SEQ ID NO: 41 (VGVPAG) que se encuentra en la (tropo)elastina, pero muchos otros péptidos biológicamente activos que se ajustan a la secuencia característica xGxxPG, generalmente llamados péptidos de elastina, se han informado como agonistas^{4,5}.
40 Una secuencia mínimamente esencial para la actividad biológica es GxxP, con el péptido en P adoptando un giro beta de tipo VIII⁵. El péptido V14 (SEQ ID NO: 131 (VVGSPSAQDEASPL)) correspondiente al sitio de unión del receptor, se usa para antagonizar la unión del péptido de elastina⁶.

El receptor de elastina forma un complejo con la neuraminidasa (Neu-1) y la proteína protectora catépsina A (PPCA) en la superficie celular⁴. Después de unirse a su ligando, el complejo se internaliza en los compartimentos endosómicos de la célula y desencadena numerosas respuestas celulares. En ratones, los péptidos de elastina potencian la aterosclerosis a través de Neu-1⁷ y regulan RI⁸ debido a una interacción entre Neu-1 y el receptor de insulina. Además, en ratones, se requiere PPCA para el ensamblaje de fibras elásticas y la inactivación de la endotelina-1, activación alterada de la endotelina-1 que resulta en hipertensión⁹.

Péptido C

50 En este documento, el péptido C humano reconocido (1SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSL QPLALEGSLQ)₃₁) contiene el motivo xGxxPG (subrayado), identificándolo sorprendentemente como un ligando para el receptor de elastina. Las implicaciones de largo alcance de ese hallazgo se discuten a continuación. Clásicamente, el péptido C conecta las cadenas A y B de la insulina en la preproinsulina producida en las células beta pancreáticas a partir del gen de la insulina y facilita el plegamiento y la unión de las cadenas A y B. Después del procesamiento, se secretan la insulina madura y el péptido C en la circulación portal. Ya sea por frugalidad dietética o por exceso, la insulina y el péptido C se producen y secretan en concentraciones equimolares. Sin embargo, la vida media en plasma del péptido C de ~30 min frente a la vida media de la insulina de ~4 min¹⁰ hace que el exceso en la dieta mantenga

niveles persistentemente más altos de péptido C circulante que de insulina. El punto de vista tradicional sostiene que el péptido C circulante es esencialmente inerte y, debido a su vida media más larga, particularmente útil como marcador sustituto de la liberación de insulina. Sin embargo, la evidencia acumulada apunta a funciones biológicas para el péptido C¹¹⁻¹⁴. El exceso de péptido C en ratones provoca experimentalmente efectos inflamatorios en la vasculatura y alrededor de los glomérulos y el péptido C se encuentra depositado en las lesiones ateroscleróticas de los pacientes¹⁵. Los niveles de péptido C en suero en ayunas se relacionan significativamente con los riesgos de muerte cardiovascular y general en adultos no diabéticos¹⁶. Estos hallazgos recientes establecen la importancia fisiopatológica del péptido C por derecho propio.

Pentapéptido₂₇ SEQ ID NO: 6 (EGSLQ)₃₁

Una primera preocupación se refiere al pentapéptido₂₇ SEQ ID NO: 6 (EGSLQ)₃₁, correspondiente a los cinco residuos del extremo terminal C del péptido C humano, que imita varios efectos del péptido de longitud completa. El pentapéptido desplaza el péptido C unido a la membrana celular, aumenta el Ca(2⁺) intracelular y estimula las vías de señalización de la MAP quinasa y la Na(+),K(+)-ATPasa⁸. Es de destacar que el glutamato en la posición 27 se mostró esencial para la activación de la alfa-enolasa por el péptido C¹⁴, lo que sugiere que el sitio del pentapéptido del extremo terminal C puede estar involucrado en la interacción del péptido C con la alfa-enolasa.

Parte media₁₃ SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG)₁₉

Un segundo sitio, y foco principal de esta solicitud, la porción media del péptido C humano₁₃ SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG)₁₉, se detectó cuando se investigaron las características estructurales del péptido C críticas para mediar sus efectos sobre la disfunción vascular en un modelo de tejido de granulación de cámara de piel en ratas¹⁴.₁₃SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG)₁₉ se demostró que es fundamental para la actividad biológica del péptido C. Sin embargo, como se encontró que los péptidos C sintéticos de secuencia inversa (retro) y todos los D-aminoácidos (enantio) eran equipotentes con el péptido C nativo, se concluyó entonces¹⁴ que los efectos de esta porción media deben basarse en interacciones no quirales, lo que aleja la enseñanza de cualquier posible unión del receptor estereoespecífico a₁₃ SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG)₁₉. Esta enseñanza ha dominado desde entonces la literatura sobre el péptido C. Sin embargo, aquí se concluye que un motivo de unión al receptor de elastina xGxxPG se superpone con la porción media bioactiva del péptido C (₁SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)₃₁), claramente asociado con efectos sobre la función vascular en el tejido de granulación, identificando al péptido C como un ligando biológicamente activo del receptor de elastina.

Receptor del péptido C

Hasta ahora, se desconoce un receptor del péptido C distinto. Un estudio de unión¹² del péptido C a las membranas de células humanas indica la existencia de al menos dos complejos de péptido C/receptor, uno con alta afinidad y baja movilidad y otro con baja afinidad y alta movilidad y estudios recientes sugieren alfa-enolasa¹⁷, un receptor de superficie celular de plasminógeno, o GPR146¹⁸, asociado a dislipidemia¹⁹, como posibles receptores candidatos para el péptido C. Sitios biológicamente activos en el péptido C. Se han identificado al menos dos sitios biológicamente activos en el péptido C.

Se revoca la no quiralidad.

Sorprendentemente, al estudiar la referencia 14 nuevamente, el motivo xGxxPG también está presente en el péptido C biológicamente retroactivo (₁SEQ ID NO: 136 (QLSGELALPQLSGAGPGGGLEVGQVQLDEAE)₃₁). Además, el péptido C enantio biológicamente activo (D--₁EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ₃₁) porta el motivo, estando oculto como la secuencia retro-enantio D--GPGAGS; los retro-enantiopéptidos son estereométricamente casi idénticos a sus péptidos originales, manteniendo la topología general de la cadena lateral aunque para diferentes extremos del terminal N y el terminal C²⁰. Estas observaciones revocan la enseñanza¹⁴ de no quiralidad y en su lugar permitir la unión estereoespecífica de estos péptidos a un receptor que reconoce dicho motivo: el receptor de elastina. El péptido C es una especie del género de los péptidos de elastina.

Además, en el presente documento se proporcionan ejemplos adicionales de fragmentos del péptido C humano y¹⁴, todos con una porción media de hexapéptido₁₂SEQ ID NO: 34 (LGGGPG)₁₇, que impidió la disfunción vascular mientras que otros fragmentos del péptido C humano, en los que la porción media del hexapéptido estaba rota, no se encontraron activos. El péptido C de rata, que comprende un motivo GxxP hexapéptido (₁₂SEQ ID NO: 134 (LGGGPE)₁₇) (la P que permite un giro beta tipo VIII requerido para la actividad biológica⁵) también se encontró activo, mientras que el péptido C de cerdo (parte media₁₂SEQ ID NO: 135 (LGGGLG)₁₇) que no contenía la P esencial en el motivo de unión a elastina, se encontró inactivo. Cabe destacar que los 11 péptidos C (fragmentos) con el motivo GxxP previnieron la disfunción vascular, mientras que los 5 sin el motivo no lo hicieron, lo que demuestra que incluso los fragmentos del péptido C circulante pueden contribuir a la activación del receptor de elastina, siempre que el motivo GxxP y el giro beta tipo VIII está presente. Por lo tanto, el péptido C humano y sus fragmentos que contienen xGxxPG pueden considerarse una especie inesperada del género de una clase más grande de péptidos: péptidos de elastina capaces de activar el receptor de elastina, por lo que el exceso de péptido C puede estar interfiriendo con la reparación de tejidos mediada por el receptor de elastina, modulando inflamación crónica de bajo grado, RI e hipertensión. La resistencia a la insulina se extiende más allá del síndrome metabólico. Con base en lo anterior, se plantea que en

humanos con exceso de dieta y propensos a desarrollar síndrome metabólico, el exceso de péptido C se une al receptor de elastina, provocando al menos tres efectos, inflamación crónica de bajo grado (más bien para ser visto como un exceso de actividad de reparación vascular), resistencia a la insulina e hipertensión. El hallazgo une las afecciones observadas con el síndrome metabólico con afecciones posiblemente causadas por productos de degradación de elastina circulantes, tales como la EPOC, causada por fumar o por exposición a materia de partículas finas (calina), o por afecciones fisiológicas, tales como el embarazo y el crecimiento; lo que permite una patología acumulativa cuando aumentan tanto el péptido C como los péptidos derivados de elastina, lo que proporciona un salto sustancial en nuestra comprensión de las causas del síndrome metabólico y otras afecciones de RI relacionadas con el estilo de vida o la edad. Se ha demostrado la unión del péptido de elastina/receptor de elastina para péptidos sintéticos tal como la SEQ ID NO: 41 (VGVAPG) y la inhibición por el péptido antagonista V14⁴⁻⁶. Está previsto realizar estas pruebas con variantes o fragmentos sintéticos del péptido C humano, provistos con o sin la secuencia GxxP, para estudiar la unión, incluido el péptido V14 antagonista del receptor de elastina clásico para estudiar la inhibición de la unión. De manera similar, se pueden hacer las pruebas de péptido C en un modelo de función vascular de tejido de granulación de cámara de piel¹⁴, o probar el péptido C sintético, inducible o constitutivamente expresado en modelos establecidos de aterosclerosis, RI mediada por Neu-1 o hipertensión mediada por PPCA⁷⁻⁹. Por ejemplo, en un experimento clásico de cámara de Boyden, se demostró *in vitro* un aumento del 100 % en la migración de células inmunitarias CD4+ en medio de suero al 1 % mediante el péptido C a 10 nM, cuya migración de CD4- luego se inhibió, antagonizó y disminuyó en >50 % por el péptido V14 a 1.3 microM, lo que demuestra específicamente la reducción de la actividad biológica específica del péptido C por el péptido V14 antagonista del receptor de elastina.

Referencias

- 1 Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. J Clin Invest. 2006; 116: 1793-1801.
- 2 Shanik MH, Xu Y, Skrha J, Dankner R, Zick Y, Roth J. Diabetes Care. 2008; Suplemento 2: S262-8
- 3 Bolton CE, Evans M, Ionescu AA, et al., COPD. 2007; Junio; 4(2): 121-6.
- 4 Adair-Kirk TL, Senior RM. Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(5-7): 1101-10.
- 5 Blanchevoye et al., doi: 10.1074/jbc.M112.419929 jbc.M112.419929
- 6 Robinet A, Fahem A, Cauchard JH, et al., J Cell Sci. 2005; enero 15; 118(Pt 2): 343-56.
- 7 Gayral S, Garnotel R, Castaing-Berthou A, et al., Cardiovasc Res. 2013; diciembre 19. [Epub antes de la impresión]
- 8 Blaise S, Romier B, Kawecky C, et al., Diabetes. 2013; noviembre; 62(11): 3807-16.
- 9 Seyrantepe V, Hinek A, Peng J, et al., Circulation. 2008; abril 15; 117(15): 1973-81.
- 10 Faber OK, Hagen C, Binder C, et al., J Clin Invest 1978; 62: 197-203
- 11 Hills CE, Brunskill NJ. Clin Sci (Lond). 2009; abril; 116(7): 565-74.
- 12 Rigler, R., Pramanik, A. y Jonasson, P. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.1999; 96, 13318-13323
- 13 Johansson J, Ekberg K, Shafqat J, et al., Biochem Biophys Res Commun. 2002; agosto 2; 295(5): 1035-40.
- 14 Y, Ido Vindigni A, Chang K, et al., Science. 1997; julio 25; 277(5325): 563-6.
- 15 Vasic D, Walcher D. Int J Inflam. 2012; 2012: 932725.
- 16 Patel N, Taveira TH, Choudhary G, Whitlatch H, Wu WC. J Am Heart Assoc. 2012; diciembre; 1(6): e003152.
- 17 Ishii T, Fukano K, Shimada K, et al., J Biochem. 2012; julio; 152(1): 53-62.
- 18 Yosten GL, Kolar GR, Redlinger U, Samson WK. J Endocrinol. 2013; 218(2): B1-8
- 19 Solicitud internacional de patente WO2007/042792;
- 20 Muller S, Benkirane N, Guichard G, Van Regenmortel MH, Brown F. Expert Opin Investig Drugs; 1998; septiembre; 7(9): 1429-38.

