

C-ficocianinas: modulación del sistema inmune y su posible aplicación como terapia contra el cáncer

C-phyco cyanins: immune system modulation and its possible application as therapy against cancer

Álvaro Esteban Alfaro-Alfaro¹, Valerie Alpízar-Cambroner²,
Ana Iris Duarte-Rodríguez³, Joana Feng-Feng⁴,
Christopher Rosales-Leiva⁵, Juan José Mora-Román⁶

Fecha de recepción: 12 de setiembre de 2019
Fecha de aprobación: 3 de febrero de 2020

Alfaro-Alfaro, A; Alpízar-Cambroner, V; Duarte-Rodríguez, A; Feng-Feng, J; Rosales-Leiva, C; Mora-Román, JJ. C-ficocianinas: modulación del sistema inmune y su posible aplicación como terapia contra el cáncer. *Tecnología en Marcha*. Vol. 33-4. Octubre-Diciembre 2020. Pág 125-139.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v33i4.4653>



- 1 Estudiante de Licenciatura en Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: alvaro.alfarofar@ucr.ac.cr.
- 2 Estudiante de Licenciatura en Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: valerie.alpizar@ucr.ac.cr.
- 3 Estudiante de Licenciatura en Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: ana.duarte@ucr.ac.cr.
- 4 Estudiante de Licenciatura en Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: joana.feng@ucr.ac.cr.
- 5 Estudiante de Licenciatura en Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: christopher.rosalesleiva@ucr.ac.cr
- 6 Máster en Bioquímica, Departamento de Farmacia Industrial, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: juanjose.moraroman@ucr.ac.cr.

Palabras clave

Cáncer; inmunoterapia; C-ficocianina; respuesta inmune.

Resumen

El cáncer es una enfermedad compleja, heterogénea y dinámica, caracterizada por una mitosis descontrolada. Históricamente, se ha tratado con cirugía, radioterapia y quimioterapia, y en años más recientes mediante la inmunoterapia. Para ello, se han investigado distintas proteínas para la modulación de la respuesta inmune. Un grupo de estas son las C-ficocianinas, biliproteínas proveniente de microalgas verde azuladas como *Spirulina platensis*. El ambiente antiinflamatorio en personas sanas es una medida profiláctica para disminuir el riesgo de desarrollar un determinado tipo de cáncer. Su ingesta ha mostrado ese comportamiento, al suprimir la liberación de sustancias proinflamatorias. También se ha apreciado un efecto inmunomodulador al aumentar o disminuir la expresión de CD59, así como al ocasionar la proliferación de macrófagos y la liberación de sustancias inflamatorias. Esto último es un indicativo de que no se cuenta con información suficiente para corroborar su uso como opción profiláctica o terapéutica contra el cáncer. Por ello, es trascendental la información sobre sustancias naturales como estas, porque aunque se ven más atractivas para tratar dicha enfermedad, no existen efectos terapéuticos totalmente comprobados.

Keywords

Cancer; immunotherapy; C-phycoyanin; immune response.

Abstract

Cancer is a complex, heterogeneous, and dynamic disease, characterized by uncontrolled mitosis. Historically, it has been treated with surgery, radiotherapy and chemotherapy, and immunotherapy in more recent years. For this, different proteins have been investigated for the modulation of the immune response. A group of these are C-phycoyanins, biliproteins from bluish-green microalgae such as *Spirulina platensis*. The anti-inflammatory environment in healthy people is a prophylactic measure to reduce the risk of developing a specific cancer type. Its intake has shown that behavior, by suppressing the release of pro-inflammatory substances. An immunomodulatory effect has also been appreciated by increasing or decreasing the expression of CD59, and causing the macrophage proliferation and the release of inflammatory substances. The latter is an indication that there is insufficient information to corroborate its use as a prophylactic or therapeutic option against cancer. Therefore, the information about natural substances such as these ones are transcendental, because although they are more attractive to treat said disease, there are no fully proven therapeutic effects.

Introducción

El cáncer es una enfermedad compleja, heterogénea y dinámica que involucra muchos componentes moleculares. Afecta a toda población y el reto principal es evitar su génesis y su progresión [1].

