



**PROTOCOLO DE EVALUACION DE LA FICOCIANINA (E25) EN PACIENTES
CON ESCLEROSIS MULTIPLE RECAIDA REMISION EN TRATAMIENTO CON
TERAPIAS MODIFICADORAS DE LA ENFERMEDAD (TME).**

ENSAYO CLINICO FASE I/II

INTRODUCCIÓN

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad desmielinizante, neurodegenerativa, crónica y de posible naturaleza autoinmune del sistema nervioso central (SNC) caracterizada por inflamación y desmielinización¹. A pesar de que su etiopatogenia no está completamente conocida, se sabe que los factores genéticos y ambientales juegan un papel relevante. El estrés oxidativo (EO) y la inflamación son los principales factores responsables de la desmielinización². El desequilibrio entre los elementos pro-oxidantes y antioxidantes hace que el EO active el proceso inflamatorio³.

Existen varias formas clínicas de EM: recurrente-remitente (EMRR), secundaria progresiva (EMSP), y primaria progresiva (EMPP). El 80% de los pacientes con EM tienen la forma EMRR, por tanto, el desarrollo de terapias dirigidas a esta forma clínica es mandatorio⁴.

El tratamiento de la EM se basa en las Terapias Modificadoras de la Enfermedad (TME) fundamentalmente inmunomoduladoras. La línea I de tratamiento incluye interferón (IFN) beta, acetato de glatirámico, dimetil fumarato y teriflunomida, mientras que la línea II incluye Fingolimod (FG), natalizumab (NT) y alemtuzumab⁵. (ver Tabla 1)

Actualmente se investigan nuevas estrategias terapéuticas debido a que la efectividad de las TME aún es limitada. El efecto benéfico sobre los procesos inflamatorios de las TME es insuficiente y la participación del EO en la patogenia de la EM ha sido recientemente resaltada⁶. Los biomarcadores de inflamación y EO pueden utilizarse para evaluar el pronóstico de la exacerbación o la respuesta al tratamiento. La posibilidad de terapias combinadas con las actuales TME podrían ser más efectivas⁷. En este sentido, la combinación de una TME con un suplemento nutricional como la C-Ficocianina (CFC) o BROMEL (ver Tabla 2) sería de gran utilidad.

Se ha evidenciado una asociación entre los hábitos alimentarios y el estilo de vida individual con la neurodegeneración, proponiendo así el papel de los nutraceuticos como tratamiento profiláctico en las enfermedades neurológicas⁸.

La CFC es un pigmento fotosintético presente en cianobacterias como la *Spirulina platensis*^{9,10} que desde hace varios años se ha utilizado como compuesto bioactivo con diversos beneficios para la salud. Se ha descrito que la CFC posee propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas y se ha demostrado su efecto beneficioso también en modelos animales de esclerosis múltiple^{11, 12, 13} y de isquemia cerebral^{14, 15}. Entre sus propiedades más notables está

el efecto remielinizante demostrado en modelos experimentales de encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE)¹⁶, lo cual avala también su utilización clínica.

TABLA 1

Fármacos	Nombre comercial (s)	Forma de EM	Mecanismo de Acción	Efectos adversos
Primera Línea de Intervención				
Interferón-β1a	Avonex, CinnoVex, ReciGen	EMRR	Inmunorregulador	Reacciones en el sitio de inyección, síntomas gripales, alteraciones hepáticas, leucopenia, depresión, enfermedad tiroidea
Interferón-β 1a	Rebif			
Peginterferón β-1a	Plegridy			
Interferón-β 1b	Betaseron			
Acetato de glatirámero	Copaxone	EMRR	Inmunorregulador	Infecciones, cefalea, náusea
Terifluonamida	Aubagio	EMRR	Inhibidor de la dihidroorotato deshidrogenasa	Infecciones respiratorias y urinarias, diarrea, náuseas
Fumarato de dimetilo	BG12, Tecfidera	EMRR	Estimula el sistema de defensa celular ante el estrés inflamatorio y oxidativo.	Síntomas gastrointestinales, eritema, infecciones del tracto respiratorio superior
Segunda Línea de Intervención				
Fingolimod	Gilenya	EMRR	Antagonista del receptor tipo 1 de la esfingosina-1fosfato	Riesgo de infecciones y trastornos cardíacos
Natalizumab	Tysabri	EMRR	Anticuerpo monoclonal anti- integrina de leucocitos	Fatiga, reacciones alérgicas, dermatitis, LMP
Alemtuzumab	Lemtrada	EMRR	Anticuerpo monoclonal anti- CD52	Infecciones respiratorias y urinarias
Ocrelizumab	Ocrevus	EMRR EMPP	Anticuerpo monoclonal anti-CD20	Riesgo de infecciones
Mitoxantrona	Novantrone	EMRR	Inmunorregulador, inhibe la topoisomerasa 2	Náusea, fatiga, alopecia, cardiotoxicidad, leucemia.
Cladirbina	Mavenclad	EMRR	Inmunorregulador, inductor de apoptosis	Riesgo de infecciones, linfopenia, erupción cutánea, alopecia.