Una vez más, cuando comemos demasiado, proporcionamos a las células beta de nuestro páncreas señales continuas de glucosa para producir insulina, para albergar el exceso de glucosa derivado de nuestros alimentos en las células periféricas del hígado, los músculos y las células grasas. Cuando comemos en exceso, exigimos una producción cada vez mayor de insulina de nuestras células beta y, por lo tanto, demandamos una producción cada vez mayor de péptido C de nuestras células beta, el péptido C y la insulina se producen y excretan en cantidades iguales. Como la insulina tiene una vida media típica de aproximadamente 3-4 minutos, las condiciones de exceso de insulina se pueden manejar fácilmente. Sin embargo, el péptido C tiene una vida media mucho más larga, normalmente >30 minutos, y se formarán depósitos de exceso de péptido C (y de proinsulina total o parcialmente sin procesar) alrededor del borde de las células beta y los islotes de Langerhans, y también en la pared vascular de nuestros vasos sanguíneos. Los pericitos, las células del músculo liso, los fibroblastos, las células del tejido adiposo, las células estrelladas del páncreas y otras, junto con las células endoteliales y posiblemente los leucocitos circulantes, responden a la unión de la EBP al péptido C portador de GxxPG, lo que provoca hidrólisis inducida por matriz-metaloproteinasas (MMP) acompañada por proliferación mediada por interleucina-1-beta y posterior activación inflamatoria de bajo grado, en y alrededor de las células beta en los islotes de Langerhans. Por lo tanto, la IL-1-beta produce la inflamación del tejido que impacta en la masa funcional de las células beta y, posteriormente, también puede producir la sensibilidad a la insulina en la diabetes tipo 2. La unión de EBP a las secuencias de GxxPG del péptido C puede facilitar aún más la eliminación de EBP de las superficies celulares y una mayor presentación del receptor de interleucina-1, lo que permite una proliferación continua mediada por interleucina-1-beta y activación inflamatoria dondequiera que haya depósitos de péptido C, nuevamente produciendo la sensibilidad a la insulina en la diabetes tipo 2. En un paciente que desarrolla diabetes tipo 2 o síndrome metabólico, el daño y la destrucción de las células beta en el páncreas se producen después de la producción excesiva de péptido C por parte de esas células. Los fenómenos comúnmente observados como resistencia a la insulina son a menudo secundarios a eventos iniciales en las células beta pancreáticas y surgen de la

interacción de fibroblastos, pericitos de células de músculo liso y leucocitos con sobrecarga vascular o periférica de péptido C.

El péptido C ejerce efectos quimiotácticos y bioactivos a través de la interacción de su motivo GXXPG y XGXP con la proteína de unión a elastina. En el presente documento, en esta solicitud de patente, se enseña que el péptido C ejerce una influencia quimiotáctica y bioactiva sobre monocitos, pericitos, células de músculo liso, fibroblastos y otras células a través de la interacción con la proteína de unión a elastina (EBP) (Privitera et al., J. Biol. Chem. 1998; 273: 6319-6326). Este receptor reconoce los motivos Gly-X-X-Pro-Gly (XGXXPG) o X-Gly-X-Pro-Gly (XGXP) que se encuentran en los péptidos C, en los que X puede ser cualquier aminoácido, y preferiblemente un aminoácido hidrófobo. La identidad de esta proteína receptora, comúnmente llamada proteína de unión a elastina (EBP), se ha establecido como una variante de beta-galactosidasa enzimáticamente inactiva y empalmada alternativamente. La EBP forma un complejo con la proteína protectora/catepsina A (PPCA) y la sialidasa lisosomal (neuraminidasa-1, Neu-1). Como el péptido C se libera en concentraciones equimolares junto con la insulina, pero tiene una vida media mucho más larga, el aumento de la excreción de insulina como resultado de una mayor ingesta de alimentos dará como resultado niveles aún más altos de péptido C. Esto evoca una sobreoferta de péptido C y se observan depósitos de péptido C en la periferia de las células beta e incluso en la (micro)vasculatura donde estos depósitos de péptido C provocan la inflamación de bajo grado tan típica de lo que comúnmente es llamada resistencia a la insulina. La unión de los motivos GXXPG y XGXP a la EBP induce la proliferación de células vasculares y de tejido conjuntivo mediada por interleucina-1-beta.

Los pericitos, las células del músculo liso, los fibroblastos, las células del tejido adiposo, las células estrelladas pancreáticas y otras, junto con las células endoteliales y los leucocitos circulantes, responden a la unión de la EBP a las proteínas y péptidos portadores de GxxPG o xGxPG mediante la proliferación mediada por interleucina-1-beta y la activación inflamatoria de bajo grado. El análisis del proteoma humano muestra que las proteínas con múltiples motivos GxxPG o xGxPG están muy relacionadas con la matriz extracelular (ECM). Las proteínas de la matriz con múltiples sitios GxxPG o xGxPG incluyen fibrilina-1, -2 y -3, elastina, fibronectina, laminina y varias tenascinas y colágenos.

Estudios recientes han demostrado que el componente Neu-1 del complejo EBP es responsable de desencadenar la activación celular. La EBP está presente en muchos tipos de células, incluidos varios tipos de leucocitos, células mesenquimales, células del músculo liso vascular y fibroblastos de la piel. Mientras que el hexapéptido de la SEQ ID NO: 41 (VGVPAG), una secuencia comúnmente repetida en la elastina humana, es el ligando mejor reconocido para este receptor, péptido C, galectina-3, la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 (FRAAPLQGMLPGLLAPLRT) en colágeno humano 6 A3 (COL6A3, Uniprot identificador P1211) y el bucle beta-2 de la coriogonadotropina humana (hCG) ahora también se reconocen como capaces de unirse a la EBP. Además de la SEQ ID NO: 41 (VGVPAG), péptidos (todos derivados de elastina) que siguen el motivo GXXPG o XGXP (donde X es un aminoácido hidrófobo) muestran quimiotaxis para monocitos *in vitro* (Bisaccia F, et al., Int. J. Pept. Protein Res. 1994 ;44: 332-341, Castiglione Morelli MA, et al., J. Pept. Res. 1997 ;49: 492-499). Esto es notable, aunque no se haya observado antes, porque las secuencias de péptido C de primate no contienen la secuencia SEQ ID NO: 41 (VGVPAG); sin embargo, el péptido C de primate contiene cantidades significativas de motivos GXXP, GXXPG y XGXP que muestran actividades similares. Las interacciones GxxP, GxxPG y xGxPG del péptido C explican la implicación de la IL-1-beta. Las interacciones de GxxP, GxxPG y xGxPG del péptido C han sido pasadas por alto hasta ahora por los expertos en la investigación de la diabetes o los trastornos metabólicos, así como por los expertos en la investigación del péptido de elastina y la matriz extracelular (ECM). Este hecho anterior no observado explica el proceso de la enfermedad inflamatoria crónica mediada por IL-1-beta y predominantemente por macrófagos, como se observa, por ejemplo, en el tejido adiposo en pacientes que padecen diabetes tipo 2, explica el engrosamiento de la íntima y la proliferación de células del músculo liso observadas en los vasos de pacientes que sufren de aterosclerosis, insulinitis directa e inflamación en la periferia de los islotes alrededor de las células beta en el páncreas como se observa en las primeras fases de la diabetes, y muchas otras manifestaciones de la enfermedad del síndrome metabólico donde los pacientes sufren de sobreproducción de péptido C y depósitos de péptido C, probablemente como consecuencia de comer en exceso. Las interacciones de GxxP, GxxPG y xGxPG del péptido C también explican la participación de los leucocitos. Además, la señalización de IL-1-beta da como resultado la producción de mediadores proinflamatorios que actúan de forma autocrina/paracrina de alimentación directa en células beta y células inmunitarias innatas locales para amplificar estos efectos, amplificados por el hecho de que los leucocitos circulantes muestran una fuerte quimiotaxis frente a proteínas y péptidos que portan GxxPG o xGxPG; de nuevo, el péptido C atraerá a esas células a dondequiera que esté presente el péptido C, y en situaciones de sobrecarga de péptido C o incluso depósitos de péptido C, esto exacerbará la enfermedad. Como se indica en el presente documento, el concepto de que el péptido C y los productos de degradación del mismo pueden impulsar un proceso de enfermedad inflamatoria crónica con predominio de macrófagos a través de su motivo GxxPG y xGxPG ahora está dilucidando la etiología de la diabetes de todos los tipos y es aplicable a todas las enfermedades que ocurren en órganos y tejidos ricos en vasculatura, incluida la enfermedad arterial coronaria, la enfermedad vascular periférica y el aneurisma aórtico.

Por "péptido" el inventor incluye no sólo moléculas en las que los residuos de aminoácidos se unen mediante enlaces peptídicos (-CO-NH-), sino también moléculas funcionalmente equivalentes en las que se invierte el enlace peptídico. Los péptidos retroinversos se componen de D-aminoácidos ensamblados en un orden inverso al de la secuencia L original, manteniendo así la topología general de la secuencia nativa. Dichos peptidomiméticos retroinversos pueden prepararse utilizando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como los descritos en Mézière et al. (1997) J. Immunol. 159, 3230-3237, y Carver et al., (1997) Biopolymers. 15 de abril de 1997; 41(5): 569-90. Este enfoque implica

elaborar pseudopéptidos que contengan cambios que involucren la cadena principal y no la orientación de las cadenas laterales. Méziere et al., y Carver et al., (1997) muestran que estos pseudopéptidos son útiles. Los péptidos retroinversos son mucho más resistentes a la proteólisis. La retroinversión es una forma de proteger las sustancias peptídicas frente a la proteólisis. Implica la retroinversión de los enlaces peptídicos más susceptibles a la hidrólisis enzimática mediante la inversión de la dirección de los enlaces peptídicos. Los "péptidos retroinversos" son isómeros estructurales de los péptidos de referencia y como tales conservan su actividad biológica siendo más resistentes a la hidrólisis enzimática. Un peptidomimético es una cadena similar a una proteína pequeña diseñada para imitar un péptido. Por lo general, surgen de la modificación de un péptido existente para alterar las propiedades de la molécula. Por ejemplo, pueden surgir de modificaciones para cambiar la estabilidad o la actividad biológica de la molécula (útil solo cuando la actividad biológica del péptido es quiral). Los péptidos sintetizados químicamente generalmente tienen extremos terminales N y C libres. La acetilación del extremo terminal N y la amidación del extremo terminal reducen la carga total de un péptido; por lo tanto, su solubilidad global podría disminuir. Sin embargo, la estabilidad del péptido también podría incrementarse debido a que la acetilación/amidación terminal genera una imitación más cercana de la proteína nativa. Estas modificaciones podrían aumentar la actividad biológica de un péptido y también se proporcionan en el presente documento.

