

# The Physiological Medical Letter

Vol. XIII

November 2018

N° 4

## PEPTIDI BIOMIMETICI: CONSIDERAZIONI BIOLOGICHE

*G. Cipriani, C. Marsili, M. Ceccarelli*

Fattori di crescita e citochine sono stati ampiamente studiati nella regolazione del metabolismo della pelle. I fattori di crescita noti per influenzare direttamente la biosintesi del collagene comprendono: il fattore di crescita derivato dalle piastrine, il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF), il fattore di crescita epidermico (EGF), il fattore di crescita dei cheratinociti e il fattore di crescita degli epatociti. Le citochine che interessano la biosintesi di collagene includono TGF- $\beta$ , interleuchina (IL) -6 e IL-8.

Diversi studi indicano che i fattori di crescita e le citochine hanno dimostrato clinicamente di promuovere il ringiovanimento cutaneo, ma le loro grandi dimensioni molecolari (generalmente >15.000 Da) obbligano alla loro somministrazione solo per via iniettiva. Infatti, molecole più grandi di 500 Da generalmente non possono penetrare facilmente nello strato corneo per raggiungere i cheratinociti dello strato basale.

Sono stati proposti, quindi, dei peptidi cosmeceutici con un peso molecolare inferiore a 500 Da, in grado di superare la barriera cutanea. Un certo numero di questi peptidi è in grado di innescare una cascata di segnalazione capace di aumentare la proliferazione di collagene, elastina, proteoglicani, glicosaminoglicani e fibronectina, essendo copia sintetica dei peptidi liberati dalla matrice extracellulare, chiamati matricine.

In generale, i peptidi destinati all'applicazione topica possono essere classificati in quattro categorie principali in base al loro meccanismo d'azione: peptidi segnale, peptidi inibitori enzimatici, peptidi che influenzano i neurotrasmettitori e peptidi carrier.

I peptidi generalmente possiedono diverse proprietà fisico-chimiche che rendono inappropriata la loro somministrazione sistemica, compresa la suscettibilità ad una degradazione proteolitica estesa (mediante il passaggio epatico), alla sensibilità a condizioni di pH estreme (stomaco) e al rischio di indurre una risposta immunitaria. L'applicazione topica offre un percorso apparentemente più diretto verso il sito di azione, a condizione che possa essere fornita una quantità sufficiente nell'area mirata.

Tuttavia, ci sono diversi aspetti da considerare quando si formulano i peptidi come ingredienti topici, in particolare la loro permeazione passiva e il potenziale di penetrazione attraverso la pelle. Il principale ostacolo che deve affrontare il passaggio transcutaneo è l'anatomia della pelle stessa. Tra l'area di applicazione e il sito di azione nel derma, esistono numerose barriere e problemi fisico-chimici.

In primo luogo il peptide deve essere assorbito nello strato più esterno, lo strato corneo. Una volta che il composto si è diffuso attraverso lo strato corneo deve permeare attraverso l'epidermide vitale, senza interagire significativamente con i cheratinociti e gli enzimi proteolitici. Una volta che ha raggiunto e attraversato la membrana basale, potrebbe essere in grado di agire sulle cellule del derma; a condizione che abbia eluso la sua clearance, bypassando il microcircolo del derma.

Si ritiene che lo strato corneo fornisca la principale barriera limitante la penetrazione. Questo costituisce solo il 10% dell'intera pelle ma contribuisce in modo significativo (80%) alla funzione di barriera cutanea. Comprendendo i corneociti in una matrice lipidica, la barriera è essenzialmente di natura lipofila e fornisce un'eccellente blocco al passaggio passivo delle molecole esogene, in particolare quelle polari e idrofile. Quando il composto diventa più lipofilo, la sua permeabilità attraverso la pelle aumenta.

I peptidi, a pH fisiologico, sono tipicamente dotati di una carica elettrica che li rende idrofili, contribuendo così alla loro scarsa penetrazione passiva della pelle. Inoltre, i peptidi contengono più legami ammidici che hanno il potenziale di influenzare negativamente la loro diffusione attraverso la pelle. Una delle strategie disponibili per migliorare la somministrazione topica consiste nell'utilizzare un potenziatore della penetrazione. È stato suggerito che gli acidi grassi (FA) agiscano da esaltatori attraverso la riduzione della struttura compatta dei lipidi dello strato corneo, migliorandone la fluidità. Lo strato corneo umano contiene una miscela complessa di lipidi intercellulari con ceramidi, colesterolo, FA liberi e derivati di colesterolo. È stato dimostrato che i FA aumentano la permeabilità e, per migliorare il passaggio del peptide attraverso l'epidermide, viene attaccato un gruppo lipofilo (cioè l'acido palmitico) al gruppo N-terminale del peptide attraverso la formazione di un legame ammidico per formare N-palmitoyl-peptide.