Ozanimod	Zeposia	EMRR	Agonista de los receptores de esfingosina-1- fosfato 1 y 5 (SP1 y SP5).	Bradicardia, aumento del riesgo de infección, la PA, la ALT, LMP y linfopenia
Ponesimod	Ponvory	EMRR	Antagonista del receptor tipo 1 de esfingosina-1fosfato (SP1 ₁)	Aumento del riesgo de infecciones, linfopenia
Siponimod	Mayzent	EMRR EMSP	Antagonista del receptor tipo 1 de esfingosina-1fosfato (SP1 ₁)	Bradicardia, edema macular, leucocitopenia
Ofatumumab	Arzerra, Kesimpta	EMRR	Anticuerpo monoclonal anti-CD20	Riesgo de infecciones en el tracto respiratorio superior y urinario

TABLA 2



OBJETIVOS

Evaluar el perfil de seguridad, citocinas proinflamatorias, marcadores de EO en suero de pacientes con EMRR tratados con BROMEL Y TME de 1 y II línea y 2 dosis de BROMEL (600 y 1200 mg diarios oralmente). Se evaluarán los primeros indicios de eficacia clínica e imagenológica

DISEÑO

Se planea realizar un ensayo clínico fase I/II con el objetivo de evaluar la seguridad y primeros indicios de eficacia de BROMEL (600 y 1200 mg diarios) con TME de I y II línea combinados con las 2 dosis de BROMEL en pacientes con EMRR durante 6 meses.

Treinta y cinco (35) pacientes diagnosticados de EMRR según los criterios de Wingerchuk¹⁷ y 5 personas sanas se incorporarán en el estudio.

Los criterios de inclusión serán los siguientes: (i) Pacientes con EMRR diagnosticados según criterios de Wingerchuk. (ii) ninguna evidencia de recaída (iii) sin tratamiento con corticosteroides al menos 30 días previos, (iv) Edad \geq 18 años, (v) Femenino o masculino (vi) Consentimiento informado por escrito para la participación en el estudio.

Los pacientes serán asignados en grupos de 5 pacientes (grupos 1 al 7) y recibirán:

1. BROMEL 600mg;
2. BROMEL 1200mg;
3. TME de I línea + BROMEL 600mg;
4. TME de I línea + BROMEL 1200mg;
5. TME de II línea + BROMEL 600mg;
6. TME de II línea + BROMEL 1200mg;
7. Sin tratamiento
8. Personas aparentemente sanas

Las TME de I y II línea se administrarán por 6 meses según lo establecido por los organismos regulatorios internacionales FDA/EMA

BROMEL se administrará por vía oral diariamente por 6 meses

La **SEGURIDAD** del producto será evaluada por:

- Frecuencia de efectos adversos (EA)
- Intensidad de EA

Los **MARCADORES BIOLÓGICOS** de inflamación y EO serán evaluados¹⁸ al inicio del tratamiento, 1, 3 y 6 meses de tratamiento

Cuantificación de los niveles séricos de citocinas por ELISA

- Recombinant Human IFN-gamma GMP Protein, 285-GMP
- Recombinant Human IL-17A (Human Cell-expressed) Protein, 7955-IL

Cuantificación de los niveles de marcadores de EO:

- Malondialdehído
- Productos Avanzados de Oxidación de Proteínas
- Potencial de Peroxidación
- Superóxido Dismutasa
- Catalasa
- Hidroperóxidos Totales
- Glutación reducido

La **EFICACIA** se evaluará al inicio y a los 6 meses de tratamiento

CLÍNICA

Las variables primarias evaluadas serán:

- Número de exacerbaciones
- Proporción de pacientes libres de exacerbaciones al final del tratamiento.