Síntesis de péptidos

Péptidos sintéticos del dominio PG o de tipo GxxP tales como la SEQ ID NO: 41 (VGVPAG), SEQ ID NO: 138 (GVAPGV), SEQ ID NO: 139 (VAPGVG), SEQ ID NO: 140 (APGVGV), SEQ ID NO: 141 (PGVGV), SEQ ID NO: 142 (GVGVAP), SEQ ID NO: 60 (PGAIPG), SEQ ID NO: 137 (LGTIPG), SEQ ID NO: 32 (LGGPGAG), SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG), SEQ ID NO: 49 (GGGPGA), SEQ ID NO: 38 (GGGP), SEQ ID NO: 40 (GGGPG), SEQ ID NO: 46 (GAGPG), SEQ ID NO: 50 (GGGPE), SEQ ID NO: 51 (GAIPG), SEQ ID NO: 52 (GGVPG), SEQ ID NO: 53 (GVAPG), SEQ ID NO: 54 (YTTGKLPYGYGPGG), SEQ ID NO: 55 (YGARPGVGVGIP), SEQ ID NO: 56 (PGFGAVPGA), SEQ ID NO: 57 (GVYPG), SEQ ID NO: 58 (GFGPG), SEQ ID NO: 59 (GVLPG), SEQ ID NO: 51 (GAIPG), SEQ ID NO: 60 (PGAIPG), SEQ ID NO: 61 (PGAVGP), SEQ ID NO: 62 (VGAMPG), SEQ ID NO: 63 (VGS LPG), SEQ ID NO: 64 (VGMAPG), SEQ ID NO: 65 (VPGVG), SEQ ID NO: 66 (IPGVG), SEQ ID NO: 63 (VGS LPG), SEQ ID NO: 41 (VGVPAG), SEQ ID NO: 67 (VGVPG), SEQ ID NO: 68 (AGAIPG), SEQ ID NO: 69 (VPGV), SEQ ID NO: 70 (LGITPG), SEQ ID NO: 71 (PNB), SEQ ID NO: 72 (GAIP), SEQ ID NO: 73 (GKVP), SEQ ID NO: 74 (GVQY), SEQ ID NO: 75 (GVLPG), SEQ ID NO: 76 (GVGP), SEQ ID NO: 77 (GFGP), SEQ ID NO: 78 (GGIP), SEQ ID NO: 79 (GVAP), SEQ ID NO: 80 (GIGP), SEQ ID NO: 39 (GAGP), SEQ ID NO: 81 (GGIPP), SEQ ID NO: 82 (GQFP), SEQ ID NO: 83 (GLSP), SEQ ID NO: 84 (GPQP), SEQ ID NO: 85 (GGQP), SEQ ID NO: 86 (GPQPG), SEQ ID NO: 87 (GGPQP), SEQ ID NO: 88 (GIPP), SEQ ID NO: 81 (GGIPP), SEQ ID NO: 89 (GIPPA), SEQ ID NO: 90 (GGIPPA), o sus variantes retroinversas, se sintetizan de acuerdo con la síntesis clásica en fase sólida. El péptido V14, un péptido que reproduce la secuencia de S-Gal que interactúa con péptidos de elastina que tienen el dominio PG, en particular el motivo GxxP, se obtiene de Neosystem (Estrasburgo, Francia). Alternativamente, el péptido V14 y sus variantes se sintetizan como se describe en el presente documento. La pureza de los péptidos se confirma mediante cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masas por bombardeo atómico rápido.

Tradicionalmente, los péptidos se definen como moléculas que constan de entre 2 y 50 aminoácidos, mientras que las proteínas se componen de 50 o más aminoácidos. Además, los péptidos tienden a tener una estructura menos definida que las proteínas, que pueden adoptar conformaciones complejas conocidas como estructuras secundarias, terciarias y cuaternarias. También se pueden hacer distinciones funcionales entre péptidos y proteínas. Sin embargo, los péptidos pueden subdividirse en péptidos, que tienen pocos aminoácidos (p. ej., de 2 a 30-50), y polipéptidos, que tienen muchos aminoácidos (>50). Las proteínas se forman a partir de uno o más polipéptidos unidos entre sí. Por lo tanto, las proteínas son esencialmente péptidos muy grandes. De hecho, la mayoría de los investigadores, así como esta solicitud, utilizan el término *péptido* para referirse específicamente a péptidos, o cadenas de aminoácidos relativamente cortas, con el término *polipéptido* siendo usado para describir proteínas, o cadenas de > 50 o mucho más aminoácidos.

Tratamiento de células cultivadas con péptido C o fragmentos del mismo.

Las células se pueden sembrar en placas a una densidad de 450 por mm² en una microplaca de 24 pocillos o una placa de Petri de 32 mm de diámetro y se cultivan durante 2-4 días o en cultivos como se describió anteriormente. En el día 2 de cultivo, las células se tratan con diversos péptidos C (preferiblemente seleccionados de la Tabla 1) o fragmentos peptídicos de los mismos durante 1 o 2 días. En un experimento, las células se trataron con una combinación de péptido C (1 micro-M) o anticuerpo policlonal antireceptor de elastina de 67 kDa (anticuerpo anti-S-Gal) (10 ng por ml) durante 2 días. Al final del tratamiento, las células se pueden tratar con tripsina (0.25%) y determinar el número de células con un contador Coulter. Para la determinación de la incorporación de timidina, las células se marcan con 50 micro-Ci de [metil-³H] timidina (3.2 TBq por mmol; Amersham) durante las últimas 18 h del tratamiento. La timidina incorporada se determina como cuentas precipitables con ácido tricloroacético con un espectrómetro de centelleo líquido (Beckman LS9800). La unión se puede antagonizar añadiendo péptido V32 o fragmentos de péptido V32 o péptido V14 o fragmentos de péptido V14.

Detección del receptor de elastina de 67 kDa. Para seleccionar o confirmar la presencia del receptor de elastina de 67 kDa en las células, se realiza una reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa utilizando ARN celular y oligoceadores sintéticos correspondientes a las secuencias de ADNc de beta-galactosidasa secuencia arriba y

secuencia abajo que abarcan la región entre los exones 2 y 5. La reacción se lleva a cabo durante 40 ciclos con desnaturalización a 90 °C durante 1 min, hibridación a 50 °C durante 2 min y extensión a 72 °C durante 5 min en un termociclador de ADN (Perkin-Elmer Cetus). Los productos de la reacción en cadena de la polimerasa se analizan preferiblemente en gel de agarosa al 1%.

- 5 Al describir en el presente documento la composición, estructura y función de proteínas o péptidos, se hace referencia a los aminoácidos. En la presente especificación, los residuos de aminoácidos se expresan utilizando las siguientes abreviaturas. Además, a menos que se indique explícitamente lo contrario, las secuencias de aminoácidos de péptidos y proteínas se identifican desde el extremo terminal N al extremo terminal C, del extremo terminal izquierdo al extremo terminal derecho, identificándose el extremo terminal N como un primer residuo. Ala: residuo de alanina; Asp: residuo de aspartato; Glu: residuo de glutamato; Phe: residuo de fenilalanina; Gly: residuo de glicina; His: residuo de histidina; Ile: residuo de isoleucina; Lys: residuo de lisina; Leu: residuo de leucina; Met: residuo de metionina; Asn: residuo de asparagina; Pro: residuo de prolina; Gln: residuo de glutamina; Arg: residuo de arginina; Ser: residuo de serina; Thr: residuo de treonina; Val: residuo de valina; Trp: residuo de triptófano; Tyr: residuo de tirosina; Cys: residuo de cisteína. También se puede hacer referencia a los aminoácidos mediante sus abreviaturas de código de una letra convencionales; A=Ala; T=Thr; V=Val; C=Cys; L = leu; Y = Tyr; I=Ile; N=Asn; P=Pro; Q=Gln; F=Phe; D=Asp; W=Trp; E=Glu; M = Met; K=Lis; G = Gly; R = Arg; S=Ser; y H=Su.

Resumen 1. La degradación de elastina y los péptidos de elastina con un motivo GxxP están asociados con enfermedades vasculares.

- 20 Enfermedad vascular mediada por péptidos derivados de elastina y complejo receptor de elastina (ERC).
La activación de ERC por péptidos de elastina degradados proteolíticamente se asocia con enfermedad vascular.

- Matrix ageing and vascular impacts: focus on elastin fragmentation. Duca L, et al; Cardiovasc Res. 1 de Junio de 2016; 110(3): 298-308.

- Hellenthal FA, Buurman WA, Wodzig WK, Schurink GW. Biomarkers of AAA progression. Parte 1: extracellular matrix degeneration. Nat Rev Cardiol 2009; 6: 464-474.

- 25 - Monocyte chemotactic activity in human abdominal aortic aneurysms: role of elastin degradation -peptides and the 67-kD cell surface elastin receptor. Hance KA, et al; J Vasc Surg 2002; 35: 254-261.

- Elastin degradation is associated with progressive aortic stiffening and all-cause mortality in predialysis chronic kidney disease. Smith ER, et al; Hypertension. Mayo de 2012; 59(5): 973-8

Prototipo de péptido de elastina sintética de la SEQ ID NO: 41 (VGVPAG)

- 30 Evidencia de que la interacción de la SEQ ID NO: 41 (VGVPAG) con ERC puede causar aterosclerosis y está involucrada en la quimiotaxis y angiogénesis de los macrófagos.

- Elastin-derived peptides potentiate atherosclerosis through the immune Neu1-PI3Ky pathway. Gayral S, et al; Cardiovasc Res. 1 de abril de 2014; 102(1): 118-27.

- 35 - Induction of macrophage chemotaxis by aortic extracts from patients with Marfan syndrome is related to elastin binding protein. Guo G, et al; PLoS One. 2011; 6(5): e20138.

- Elastin-derived peptides enhance angiogenesis by promoting endothelial cell migration and tubulogenesis through upregulation of MT1-MMP. Robinet A, et al; J Cell Sci. 15 de enero de 2005; 118 (Pt 2): 343-56.

Los péptidos de elastina degradados proteolíticamente de la SEQ ID NO: 143 (VPGVGISPEA) y la SEQ ID NO: 144 (GVAPGIGPGG)

- 40 La evidencia de que la SEQ ID NO: 143 (VPGVGISPEA) y la SEQ ID NO: 144 (GVAPGIGPGG) se localizan en lesiones ateroscleróticas humanas y que los niveles en suero de la SEQ ID NO: 144 (GVAPGIGPGG) están asociadas con infarto agudo de miocardio. Nota: Ninguno de los siguientes autores reconoce el motivo GxxP en la SEQ ID NO: 143 (VPGVGISPEA) y la SEQ ID NO: 144 (GVAPGIGPGG)

- 45 - Acute Myocardial Infarction and Pulmonary Diseases Result in Two Different Degradation Profiles of Elastin as Quantified by Two Novel ELISAs. Skjøl-Årtil H, et al; PLoS One. 21 de junio de 2013; 8(6): e60936.

Los péptidos derivados de elastina adicionales que interactúan con ERC y tienen actividad biológica se discuten ampliamente en:

- Degradation of tropoelastin by matrix metalloproteinases--cleavage site specificities and release of matrikines. Heinz A, et al; FEBS J. Abril de 2010; 277(8): 1939-56

- 50 Resumen 2. Péptidos que no son de elastina que tienen un motivo GxxP y están asociados con enfermedades vasculares.

Péptido C con porción media de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG)

Evidencia de que el péptido C se localiza en lesiones ateroscleróticas humanas, induce la quimiotaxis de macrófagos y la angiogénesis, de que el péptido C puede causar aterosclerosis y de que los niveles en suero del péptido C se asocian con mortalidad general, cardiovascular y por diabetes. Los productos de degradación típicos del péptido C son la SEQ ID NO: 145 (VELGGPGAGSLQP), la SEQ ID NO: 146 (LGGPGAGSLQP) y la SEQ ID NO: 147 (LGGPGAGS). Nota: Ninguno de los siguientes autores reconoce el motivo GxxP en el péptido C.

- C-peptide colocalizes with macrophages in early arteriosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocyte chemotaxis in vitro. Marx N, et al; Arterioscler Thromb Vasc Biol. Marzo de 2004; 24(3): 540-5.

- Proinsulin C-peptide prevents impaired wound healing by activating angiogenesis in diabetes. Lim YC, et al; J Invest Dermatol. Enero de 2015; 135(1): 269-78.

- C-peptide promotes lesion development in a mouse model of arteriosclerosis. Vasic D, et al; J Cell Mol Med. Abril de 2012; 16(4): 927-35.

- Fasting serum C-peptide levels predict cardiovascular and overall death in nondiabetic adults. Patel N, et al; J Am Heart Assoc. Diciembre de 2012; 1(6): e003152.

- C-peptide levels are associated with mortality and cardiovascular mortality in patients undergoing angiography: the LURIC study. Marx N, et al; Diabetes Care. Marzo de 2013; 36(3): 708-14.

- Serum C-peptide levels and risk of death among adults without diabetes mellitus. Min JY, Min KB. CMAJ. 11 de junio de 2013; 185(9): E402-8.

- Serum C-peptide levels as an independent predictor of diabetes mellitus mortality in non-diabetic individuals. Min JY, Min KB. Eur J Epidemiol. Septiembre de 2013; 28(9): 771-4.