Ma, una volta incorporati nella pelle, i palmitoyl-peptidi potrebbero disturbare lo strato lipidico intercellulare all'interno dello strato cutaneo e diminuire la resistenza della pelle.

Inoltre, è altamente probabile che i palmitoyl-peptidi debbano degradarsi in situ per diventare biologicamente attivi, ma i legami ammidici sono considerevolmente più stabili all'idrolisi chimica e degradano ad un ritmo molto più lento rispetto ai legami esteri.

Prima perplessità sull'uso di questi peptidi biomimetici è l'eventuale alterazione della funzione cutanea e la perplessità sulla loro attività biologica. Infatti se non liberati dal carrier i peptidi funzionano ugualmente? E dopo l'eventuale distacco quale è l'emivita del peptide? Ricordiamo che, normalmente, l'emivita delle citochine e dei fattori di crescita è molto breve. E per i peptidi? La loro struttura manterrà il legame col recettore cellulare per quanto tempo?

Ma il problema è molto più grande.

I peptidi biomimetici sono copie sintetiche delle matricine. Le matricine sono peptidi brevi generati dalla proteolisi delle macromolecole della ECM che possono modulare la proliferazione cellulare, la migrazione e l'apoptosi.

Le matricine sono peptidi biologicamente attivi ottenuti mediante scissione proteolitica dei costituenti della matrice extracellulare. Queste molecole possono legarsi a diversi recettori su cellule stazionarie o migranti, inducendo una gran varietà di risposte che dipendono dal tipo cellulare. Questi frammenti biologicamente attivi contengono un dominio criptico che non è normalmente esposto nella molecola intatta. Perché questa attività biologica si possa esercitare è necessaria una degradazione enzimatica che alteri strutturalmente o conformazionalmente la molecola di partenza. Avviene questo nei peptidi biomimetici?

L'informazione biologica che danno alcune matricine è quella di un'aggressione batterica. Infatti le collagenasi batteriche inducono la formazione di frammenti del collagene di tipo I che hanno potenti proprietà chemotattiche verso i granulociti neutrofili del sangue periferico. La chemotassi dei granulociti è provocata da peptidi che contengono 3-5 ripetizioni di un tripeptide contenente Prolina, idrossiprolina e glicina (Pro-Hyp-Gly).

L'idrolisi alcalina delle fibre di elastina dà origine ad una miscela di peptidi derivati dall'elastina, la Kappa-elastina. Fra i peptidi derivati dall'idrolisi dell'elastina, alcuni sono particolarmente coinvolti nella regolazione cellulare: stimolano l'espressione della gelatinasi-A/MMP-2 e di collagenasi/MMP-1 nei fibroblasti umani; aumentano

l'espressione dei componenti del complesso di attivazione della MMP-2. Giocando un ruolo molto importante nella regolazione del rimodellamento del tessuto connettivo.

Ne consegue che l'uso indiscriminato di peptidi biomimetici senza accertarsi della loro reale attività biologica, della loro durata di azione e della loro emivita, presenta delle perplessità in relazione ai possibili rischi.

Attualmente vengono principalmente proposti all'interno dei cosmetici dove, come precedentemente detto, è difficile accertarsi della reale concentrazione del biopeptide diffuso nella cute e della reale risposta biologica. Diverso è invece il rischio del loro uso all'interno di medical device iniettabili. Questo può indurre risposte biologiche di carattere infiammatorio e di riparazione cicatriziale con incremento del collagene di I° tipo (invecchiamento biologico).

## **Bibliografia**

Tamyres Nassa Lima and Carla Aparecida Pedriali Moraes, *Bioactive Peptides: Applications and Relevance for Cosmeceuticals, Cosmetics* 2018, 5(1), 21;

Del Angel-Mosqueda C, Gutiérrez-Puente Y, López-Lozano AP, Romero-Zavaleta RE, Mendiola-Jiménez A, Medina-De la Garza CE, Márquez-M M, De la Garza-Ramos MA (September 2015). "Epidermal growth factor enhances osteogenic differentiation of dental pulp stem cells in vitro". *Head & Face Medicine*. 11: 29

Hardison M. T., Brown M. D., Snelgrove R. J., Blalock J. E., Jackson P., Cigarette smoke enhances chemotaxis via acetylation of proline-glycine-proline. *Front. Biosci.* 4, 2402-2409

Gaggar A., Jackson P. L., Noerager B. D., O'Reilly P. J., McQuaid D. B., Rowe S. M., Clancy J. P., Blalock J. E., A novel proteolytic cascade generates an extracellular matrix-derived chemoattractant in chronic neutrophilic inflammation. *J. Immunol.* 180, 5662-5669