Las variables secundarias serán:

- Puntuación en la Escala de Valoración Neurológica de Scripps (NRS)
- Proporción de pacientes que disminuyó 1 punto en la Escala de Estado de Discapacidad Expandida de Kurtzke (EDSS).

IMAGENOLÓGICA

- Lesiones de resonancia magnética T2
- Lesiones de resonancia magnética contrastadas con gadolinio

REFERENCIAS

¹ .Bjelobaba I, Savic D, Lavrnja I. Multiple Sclerosis and Neuroinflammation: The Overview of Current and Prospective Therapies. *Curr Pharm Des.* 2017;23(5):693-730. doi: 10.2174/1381612822666161214153108. PMID: 27981909.

² Fiorini A, Koudriavtseva T, Bucaj E, Coccia R, Foppoli C, Giorgi A, Schininà ME, Di Domenico F, De Marco F, Perluigi M. Involvement of oxidative stress in occurrence of relapses in multiple sclerosis: the spectrum of oxidatively modified serum proteins detected by proteomics and redox proteomics analysis. *PLoS One.* 2013 Jun 7;8(6):e65184. doi: 10.1371/journal.pone.0065184. PMID: 23762311; PMCID: PMC3676399.

³ Kirbas A, Kirbas S, Anlar O, Efe H, Yilmaz A. Serum paraoxonase and arylesterase activity and oxidative status in patients with multiple sclerosis. *J Clin Neurosci.* 2013 Aug;20(8):1106-9. doi: 10.1016/j.jocn.2012.09.020. Epub 2013 May 10. PMID: 23669169.

⁴ Klineova S, Lublin FD. Clinical Course of Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018 Sep 4;8(9):a028928. doi: 10.1101/cshperspect.a028928. PMID: 29358317; PMCID: PMC6120692.

⁵ Leblanc S, Lefort M, Le Page E, Michel L, Leray E. Trends in disease-modifying therapy use in patients with multiple sclerosis using a 10-year population-based cohort study in

France. *Expert Rev Neurother.* 2022 May;22(5):411-418. doi: 10.1080/14737175.2022.2061950. Epub 2022 Apr 5. PMID: 35363999.

- ⁶ Lepka K, Berndt C, Hartung HP, Aktas O. Redox Events As Modulators of Pathology and Therapy of Neuroinflammatory Diseases. *Front Cell Dev Biol.* 2016 Jun 23;4:63. doi: 10.3389/fcell.2016.00063. PMID: 27446915; PMCID: PMC4917551.
- ⁷ Kremer D, Göttle P, Hartung HP, Küry P. Pushing Forward: Remyelination as the New Frontier in CNS Diseases. *Trends Neurosci.* 2016 Apr;39(4):246-263. doi: 10.1016/j.tins.2016.02.004. Epub 2016 Mar 7. PMID: 26964504.
- ⁸ Makkar R, Behl T, Bungau S, Zengin G, Mehta V, Kumar A, Uddin MS, Ashraf GM, Abdel-Daim MM, Arora S, Oancea R. Nutraceuticals in Neurological Disorders. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 22;21(12):4424. doi: 10.3390/ijms21124424. PMID: 32580329; PMCID: PMC7352709.
- ⁹ Padyana AK, Bhat VB, Madyastha KM, Rajashankar KR, Ramakumar S. Crystal structure of a light-harvesting protein C-phycoyanin from *Spirulina platensis*. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Apr 13;282(4):893-8. doi: 10.1006/bbrc.2001.4663. PMID: 11352634.
- ¹⁰ Trotta T, Porro C, Cianciulli A, Panaro MA. Beneficial Effects of Spirulina Consumption on Brain Health. *Nutrients.* 2022 Feb 5;14(3):676. doi: 10.3390/nu14030676. PMID: 35277035; PMCID: PMC8839264.
- ¹¹ Pentón-Rol G, Marín-Prida J, McCarty MF. C-Phycocyanin-derived Phycocyanobilin as a Potential Nutraceutical Approach for Major Neurodegenerative Disorders and COVID-19-induced Damage to the Nervous System. *Curr Neuropharmacol.* 2021;19(12):2250-2275. doi: 10.2174/1570159X19666210408123807. PMID: 33829974; PMCID: PMC9185767.
- ¹² Pentón-Rol G, Lagumersindez-Denis N, Muzio L, Bergami A, Furlan R, FernándezMassó JR, Nazabal-Galvez M, Llópiz-Arzuaga A, Herrera-Rolo T, Veliz-Rodríguez T, Polentarutti N, Marín-Prida J, Raíces-Cruz I, Valenzuela-Silva C, Teixeira MM, PentónArias E. Comparative Neuroregenerative Effects of C-Phycocyanin and IFN-Beta in a Model of Multiple Sclerosis in Mice. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2016 Mar;11(1):15367. doi: 10.1007/s11481-015-9642-9. Epub 2015 Nov 10. PMID: 26556034.
- ¹³ Cervantes-Llanos M, Lagumersindez-Denis N, Marín-Prida J, Pavón-Fuentes N, Falcon-Cama V, Piniella-Matamoros B, Camacho-Rodríguez H, Fernández-Massó JR, Valenzuela-Silva C, Raíces-Cruz I, Pentón-Arias E, Teixeira MM, Pentón-Rol G. Beneficial effects of oral administration of C-Phycocyanin and Phycocyanobilin in rodent models of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Life Sci.* 2018 Feb 1;194:130138. doi: 10.1016/j.lfs.2017.12.032. Epub 2017 Dec 27. PMID: 29287781.
-