Galectina-3 con "tramo similar al colágeno" en el extremo terminal N de la SEQ ID NO: 148 (AGAGGYPGASYPGAYPGQAPPGA YPGQAPPGAYPGAPGAYPGAPAGVYPGPPSG)

Evidencia de que los niveles en plasma de galectina-3 se asocian con insuficiencia cardíaca. Nota: Ninguno de los siguientes autores reconoce el motivo GxxP en galectina-3.

- Galectin-3, a novel marker of macrophage activity, predicts outcome in patients with stable chronic heart failure. Van der Lok, D, et al; J Am Coll Cardiol 2007 49Suppl. A 98A[Abstract]

- Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. De Boer RA, et al; Ann Med. 2011 Feb; 43(1): 60-8.

Fibrilina-1 con el motivo de la SEQ ID NO: 149 (EGFEPG)

Evidencia de que la interacción de la SEQ ID NO: 149 (EGFEPG) con ERC participa en la quimiotaxis de macrófagos.

- Induction of macrophage chemotaxis by aortic extracts of the mgR Marfan mouse model and a GxxPG-containing fibrillin-1 fragment. Guo G, et al; Circulation 2006; 114:1855 -1862.

Laminina con el motivo de la SEQ ID NO: 137 (LGTIPG)

Evidencia de que la laminina interactúa a través del motivo de la SEQ ID NO: 137 (LGTIPG) con ERC e induce la quimiotaxis de fibroblastos y células tumorales.

- The elastin receptor shows structural and functional similarities to the 67-kDa tumor cell laminin receptor. Mecham RP et al; J Biol Chem. Octubre 5 de 1989; 264(28): 16652-7.

Tabla 1

Tabla 1: Péptido C, comparaciones y alineaciones entre especies

Especie	Identificador Uniprot	Secuencia de aminoácidos del péptido C
Humana	>sp P01308 57-87	SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)
variante humana	rs121908279	SEQ ID NO: 150 (EAEDLQVGQVEMGGGPGGASLQPLALEGSLQ)
variante humana	rs121908274	SEQ ID NO: 151 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALERSLQ)
chimpancé	>sp P30410 57-87	SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)
Gorila	>sp Q6YK33 57-87	SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)

Especie	Identificador Uniprot	Secuencia de aminoácidos del péptido C
orangután	>sp Q8HXV2 57-87	SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)
Gibón	G1RSS5	SEQ ID NO: 152 (EAEDPQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)
macaco	>sp P30406 57-87	SEQ ID NO: 152 (EAEDPQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)
mono verde	>sp P30407 57-87	SEQ ID NO: 152 (EAEDPQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ)
insulina 2 de ratón	>sp P01326 57-87	SEQ ID NO: 153 (EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVAQQ)
insulina 1 de ratón	>sp P01325 57-85	SEQ ID NO: 167 (EVEDPQVEQLELGGSPGDLQTLALEVARQ)
insulina 2 de rata	>sp P01323 57-87	SEQ ID NO: 154 EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ)
insulina 1 de rata	>sp P01322 57-87	SEQ ID NO: 155 (EVEDPQVPQLELGGGPEAGDLQTLALEVARQ)
Caballo	F6QQU 6	SEQ ID NO: 156 (EAEDPQVGQEEELGGGPGGLGGLQPLALAGPQQ)
Caballo	>sp P01310 33-63	SEQ ID NO: 157 (EAEDPQVGVEVELGGGPGGLGGLQPLALAGPQQ)
Caballo	la mayoría de los caballos	SEQ ID NO: 158 (EAEDPQVGQVELGGGPGGLGGLQPLALAGPQQ)
chinchilla	>sp P01327 33-63	SEQ ID NO: 159 (ELEDPQVGQADPGVVPEAGRLQPLALEMTLQ)
conejiillo de indias	>sp P01329 57-87	SEQ ID NO: 160 (ELEDPQVEQTELMGLGAGGLQPLALEMALQ)
Conejo	>sp P01311 57-87	SEQ ID NO: 161 (EVEELQVGQAEELGGGPGGAGLQPSALELQ)
Bovino	>sp P01317 57-82	SEQ ID NO: 164 (EVEGPQVGALELAGGPGGAGLEGPPQ)
Bovino	variante de Fleckvieh	SEQ ID NO: 165 (EVEGPQVGALELAGGLGAGGLEGGPPQ)
Oveja	>sp P01318 57-82	SEQ ID NO: 164 (EVEGPQVGALELAGGPGGAGLEGPPQ)
Cerdo	>sp P01315 57-85	SEQ ID NO: 166 (EAENPQAGAVELGGGLGGLQALALEGPPQ)
Perro	>sp P01321 57-87	SEQ ID NO: 162 (EVEDLQVRDVELAGAPGEGGLQPLALEGALQ)
Gato	>sp P06306 57-87	SEQ ID NO: 163 (EAEDLQGKDAELGEAPGAGGLQPSALEAPLQ)

Tabla 2

A, proteínas de fibra elástica	
Elastina, P15502, H. sapiens	⁵⁰¹ SEQ ID NO: 170 (GLVPVGGVAPVGGVAPVGGVAPVGGGLAPVGGVAPVGGVAPG) ⁵⁴¹
Fibrilina-1, P35555, Homo sapiens	⁴¹¹ SEQ ID NO: 168 (PVLVPVPPGFPPGPQIPVPRP) ⁴³⁰ - ²¹⁹¹ SEQ ID NO: 169 (TCEE)GFEPGPM) ²²⁰¹
Fibrilina-2, P35556, Homo sapiens	⁴²¹ SEQ ID NO: 171 (LPMGGIPGSAGSRPGGTGGN) ⁴⁴⁰ - ²²³⁷ SEQ ID NO: 172 (NCNE)GFEPGPM) ²²⁴⁷
B, péptidos C	
P01308, Homo sapiens	⁵⁷ SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) ⁸⁷
P30410, P. troglodytes	⁵⁷ SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) ⁸⁷
Q6YK33, G. gorila	⁵⁷ SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) ⁸⁷
Q8HXV2, P. pygmaeus	⁵⁷ SEQ ID NO: 1 (EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ) ⁸⁷
P01325, M. musculus; (Ins-1)	⁵⁷ SEQ ID NO: 167 (EVEDPQVEQLELGGSPGDLQTLALEVARQ) ⁸⁵
P01326, M. musculus; (Ins-2)	⁵⁷ SEQ ID NO: 153 (EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVAQQ) ⁸⁷
P01322, R. norvegicus; (Ins-1)	⁵⁷ SEQ ID NO: 155 (EVEDPQVPQLELGGGPEAGDLQTLALEVARQ) ⁸⁷
P01323, R. norvegicus; (Ins-2)	⁵⁷ SEQ ID NO: 154 (EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ) ⁸⁷

B, péptidos C	
Q62587, P. obesus	⁵⁷ SEQ ID NO: 173 (GVDDPQMPQLEL <u>GGSP</u> GAGDLRALALEVARQ) ⁸⁷
G5C2F2, H. glaber	⁵⁷ SEQ ID NO: 174 (ELENLQVGQAEPGMGLEAGGLQPLAQELALQ) ⁸⁷
P01315, S. scrofa	⁵⁷ SEQ ID NO: 166 (EAENPQAGAVELGGGLGGLQALALEGPPQ) ⁸⁵

Tabla 2. La presencia del motivo de unión al receptor de elastina GxxP (subrayado) en las proteínas de la matriz vascular elastina y fibrilina y en los péptidos C. Los péptidos se muestran con sus respectivos identificadores y los aminoácidos se numeran como se muestra en la base de datos de Uniprot.

5 Identificación adicional de los sitios de acoplamiento de ERC

Se cree que el complejo receptor de elastina (ERC) causa la enfermedad vascular humana al unirse a ligandos peptídicos en exceso derivados de la proteólisis de la matriz extracelular (ECM) después del envejecimiento o el tabaquismo. Ahora se identifican nuevos ligandos de ERC, en particular en biomarcadores bien conocidos del péptido C de enfermedad vascular (inducido con insulina por niveles altos de glucosa en sangre) y NTproBNP (inducido en estrés de cardiomiocitos). Se propone A) investigar la acumulación de ligandos de ERC como etiología central de la enfermedad vascular humana, B) detectar tempranamente el riesgo de enfermedad vascular mediante la prueba de ligandos de ERC que surgen de los riesgos acumulados por la dieta, el estilo de vida y el envejecimiento, que pueden resultar en enfermedades vasculares humanas.

Antecedentes. ERC es un complejo de proteína de unión a elastina (EBP), proteína protectora/catepsina A y neuraminidasa-1, que se encuentran en leucocitos, fibroblastos y células de músculo liso. Los ligandos de ERC confirman los motivos de unión xGxxPG o xxGxxPG (siendo G glicina, P prolina, x cualquier aminoácido), o xGxxPx si se adapta a un giro beta de tipo VIII. El ligando de ERC prototipo de la SEQ ID NO: 41 (VGAVPG) y otros, tales como la SEQ ID NO: 197 (YGYGPG), la SEQ ID NO: 198 (YGARPG), la SEQ ID NO: 199 (FGAVPG), se derivan por proteólisis de áreas repetidas en elastina. Otras son la SEQ ID NO: 149 (EGFEPG) (fibrilina) y la SEQ ID NO: 137 (LGTIPG) (laminina). EBP se une por separado a los galactósidos. La unión del ligando de ERC a EBP es antagonizada por el péptido V14. Los niveles en circulación de ligandos de ERC, generados a partir de la proteólisis de elastina en el envejecimiento o por tabaquismo, se han asociado con aterosclerosis, rigidez arterial, aneurismas aórticos abdominales e infarto de miocardio en humanos, proporcionando una amplia base para explorar el diagnóstico temprano, la prevención y el tratamiento de enfermedades vasculares mediadas por ERC. Esta disponible un compuesto modelo *in silico* para acoplar ligandos de ERC en EBP para análisis estructurales y desarrollo de medicamentos candidatos. *In vitro*, la relación de la función del ligando de ERC/estructura de EBP puede estudiarse en células humanas probando la quimiotaxis de leucocitos y la proliferación de células de músculo liso. Los ligandos de ERC inducen aterosclerosis y resistencia a la insulina en ratones, lo que permite el estudio *in vivo* de la enfermedad vascular mediada por ERC.

30 Identificación de motivos de ligando de ERC derivados por proteólisis de proteínas no ECM.

– Un primer hallazgo es el péptido C, un péptido derivado de la escisión de la prohormona convertasa (PC) del gen de la preproinsulina y excretado en cantidades equimolares con la insulina. El péptido C porta el motivo del ligando de ERC de la SEQ ID NO: 34 (LGGGPG). Ido et al., describen cómo los fragmentos del péptido C con un motivo central de la SEQ ID NO: 8 (GGGPGAG) mitigan la disfunción vascular inducida por glucosa en ratas pero no reconocen el motivo del ligando de ERC. El péptido C se ha encontrado aterogénico en ratones y un marcador independiente de enfermedad vascular humana. Por lo tanto, encontrar un ligando putativo de ERC de la SEQ ID NO: 34 (LGGGPG) en el péptido C vincula altamente la enfermedad vascular mediada por ERC con niveles elevados de péptido C en circulación. Sorprendentemente, proporciona una etiología común de enfermedad vascular después de fumar, así como después de dietas ricas en glucosa o almidón, donde ambas etiologías están relacionadas causalmente con ligandos circulantes de ERC.

– Un segundo hallazgo es galectina-3, que tiene un dominio del extremo terminal N, susceptible a proteólisis, con motivos repetidos putativos del ligando de ERC de la SEQ ID NO: 44 (PGAYPG). La galectina-3 es un marcador independiente de la enfermedad vascular humana, así como de la obesidad que subyace a la enfermedad vascular. Como galectina-3 y EBP se unen a galactósidos y son causales de resistencia a la insulina en ratones, se sugiere una segunda relación de galectina-3 con EBP junto a la interacción putativa del receptor con el ligando de ERC.

– Un tercer hallazgo es el motivo de péptido del ligando de ERC de la SEQ ID NO: 45 (QGVLP) en el bucle 2 de la gonadotropina coriónica beta (beta-hCG), expresada durante el embarazo, cuyo bucle es cortado por proteólisis de la beta-hCG e implicada en la inmunomodulación y la angiogénesis.

– Se acoplaron la SEQ ID NO: 34 (LGGGPG), la SEQ ID NO: 44 (PGAYPG) y la SEQ ID NO: 45 (QGVLP) recientemente encontradas, y el prototipo de la SEQ ID NO: 41 (VGAVPG), en el modelo *in silico* de EBP. Todas se ajustan a este modelo compuesto. También, los resultados preliminares *in vitro* muestran la inhibición de la bioactividad del péptido C por el péptido V14 antagonista de ERC.

- Luego se realizó una búsqueda adicional de proteínas con motivos xGxxPG o xxGxPG estrechamente flanqueados por sitios de escisión de PC, para identificar ligandos de ERC en fragmentos de rf de elementos modelo reguladores que pueden derivarse de proproteínas. Se encontraron la SEQ ID NO: 200 (GVGAPG), la SEQ ID NO: 186 (PLGSPG), la SEQ ID NO: 201 (DGAKPG), la SEQ ID NO: 202 (QGMLPG) y la SEQ ID NO: 196 (AGGAPG) en la procalcitonina (PCT), propéptido natriurético cerebral del extremo terminal N (NTproBNP), proopiomelanocortina (POMC), colágeno 6A3 (COL6A3) y pirina, respectivamente. PCT y NTproBNP se correlacionan cada uno con insuficiencia cardíaca. POMC se relaciona con la regulación del comportamiento alimentario y COL6A3 se relaciona con la función de los adipocitos en la obesidad y la resistencia a la insulina. La pirina se relaciona con la inmunidad innata.

Tabla 3. Biomarcadores de enfermedad vascular que portan el motivo de unión al receptor de elastina

Tabla 3 Biomarcadores de enfermedad vascular que portan el motivo de unión al receptor de elastina	nombre	relevante en el hexapéptido <i>in silico</i> que se ajusta en EBP
Múltiples ocurrencias del motivo de acoplamiento		
SEQ ID NO: 216 (VGVPAGVGVPAGVGVPAGVGLAPGVGVAPGVGVAPGVGVAPG)	Elastina	SEQ ID NO: 41 (VGVPAG) +
SEQ ID NO: 203 (FGLVPGVGVA)		SEQ ID NO: 214 (FGLVPG)
SEQ ID NO: 144 (GVAPGIGPGG)	Elastina después de MMP9/12	SEQ ID NO: 215 (PGIGPG)
SEQ ID NO: 205 (PPGAYPGQAPPGAYPGAPGAYPGAPAG)	galectina-3	SEQ ID NO: 44 (PGAYPG)+
Ocurrencia única del motivo de acoplamiento		
SEQ ID NO: 206 (TCEEGFEPGP)	Fibrilina-1	SEQ ID NO:149 (EGFEPG)
SEQ ID NO: 207 (NPLGTIPGGN)		
Ocurrencia única del péptido del elemento modelo regulador del motivo de acoplamiento		
SEQ ID NO: 208 (RREAEDLQVGQVELGGPGAGSLQPLALEGSLQKR)	Laminina beta-1 péptido C de proinsulina	SEQ ID NO:137 (LGTIPG)
SEQ ID NO: 209 (RVLQGVLPALPQVVCNYR)	Bucle 2 de beta-hCG	SEQ ID NO: 34 (LGGPG)+
SEQ ID NO: 210 (KRCGNLSTCMLGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAPGKKR)		SEQ ID NO: 45 (QGVLP)
SEQ ID NO: 211 (RSHPLGGSPGSASDLETSGEQEQR)	Procalcitonina	SEQ ID NO: 200 (GVGAPG)
SEQ ID NO: 212 (KREDVSAGEDCGPLPEGGPEPRSDGAKPGPREGKR)	NT-proBNP	SEQ ID NO: 186 (PLGSPG)
SEQ ID NO: 213 (RAAPLQGMLPGLLAPLR)	Pro-opiomelanocortina	SEQ ID NO: 201 (DGAKPG)
SEQ ID NO: 192 (RRNASSAGRLQGLAGGAPGQKECR)	Colágeno 6A3	SEQ ID NO: 202 (QGMLPG)
	Pirina	SEQ ID NO: 196 (AGGAPG)

Se encontró que tres biomarcadores circulantes bien conocidos de enfermedad vascular, el péptido C, el péptido natriurético de tipo pro-B en el terminal amino (NT-proBNP) y la galectina-3, entre otros, comparten un sitio de acoplamiento poco conocido con péptidos circulante derivados de elastina (EDP). A través de este sitio de acoplamiento, EDP activa el complejo receptor de elastina (ERC) que se expresa en las células de todo el sistema arterial humano. ERC contribuye a la degradación de elastina y la remodelación de la pared arterial. La activación experimental de ERC por EDP induce resistencia a la insulina y aterosclerosis en ratones. El acoplamiento excesivo de EDP/ERC provoca la quimiotaxis de los leucocitos humanos y la proliferación de células del músculo liso humano (SMC) y se asocia con pérdida de elasticidad arterial, aterosclerosis, aumento de la rigidez arterial, aneurismas aórticos abdominales e infarto de miocardio en humanos.

Listado de secuencias

<110> Biotempt B.V. Wensvoort Gert

<120> Agonistas y antagonistas de péptidos de la interacción de los péptidos C con el receptor de elastina

ES 2 927 977 T3

<130> 2017.004 WO 1

<150> EP17154889

<151> 2017-02-06

<160> 216

5 <170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 31

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 1

Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gln	Val	Gly	Gln	Val	Glu	Leu	Gly	Gly	Gly	Pro
1				5					10					15	
Gly	Ala	Gly	Ser	Leu	Gln	Pro	Leu	Ala	Leu	Glu	Gly	Ser	Leu	Gln	
			20					25					30		

15

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 2

Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gln	Val	Gly	Gln	Val	Glu	Leu
1				5					10		

25

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

30

Gly	Gly	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly	Ser	Leu	Gln	Pro	Leu	Ala
1				5					10			

35

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Leu	Glu	Gly	Ser	Leu	Gln
1				5	

40

<210> 5

<211> 4

<212> PRT

45

<213> Homo sapiens

<400> 5

Glu	Ala	Glu	Asp
1			

50

<210> 6

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 927 977 T3

<400> 6

Glu Gly Ser Leu Gln
1 5

5 <210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

10 <400> 7

Glu Val Ala Arg Gln
1 5

15 <210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 8

Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly
1 5

25 <210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly
1 5

30 <210> 10
<211> 28
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 10

Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly
1 5 10 15

Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
20 25

40 <210> 11
<211> 27
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 11

Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser
1 5 10 15

Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
20 25

50 <210> 12
<211> 25
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

ES 2 927 977 T3

	Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln
	1 5 10 15
	Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
	20 25
5	<210> 13 <211> 24 <212> PRT <213> Homo sapiens
10	<400> 13
	Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro
	1 5 10 15
	Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
	20
15	<210> 14 <211> 20 <212> PRT <213> Homo sapiens
	<400> 14
	Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu
	1 5 10 15
	Gly Ser Leu Gln
20	20
25	<210> 15 <211> 20 <212> PRT <213> Homo sapiens
	<400> 15
	Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln
	1 5 10 15
	Pro Leu Ala Leu
	20
30	<210> 16 <211> 19 <212> PRT <213> Homo sapiens
35	<400> 16
	Glu Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu
	1 5 10 15
	Gln Pro Leu
40	<210> 17 <211> 26 <212> PRT <213> Homo sapiens
45	<400> 17

ES 2 927 977 T3

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu
 20 25
 <210> 18
 <211> 24
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu
 20
 10
 <210> 19
 <211> 22
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 19
 Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser
 1 5 10 15
 Leu Gln Pro Leu Ala Leu
 20
 20
 <210> 20
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 20
 Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Gln Pro Leu
 20
 30
 <210> 21
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 21
 Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser
 1 5 10 15
 Leu Gln Pro Leu
 20
 40
 <210> 22
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 22
 45
 Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu
 1 5 10

ES 2 927 977 T3

<210> 23
 <211> 15
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 23
 Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu
 1 5 10 15
 10 <210> 24
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 24
 Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln
 1 5 10
 20 <210> 25
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 25
 Phe Arg Ala Ala Pro Leu Gln Gly Met Leu Pro Gly Leu Leu Ala Pro
 1 5 10 15
 Leu Arg Thr
 30 <210> 26
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 26
 35 Ala Ala Pro Leu Gln Gly Met Leu Pro Gly Leu Leu Ala Pro Leu
 1 5 10 15
 40 <210> 27
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 27
 Leu Gln Gly Met Leu Pro Gly Leu Leu Ala Pro Leu
 45 1 5 10
 50 <210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 28
 Leu Gln Gly Met Leu Pro Gly Leu Leu Ala
 55 1 5 10
 <210> 29
 <211> 7

ES 2 927 977 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 5 Leu Gln Gly Met Leu Pro Gly
 1 5
 <210> 30
 <211> 8
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 30
 Gly Met Leu Pro Gly Leu Leu Ala
 15 1 5
 <210> 31
 <211> 4
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 31
 Gln Asp Glu Ala
 25 1
 <210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 32
 Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly
 1 5
 35 <210> 33
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 40 <400> 33
 Leu Ala Gly Gly Pro Gly Ala Gly
 1 5
 <210> 34
 45 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 34
 50 Leu Gly Gly Gly Pro Gly
 1 5
 <210> 35
 <211> 6
 55 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 <400> 35

ES 2 927 977 T3

		Leu Ala Gly Gly Pro Gly
		1 5
5	<210> 36 <211> 5 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 36	
10		Leu Gly Gly Gly Pro
		1 5
15	<210> 37 <211> 5 <212> PRT <213> Bos taurus <400> 37	
20		Leu Ala Gly Gly Pro
		1 5
25	<210> 38 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 38	
30		Gly Gly Gly Pro
		1
35	<210> 39 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia Artificial <220> <223> Péptido de secuencia retro <400> 39	
40		Gly Ala Gly Pro
		1
45	<210> 40 <211> 5 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 40	
50		Gly Gly Gly Pro Gly
		1 5
55	<210> 41 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 41	
		Val Gly Val Ala Pro Gly
		1 5

ES 2 927 977 T3

<210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 42
 Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser
 1 5 10
 10 <210> 43
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Péptido inmunomodulador
 <400> 43
 Gln Gly Gln Leu Pro Gly
 20 1 5
 <210> 44
 <211> 6
 <212> PRT
 25 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> seleccionado de galectina-3 humana
 30 <400> 44
 Pro Gly Ala Tyr Pro Gly
 1 5
 35 <210> 45
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 40 <223> seleccionado del bucle 2 de beta-hCG humana
 <400> 45
 Gln Gly Val Leu Pro Ala
 45 1 5
 <210> 46
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 50 <400> 46
 Gly Ala Gly Pro Gly
 1 5
 55 <210> 47
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60 <400> 47

ES 2 927 977 T3

Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala
1 5

5 <210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

10 Gly Gly Pro Gly Ala Gly
1 5

<210> 49
<211> 6
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 49

20 Gly Gly Gly Pro Gly Ala
1 5

<210> 50
<211> 5
<212> PRT
25 <213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Gly Gly Pro Glu
1 5

30 <210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 51

Gly Ala Ile Pro Gly
1 5

40 <210> 52
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

45 Gly Gly Val Pro Gly
1 5

<210> 53
<211> 5
50 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

55 Gly Val Ala Pro Gly
1 5

<210> 54
<211> 14

ES 2 927 977 T3

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 54
 5 Tyr Thr Thr Gly Lys Leu Pro Tyr Gly Tyr Gly Pro Gly Gly
 1 5 10
 <210> 55
 <211> 12
 10 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 55
 Tyr Gly Ala Arg Pro Gly Val Gly Val Gly Ile Pro
 15 1 5 10
 <210> 56
 <211> 9
 20 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 56
 Pro Gly Phe Gly Ala Val Pro Gly Ala
 25 1 5
 <210> 57
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 57
 Gly Val Tyr Pro Gly
 1 5
 35 <210> 58
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 58
 Gly Phe Gly Pro Gly
 1 5
 <210> 59
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 59
 50 Gly Val Leu Pro Gly
 1 5
 <210> 60
 <211> 6
 55 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 60