- ¹⁴ Pentón-Rol G, Marín-Prida J, Pardo-Andreu G, Martínez-Sánchez G, Acosta-Medina EF, Valdivia-Acosta A, Lagumersindez-Denis N, Rodríguez-Jiménez E, Llópiz-Arzuaga A, López-Saura PA, Guillén-Nieto G, Pentón-Arias E. C-Phycocyanin is neuroprotective against global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils. *Brain Res Bull.* 2011 Aug 10;86(1-2):42-52. doi: 10.1016/j.brainresbull.2011.05.016. Epub 2011 Jun 6. PMID: 21669260.
- ¹⁵ Marín-Prida J, Liberato JL, Llópiz-Arzuaga A, Stringhetta-Padovani K, Pavón-Fuentes N, Leopoldino AM, Cruz OG, González IH, Pérez ML, Camins A, Ferreira Dos Santos W, Uyemura SA, Pardo-Andreu GL, Pentón-Rol G. Novel Insights into the Molecular Mechanisms Involved in the Neuroprotective Effects of C-Phycocyanin against Brain Ischemia in Rats. *Curr Pharm Des.* 2022;28(14):1187-1197. doi: 10.2174/1381612828666220506145542. PMID: 35524676.
- ¹⁶ Pentón-Rol G, Marín-Prida J, Falcón-Cama V. C-Phycocyanin and Phycocyanobilin as Remyelination Therapies for Enhancing Recovery in Multiple Sclerosis and Ischemic Stroke: A Preclinical Perspective. *Behav Sci (Basel).* 2018 Jan 18;8(1):15. doi: 10.3390/bs8010015. PMID: 29346320; PMCID: PMC5791033.
- ¹⁷ Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, Cabre P, Carroll W, Chitnis T, de Seze J, Fujihara K, Greenberg B, Jacob A, Jarius S, Lana-Peixoto M, Levy M, Simon JH, Tenenbaum S, Traboulsee AL, Waters P, Wellik KE, Weinshenker BG; International Panel for NMO Diagnosis. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology.* 2015 Jul 14;85(2):177-89. doi: 10.1212/WNL.0000000000001729. Epub 2015 Jun 19. PMID: 26092914; PMCID: PMC4515040.
- ¹⁸ Pentón-Rol G, Cervantes-Llanos M, Martínez-Sánchez G, Cabrera-Gómez JA, Valenzuela-Silva CM, Ramírez-Nuñez O, Casanova-Orta M, Robinson-Agramonte MA, Lopategui-Cabezas I, López-Saura PA. TNF-alpha and IL-10 downregulation and marked oxidative stress in Neuromyelitis Optica. *J Inflamm (Lond).* 2009 Jun 2;6:18. doi: 10.1186/1476-9255-6-18. PMID: 19490629; PMCID: PMC2694781.

Protocolo realizado por:



Dra C. Giselle Pentón-Rol

Prof e Inv Titular

CIGB, CUBA