ES 2 927 977 T3

	Pro Gly Ala Ile Pro Gly
	1 5
5	<210> 61 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 61
10	Pro Gly Ala Val Gly Pro
	1 5
15	<210> 62 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 62
20	Val Gly Ala Met Pro Gly
	1 5
25	<210> 63 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 63
30	Val Gly Ser Leu Pro Gly
	1 5
35	<210> 64 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 64
40	Val Gly Met Ala Pro Gly
	1 5
45	<210> 65 <211> 5 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 65
50	Val Pro Gly Val Gly
	1 5
55	<210> 66 <211> 5 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 66
	Ile Pro Gly Val Gly
	1 5
	<210> 67 <211> 5

ES 2 927 977 T3

	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 67		
5		Val Gly Val Pro Gly	
		1	5
	<210> 68		
	<211> 6		
10	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 68		
		Ala Gly Ala Ile Pro Gly	
15		1	5
	<210> 69		
	<211> 4		
	<212> PRT		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 69		
		Val Pro Gly Val	
25		1	
	<210> 70		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 70		
		Leu Gly Ile Thr Pro Gly	
		1	5
35	<210> 71		
	<211> 4		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 71		
		Gly Asp Asn Pro	
		1	
	<210> 72		
45	<211> 4		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 72		
50		Gly Ala Ile Pro	
		1	
	<210> 73		
	<211> 4		
55	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 73		

ES 2 927 977 T3

		Gly Lys Val Pro
		1
5	<210> 74 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 74	
10		Gly Val Gln Tyr
		1
15	<210> 75 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 75	
20		Gly Val Leu Pro
		1
25	<210> 76 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 76	
30		Gly Val Gly Pro
		1
35	<210> 77 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 77	
40		Gly Phe Gly Pro
		1
45	<210> 78 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 78	
50		Gly Gly Ile Pro
		1
55	<210> 79 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens	
	<400> 79	
		Gly Val Ala Pro
		1
	<210> 80 <211> 4	

ES 2 927 977 T3

	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 80		
5		Gly Ile Gly Pro	
		1	
	<210> 81		
	<211> 5		
10	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 81		
		Gly Gly Ile Pro Pro	
15		1	5
	<210> 82		
	<211> 4		
	<212> PRT		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 82		
		Gly Gln Phe Pro	
25		1	
	<210> 83		
	<211> 4		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 83		
		Gly Leu Ser Pro	
35		1	
	<210> 84		
	<211> 4		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 84		
		Gly Pro Gln Pro	
		1	
	<210> 85		
45	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 85		
50		Gly Gly Pro Gln Pro	
		1	5
	<210> 86		
	<211> 5		
55	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 86		

ES 2 927 977 T3

		Gly Pro Gln Pro Gly
		1 5
5	<210> 87 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 87	
10		Gly Gly Pro Gln Pro Gly
		1 5
15	<210> 88 <211> 4 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 88	
20		Gly Ile Pro Pro
		1
25	<210> 89 <211> 5 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 89	
30		Gly Ile Pro Pro Ala
		1 5
35	<210> 90 <211> 6 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 90	
40		Gly Gly Ile Pro Pro Ala
		1 5
45		
		Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala
		1 5 10 15
		Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly
		20 25 30
		Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro Gly
		35 40 45
		Pro Pro Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Pro Ser
		50 55
50	<210> 92 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens	

ES 2 927 977 T3

	<400> 92		
		Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro	
		1	5
5	<210> 93		
	<211> 9		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
10	<400> 93		
		Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro	
		1	5
15	<210> 94		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 94		
		Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala	
		1	5
25	<210> 95		
	<211> 7		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 95		
30		Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro	
		1	5
35	<210> 96		
	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 96		
40		Gly Ala Tyr Pro Gly	
		1	5
45	<210> 97		
	<211> 9		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 97		
50		Ala Pro Ala Pro Gly Val Tyr Pro Gly	
		1	5
55	<210> 98		
	<211> 5		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 98		
		Gly Ala Tyr Pro Ser	
		1	5

ES 2 927 977 T3

<210> 99
<211> 40
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5
<400> 99

Gln	Thr	Leu	Pro	Gly	Ser	Cys	Gly	Gln	Val	Val	Gly	Ser	Pro	Ser	Ala
1				5				10					15		
Gln	Asp	Glu	Ala	Ser	Pro	Leu	Ser	Glu	Trp	Arg	Ala	Ser	Tyr	Asn	Ser
			20					25					30		
Ala	Gly	Ser	Asn	Ile	Thr	Asp	Ala								
			35				40								

10 <210> 100
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 100

Leu	Pro	Gly	Ser	Cys	Gly	Gln	Val	Val	Gly	Ser	Pro	Ser	Ala	Gln	Asp
1				5				10					15		
Glu	Ala	Ser	Pro	Leu	Ser	Glu	Trp	Arg	Ala	Ser	Tyr	Asn	Ser	Ala	Gly
			20					25					30		

20 <210> 101
<211> 21
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 101

Val	Val	Gly	Ser	Pro	Ser	Ala	Gln	Asp	Glu	Ala	Ser	Pro	Leu	Ser	Glu
1				5				10					15		
Trp	Arg	Ala	Ser	Tyr											
			20												

30 <210> 102
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102

Val	Val	Gly	Ser	Pro	Ser	Ala	Gln	Asp	Glu	Ala	Ser	Pro	Leu	Ser
1				5				10					15	

35 <210> 103
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 103

Pro	Ser	Ala	Gln	Asp	Glu	Ala	Ser	Pro	Leu
1				5				10	

45 <210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50

ES 2 927 977 T3

<400> 104

Ser Pro Ser Ala Gln Asp Glu Ala Ser Pro
1 5 10

5 <210> 105
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 105

Ala Gln Asp Glu Ala Ser
1 5

15 <210> 106
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 106

Pro Ser Ala Gln
1

25 <210> 107
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 107

Ser Ala Gln Asp
1

35

<210>	108
<211>	4
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400> 108

Asp Glu Ala Ser
1

40

<210> 109
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 109

Ser Pro Ser Ala
1

50 <210> 110
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> péptido antagonista

<400> 110

ES 2 927 977 T3

	Val	Val	Gly	Gly	Thr	Glu	Ala	Gln	Arg	Asn	Ser	Trp	Pro	Leu	Gln
	1				5					10					15
5	<210> 111 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
10	<220> <223> péptido antagonista <400> 111														
	Val	Val	Gly	Gly	Thr	Glu	Ala	Gln	Arg	Asn	Ser	Trp	Pro	Ser	Gln
	1				5					10					15
15	<210> 112 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
20	<220> <223> péptido antagonista <400> 112														
25					Thr	Glu	Ala	Gln	Arg	Asn	Ser	Trp	Pro		
					1				5						
30	<210> 113 <211> 4 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
35	<220> <223> péptido antagonista <400> 113														
40							Ala	Gln	Arg	Asn					
							1								
45	<210> 114 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
	<220> <223> péptido antagonista <400> 114														
50	Ile	Val	Gly	Gly	Arg	Arg	Ala	Arg	Pro	His	Ala	Trp	Pro	Phe	Met
	1				5					10					15
55	<210> 115 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
	<220> <223> péptido antagonista <400> 115														

ES 2 927 977 T3

	Val	Val	Gly	Gly	Glu	Asp	Ala	Lys	Pro	Gly	Gln	Phe	Pro	Trp	Gln
	1				5					10					15
5	<210> 116 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
10	<220> <223> péptido antagonista <400> 116														
	Val	Val	Gly	Gly	Arg	Val	Ala	Gln	Pro	Asn	Ser	Trp	Pro	Trp	Gln
	1				5					10					15
15	<210> 117 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
20	<220> <223> péptido antagonista <400> 117														
25					Arg	Val	Ala	Gln	Pro	Asn	Ser	Trp			
					1					5					
30	<210> 118 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
	<220> <223> péptido antagonista														
35	<400> 118														
	Val	Val	Gly	Gly	Ala	Glu	Ala	Arg	Arg	Asn	Ser	Trp	Pro	Ser	Gln
	1				5					10					15
40	<210> 119 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
45	<220> <223> péptido antagonista <400> 119														
50					Ala	Glu	Ala	Arg	Arg	Asn	Ser	Trp			
					1					5					
55	<210> 120 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
	<220> <223> péptido antagonista <400> 120														

ES 2 927 977 T3

	Val	Val	Gly	Gly	Gln	Glu	Ala	Thr	Pro	Asn	Thr	Trp	Pro	Trp	Gln
	1				5					10					15
5	<210> 121 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
10	<220> <223> péptido antagonista <400> 121														
					Gln	Glu	Ala	Thr	Pro	Asn	Thr	Trp			
					1				5						
15	<210> 122 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
20	<220> <223> péptido antagonista <400> 122														
	Val	Val	Gly	Gly	Glu	Glu	Ala	Arg	Pro	Asn	Ser	Trp	Pro	Trp	Gln
25	1				5					10					15
30	<210> 123 <211> 8 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
	<220> <223> péptido antagonista														
35	<400> 123														
					Glu	Glu	Ala	Arg	Pro	Asn	Ser	Trp			
					1				5						
40	<210> 124 <211> 15 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
45	<220> <223> antagonista <400> 124														
	Val	Val	Gly	Gly	Thr	Glu	Ala	Gly	Arg	Asn	Ser	Trp	Pro	Ser	Gln
50	1				5					10					15
55	<210> 125 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia Artificial														
	<220> <223> antagonista <400> 125														

ES 2 927 977 T3

Thr Glu Ala Gly Arg Asn Ser Trp Pro
1 5

5 <210> 126
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> péptido antagonista
<400> 126

Glu Asp Tyr Arg Pro Ser Gln Gln Asp Glu Cys Ser Pro Arg Glu
1 5 10 15

15 <210> 127
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> péptido antagonista

<400> 127

Pro Ser Gln Gln Asp Glu Cys Ser Pro
1 5

30 <210> 128
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> péptido antagonista

35 <400> 128

Gln Gln Asp Glu Cys
1 5

40 <210> 129
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 129

Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
1 5

50 <210> 130
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 130

Ala Gly Gly Pro
1

<210> 131
<211> 14
<212> PRT

ES 2 927 977 T3

<213> Homo sapiens
 <400> 131
 Val Val Gly Ser Pro Ser Ala Gln Asp Glu Ala Ser Pro Leu
 1 5 10
 5
 <210> 132
 <400> 132
 10 000
 <210> 133
 <211> 7
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <400> 133
 Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly
 1 5
 20
 <210> 134
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 25
 <400> 134
 Leu Gly Gly Gly Pro Glu
 1 5
 30
 <210> 135
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa
 35 <400> 135
 Leu Gly Gly Gly Leu Gly
 1 5
 40
 <210> 136
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 45 <223> péptido C retro
 <400> 136
 Gln Leu Ser Gly Glu Leu Ala Leu Pro Gln Leu Ser Gly Ala Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Leu Glu Val Gln Gly Val Gln Leu Asp Glu Ala Glu
 20 25 30
 50
 <210> 137
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 137

ES 2 927 977 T3

		Leu Gly Thr Ile Pro Gly
		1 5
5	<210> 138	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> péptido revuelto	
	<400> 138	
		Gly Val Ala Pro Gly Val
		1 5
15	<210> 139	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
20	<220>	
	<223> péptido revuelto	
	<400> 139	
25		Val Ala Pro Gly Val Gly
		1 5
	<210> 140	
	<211> 6	
30	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> péptido revuelto	
35	<400> 140	
		Ala Pro Gly Val Gly Val
		1 5
40	<210> 141	
	<211> 6	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
45	<220>	
	<223> péptido revuelto	
	<400> 141	
		Pro Gly Val Gly Val Ala
		1 5
50	<210> 142	
	<211> 6	
	<212> PRT	
55	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> péptido revuelto	
60	<400> 142	

ES 2 927 977 T3

		Gly Val Gly Val Ala Pro	
		1	5
5		<210> 143	
		<211> 10	
		<212> PRT	
		<213> Homo sapiens	
		<400> 143	
10		Val Pro Gly Val Gly Ile Ser Pro Glu Ala	
		1	5 10
		<210> 144	
		<211> 10	
		<212> PRT	
15		<213> Homo sapiens	
		<400> 144	
20		Gly Val Ala Pro Gly Ile Gly Pro Gly Gly	
		1	5 10
		<210> 145	
		<211> 14	
		<212> PRT	
		<213> Homo sapiens	
25		<400> 145	
30		Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro	
		1	5 10
		<210> 146	
		<211> 12	
		<212> PRT	
		<213> Homo sapiens	
35		<400> 146	
40		Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro	
		1	5 10
		<210> 147	
		<211> 9	
		<212> PRT	
		<213> Homo sapiens	
		<400> 147	
45		Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser	
		1	5
		<210> 148	
		<211> 55	
		<212> PRT	
		<213> Homo sapiens	
50		<400> 148	

ES 2 927 977 T3

Ala Gly Ala Gly Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Tyr Pro Gly Ala Tyr Pro
 1 5 10 15
 Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala
 20 25 30
 Tyr Pro Gly Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly Val
 35 40 45
 Tyr Pro Gly Pro Pro Ser Gly
 50 55

<210> 149
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 149

Glu Gly Phe Glu Pro Gly
 1 5

<210> 150
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 150

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Met Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
 20 25 30

<210> 151
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 151

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Arg Ser Leu Gln
 20 25 30

<210> 152
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Hylobatidae

<400> 152

Glu Ala Glu Asp Pro Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln
 20 25 30

<210> 153
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 153

ES 2 927 977 T3

Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Ala Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Gln Gln
 20 25 30

<210> 154
 <211> 31
 5 <212> PRT
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 154

Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Ala Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln
 20 25 30

<210> 155
 <211> 31
 <212> PRT
 15 <213> Rattus norvegicus
 <400> 155

Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Pro Gln Leu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Glu Ala Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln
 20 25 30

<210> 156
 <211> 31
 <212> PRT
 20 <213> Equus caballus
 25 <400> 156

Glu Ala Glu Asp Pro Gln Val Gly Gln Glu Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Ala Gly Pro Gln Gln
 20 25 30

<210> 157
 <211> 31
 <212> PRT
 30 <213> Equus caballus
 35 <400> 157

Glu Ala Glu Asp Pro Gln Val Gly Glu Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Ala Gly Pro Gln Gln
 20 25 30

<210> 158
 <211> 31
 40 <212> PRT
 <213> Equus caballus
 <400> 158

ES 2 927 977 T3

Glu Ala Glu Asp Pro Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Ala Gly Pro Gln Gln
 20 25 30

<210> 159
 <211> 31
 5 <212> PRT
 <213> *Chinchilla lanigera*
 <400> 159

Glu Leu Glu Asp Pro Gln Val Gly Gln Ala Asp Pro Gly Val Val Pro
 1 5 10 15
 Glu Ala Gly Arg Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Met Thr Leu Gln
 10 20 25 30

<210> 160
 <211> 31
 <212> PRT
 15 <213> *Cavia porcellus*
 <400> 160

Glu Leu Glu Asp Pro Gln Val Glu Gln Thr Glu Leu Gly Met Gly Leu
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Met Ala Leu Gln
 20 25 30

<210> 161
 <211> 31
 <212> PRT
 25 <213> *Oryctolagus cuniculus*
 <400> 161

Glu Val Glu Glu Leu Gln Val Gly Gln Ala Glu Leu Gly Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Gly Leu Gln Pro Ser Ala Leu Glu Leu Ala Leu Gln
 20 25 30

<210> 162
 <211> 31
 <212> PRT
 30 <213> *Canis lupus*
 <400> 162

Glu Val Glu Asp Leu Gln Val Arg Asp Val Glu Leu Ala Gly Ala Pro
 1 5 10 15
 Gly Glu Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ala Leu Gln
 20 25 30

<210> 163
 <211> 31
 40 <212> PRT
 <213> *Felis catus*
 <400> 163

ES 2 927 977 T3

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Gly Lys Asp Ala Glu Leu Gly Glu Ala Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Gly Leu Gln Pro Ser Ala Leu Glu Ala Pro Leu Gln
 20 25 30
 <210> 164
 <211> 26
 5 <212> PRT
 <213> Bos taurus
 <400> 164
 Glu Val Glu Gly Pro Gln Val Gly Ala Leu Glu Leu Ala Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Gly Leu Glu Gly Pro Pro Gln
 20 25
 10 <210> 165
 <211> 26
 <212> PRT
 15 <213> Bos taurus
 <220>
 <223> Variante de Fleckvieh
 20 <400> 165
 Glu Val Glu Gly Pro Gln Val Gly Ala Leu Glu Leu Ala Gly Gly Leu
 1 5 10 15
 Gly Ala Gly Gly Leu Glu Gly Pro Pro Gln
 20 25
 <210> 166
 25 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Sus scrofa
 <400> 166
 30 Glu Ala Glu Asn Pro Gln Ala Gly Ala Val Glu Leu Gly Gly Gly Leu
 1 5 10 15
 Gly Gly Leu Gln Ala Leu Ala Leu Glu Gly Pro Pro Gln
 20 25
 <210> 167
 <211> 29
 35 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 167
 Glu Val Glu Asp Pro Gln Val Glu Gln Leu Glu Leu Gly Gly Ser Pro
 1 5 10 15
 Gly Asp Leu Gln Thr Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln
 20 25
 40 <210> 168
 <211> 20
 <212> PRT
 45 <213> Homo sapiens
 <400> 168

ES 2 927 977 T3

Pro Val Leu Pro Val Pro Pro Gly Phe Pro Pro Gly Pro Gln Ile Pro
1 5 10 15
Val Pro Arg Pro
20

5 <210> 169
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 169
Thr Cys Glu Glu Gly Phe Glu Pro Gly Pro Met
10 1 5 10

<210> 170
<211> 41
<212> PRT
15 <213> Homo sapiens

<400> 170
Gly Leu Val Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly Val Gly Val Ala Pro
1 5 10 15
Gly Val Gly Val Ala Pro Gly Val Gly Leu Ala Pro Gly Val Gly Val
20 25 30
Ala Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly
35 40

20 <210> 171
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 171
Leu Pro Met Gly Gly Ile Pro Gly Ser Ala Gly Ser Arg Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Gly Gly Asn
20

30 <210> 172
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 172
Asn Cys Asn Glu Gly Phe Glu Pro Gly Pro Met
1 5 10

40 <210> 173
<211> 31
<212> PRT
<213> Psammomys obesus

<400> 173
45 Gly Val Asp Asp Pro Gln Met Pro Gln Leu Glu Leu Gly Gly Ser Pro
1 5 10 15
Gly Ala Gly Asp Leu Arg Ala Leu Ala Leu Glu Val Ala Arg Gln
20 25 30

ES 2 927 977 T3

<210> 174
 <211> 31
 <212> PRT
 5 <213> Heterocephalus glaber
 <400> 174
 Glu Leu Glu Asn Leu Gln Val Gly Gln Ala Glu Pro Gly Met Gly Leu
 1 5 10 15
 Glu Ala Gly Gly Leu Gln Pro Leu Ala Gln Glu Leu Ala Leu Gln
 20 25 30
 10 <210> 175
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 175
 Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln
 1 5 10 15
 Pro Leu
 20 <210> 176
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 176
 25 Glu Leu Gly Gly Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu
 1 5 10
 <210> 177
 <211> 33
 30 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 177
 Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe
 1 5 10 15
 Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro
 20 25 30
 35 Gly
 <210> 178
 <211> 26
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens
 <400> 178
 Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro
 1 5 10 15
 Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro Gly
 20 25
 45 <210> 179
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

ES 2 927 977 T3

<400> 179

Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala
1 5 10 15
Pro Gly

5 <210> 180
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 180
Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro Gly
1 5 10

<210> 181
<211> 8
15 <212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 181

20 Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro Gly
1 5

<210> 182
<211> 21
<212> PRT
25 <213> Homo sapiens

<400> 182

Ser His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser
1 5 10 15
Gly Leu Gln Glu Gln
20

30 <210> 183
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 183

Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser Gly Leu
1 5 10 15
Gln Glu Gln

40 <210> 184
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 184

Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr Ser
1 5 10

50 <210> 185
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 185

ES 2 927 977 T3

Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser
1 5

5 <210> 186
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 186
Pro Leu Gly Ser Pro Gly
1 5

15 <210> 187
<211> 31
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 187
Glu Asp Val Ser Ala Gly Glu Asp Cys Gly Pro Leu Pro Glu Gly Gly
1 5 10 15
Pro Glu Pro Arg Ser Asp Gly Ala Lys Pro Gly Pro Arg Glu Gly
20 25 30

25 <210> 188
<211> 26
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 188
Gly Glu Asp Cys Gly Pro Leu Pro Glu Gly Gly Pro Glu Pro Arg Ser
1 5 10 15
Asp Gly Ala Lys Pro Gly Pro Arg Glu Gly
20 25

30 <210> 189
<211> 21
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 189
Pro Leu Pro Glu Gly Gly Pro Glu Pro Arg Ser Asp Gly Ala Lys Pro
1 5 10 15
Gly Pro Arg Glu Gly
20

40 <210> 190
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45 <400> 190
Pro Leu Pro Glu Gly Gly Pro Glu Pro Arg Ser Asp Gly Ala Lys Pro
1 5 10 15
Gly

<210> 191

ES 2 927 977 T3

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 191
 Ser Asp Gly Ala Lys Pro Gly
 1 5
 <210> 192
 10 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 192
 15 Arg Arg Asn Ala Ser Ser Ala Gly Arg Leu Gln Gly Leu Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Gly Gln Lys Glu Cys Arg
 20
 <210> 193
 20 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 193
 25 Arg Leu Gln Gly Leu Ala Gly Gly Ala Pro Gly Gln Lys Glu Cys Arg
 1 5 10 15
 <210> 194
 30 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 194
 Arg Arg Asn Ala Ser Ser Ala Gly Arg Leu Gln Gly Leu Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Pro Gly Gln
 20
 35 <210> 195
 <211> 11
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens
 <400> 195
 Leu Gln Gly Leu Ala Gly Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10
 45 <210> 196
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 196
 Ala Gly Gly Ala Pro Gly
 1 5
 55 <210> 197

ES 2 927 977 T3

	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 197		
		Tyr Gly Tyr Gly Pro Gly	
		1	5
10	<210> 198		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 198		
		Tyr Gly Ala Arg Pro Gly	
		1	5
20	<210> 199		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 199		
25		Phe Gly Ala Val Pro Gly	
		1	5
30	<210> 200		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 200		
35		Gly Val Gly Ala Pro Gly	
		1	5
40	<210> 201		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 201		
45		Asp Gly Ala Lys Pro Gly	
		1	5
50	<210> 202		
	<211> 6		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 202		
55		Gln Gly Met Leu Pro Gly	
		1	5
	<210> 203		
	<211> 10		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 203		

ES 2 927 977 T3

		Phe Gly Leu Val Pro Gly Val Gly Val Ala
		1 5 10
5	<210> 204	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 204	
10		Gly Val Ala Pro Gly Ile Gly Pro Gly Gly
		1 5 10
	<210> 205	
	<211> 28	
	<212> PRT	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 205	
		Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Pro Gly Ala Tyr Pro Gly
		1 5 10 15
		Ala Pro Gly Ala Tyr Pro Gly Ala Pro Ala Pro Gly
		20 25
20	<210> 206	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 206	
		Thr Cys Glu Glu Gly Phe Glu Pro Gly Pro
		1 5 10
30	<210> 207	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 207	
		Asn Pro Leu Gly Thr Ile Pro Gly Gly Asn
		1 5 10
40	<210> 208	
	<211> 35	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 208	
45		Arg Arg Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly
		1 5 10 15
		Gly Pro Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu
		20 25 30
		Gln Lys Arg
		35
50	<210> 209	
	<211> 18	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	

ES 2 927 977 T3

<400> 209

Arg Val Leu Gln Gly Val Leu Pro Ala Leu Pro Gln Val Val Cys Asn
1 5 10 15
Tyr Arg

5

<210> 210

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 210

Lys Arg Cys Gly Asn Leu Ser Thr Cys Met Leu Gly Thr Tyr Thr Gln
1 5 10 15
Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln Thr Ala Ile Gly Val Gly
20 25 30
Ala Pro Gly Lys Lys Arg
35

15

<210> 211

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 211

Arg Ser His Pro Leu Gly Ser Pro Gly Ser Ala Ser Asp Leu Glu Thr
1 5 10 15
Ser Gly Leu Gln Glu Gln Arg
20

25

<210> 212

<211> 35

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 212

30

Lys Arg Glu Asp Val Ser Ala Gly Glu Asp Cys Gly Pro Leu Pro Glu
1 5 10 15
Gly Gly Pro Glu Pro Arg Ser Asp Gly Ala Lys Pro Gly Pro Arg Glu
20 25 30
Gly Lys Arg
35

35

<210> 213

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Arg Ala Ala Pro Leu Gln Gly Met Leu Pro Gly Leu Leu Ala Pro Leu
1 5 10 15
Arg

40

<210> 214

<211> 6

<212> PRT

45

<213> Homo sapiens

ES 2 927 977 T3

<400> 214

Phe Gly Leu Val Pro Gly
1 5

5

<210> 215
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 215

Pro Gly Ile Gly Pro Gly
1 5

15

<210> 216
<211> 42
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 216

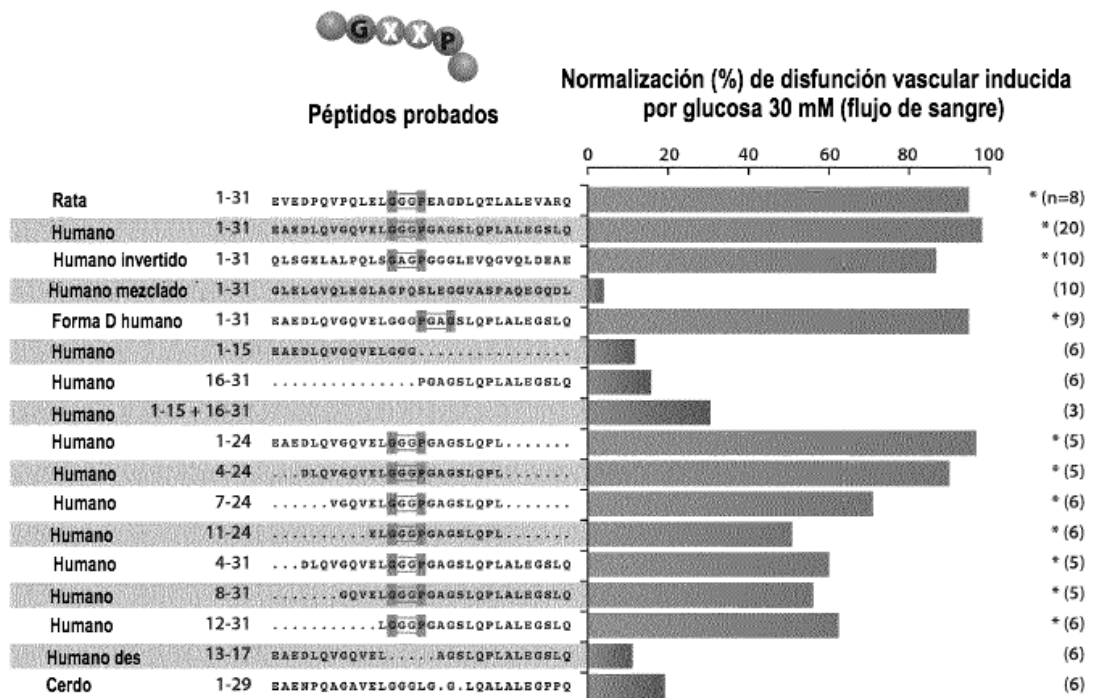
Val Gly Val Ala Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly Val Gly Val Ala
1 5 10 15
Pro Gly Val Gly Leu Ala Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly Val Gly
20 25 30
Val Ala Pro Gly Val Gly Val Ala Pro Gly
35 40

20

REIVINDICACIONES

1. Un péptido aislado o sintético que consta de 5-30 aminoácidos para uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias humanas que ha sido provisto con al menos un motivo de péptido capaz de modular la unión del péptido C humano a un receptor de elastina humana, donde el péptido tiene al menos un motivo de unión al receptor de elastina humana GxxPG y tiene al menos un aminoácido Q, donde G representa el código de una letra para el aminoácido glicina, P para el aminoácido prolina, Q para el aminoácido glutamina y x para cualquier aminoácido.
2. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que consta de 5-20 aminoácidos.
3. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que consta de 5-15 aminoácidos.
4. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que consta de 5 a 12 aminoácidos.
5. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que consta en 5-9 aminoácidos.
6. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que consta de cualquiera de las SEQ ID NOs: 10, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93, y 94.
7. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 6, que consta de cualquiera de las SEQ ID NOs: 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93 y 94.
8. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que es un péptido variante retro inverso compuesto de D-aminoácidos ensamblados en un orden inverso al de los péptidos de secuencia L originales enumerados bajo las SEQ ID NOs: 10, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 14, 15, 16, 21, 25, 175, 3, 22, 23, 26, 176, 24, 27, 28, 29, 43, 93, y 94.
9. El péptido para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el motivo GxxPG se repite al menos dos veces, preferiblemente tres veces, opcionalmente donde dichas repeticiones están separadas por un enlazador que comprende uno o más aminoácidos.

Figura 1



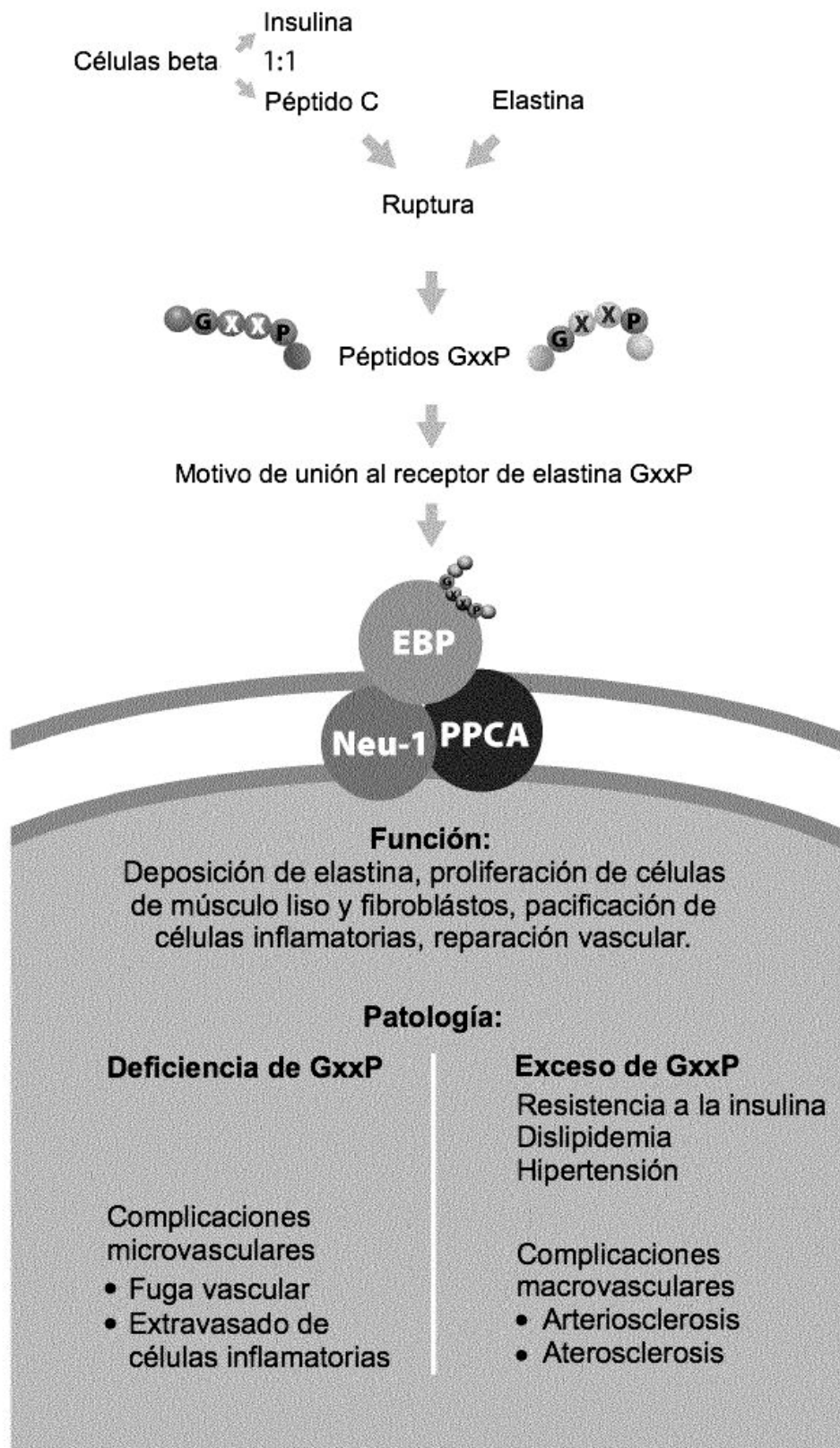


Figura 3

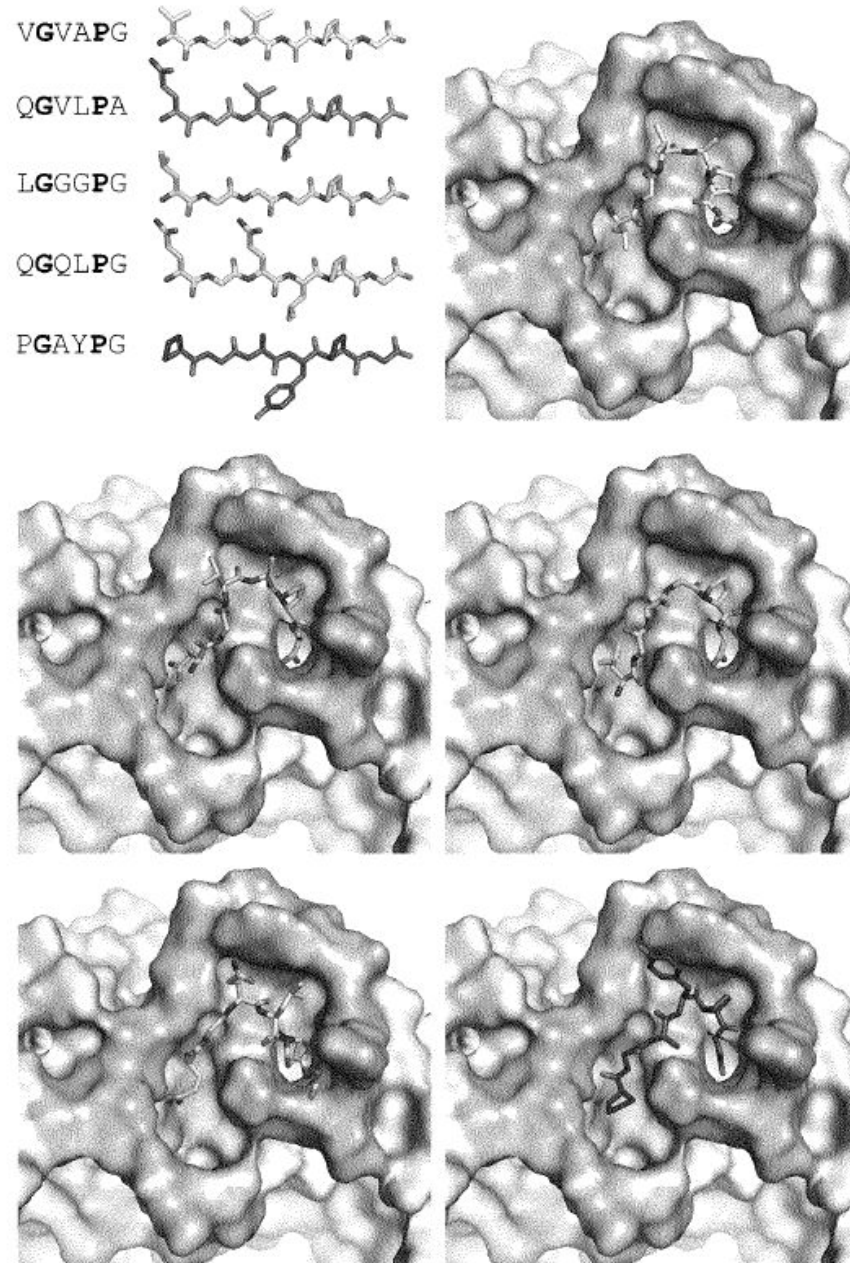


Figura 5