A nivel mundial, la cantidad de casos va en aumento. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2015 fue de la primera a la cuarta causa de muerte antes de los 70 años en 113 países. Además, la incidencia en el 2018 fue de 18.078.957 casos de todos los tipos de

cáncer y la mortalidad correspondió a 9.555.027 personas. Por continentes, un 48,4 % de los casos se presentó en Asia (cuenta con el 60 % de la población mundial), seguido por Europa con un 23,4 % (9 % de la población global), América 21,0 %, África 5,8 % y Oceanía 1,4 %. Con respecto a la mortalidad, en Asia fue de un 57,3 %, y le siguió Europa (30,3 %), América (14,4 %), África (7,3 %) y Oceanía (0,7 %) [2].

En lo que respecta a Costa Rica, según datos del Ministerio de Salud, para el 2014 la incidencia en mujeres registró un total de 6.056 casos y en hombres 4.850 casos. La provincia de mayor incidencia fue San José, tanto para hombres como para mujeres. Con respecto a la mortalidad, en el 2015 murieron 2.091 mujeres y 2.576 hombres por esta patología [3].

Existen diversas causas asociadas al desarrollo de cáncer, entre ellas: consumo de tabaco, infecciones por agentes como *Helicobacter pylori*, virus de hepatitis B y C, y virus del papiloma humano, obesidad, consumo de alcohol, dietas ricas en carnes rojas y procesadas, factores genéticos, exceso de luz solar, inactividad física, pobre nutrición, exposiciones ocupacionales e inmunosupresión [4].

Para ello, se han investigado distintas proteínas para la modulación de la respuesta inmune y así, emplearlas como opción terapéutica contra el cáncer. Un grupo de estas son las C-ficocianinas. Son biliproteínas provenientes de las microalgas verde azuladas como *Spirulina platensis* [5].

Por ello, el objetivo de la presente investigación fue revisar la información relacionada a las C-ficocianinas como moduladoras de la respuesta inmune para el tratamiento contra el cáncer.

Generalidades del cáncer

El crecimiento celular es un proceso esencial de todas las células del cuerpo, pues se relaciona con la renovación de tejidos dañados, la producción de nuevos tejidos y el recambio de células en sitios como la piel, el pelo y el epitelio. El ciclo celular implica la replicación del material de la célula, incluyendo el ADN. En el caso de este material genético, sus mecanismos de replicación poseen altos niveles de efectividad, porque mantienen una probabilidad muy baja de la colocación errónea de bases nitrogenadas por parte de la ADN polimerasa. No obstante, un error puede desencadenar una mutación [6] [7] [8].

Una mutación conlleva a que una célula sea capaz de reproducirse, a pesar de no ser funcional. Estas células no funcionales propician la creación de tejidos causantes de fallas fisiológicas, capaces de inducir efectos letales en las personas. Las mismas son llamadas cancerígenas. Aunque conservan la replicación y el crecimiento, tienen un ritmo elevado con respecto a las demás [8].

Existen muchos tipos de cáncer de acuerdo al tejido afectando. Aunque todos presentan el mismo principio fisiopatológico, algunos son más frecuentes en comparación con otros. Los tipos más comunes en orden de mayor a menor son: pulmonar, hepático, colorrectal, gástrico y de mama [9] [10] [11] [12]. Las probabilidades de generar células cancerígenas por una mutación en el ADN son bajas, pero existen factores que aumentan la probabilidad de las neoplasias como la exposición a rayos ionizantes (ultravioleta, X, gamma), que generan el rompimiento y la transposición de secuencias génicas en el ADN. Como complemento, sustancias químicas y su prolongada exposición pueden llevar a la generación de especies reactivas de oxígeno que inducen mutaciones. Ejemplo de ellas son el tabaco, las aflatoxinas, el arsénico y el alcohol.

Además, se ha estudiado la asociación de microorganismos que puede ocasionar un tipo de cáncer posterior a una infección microbiana. Un caso documentado son las infecciones por *Helicobacter pylori*. Estudios evidencian la relación de esta bacteria con el cáncer gástrico. El estilo de vida y la dieta de las personas también aumentan la probabilidad de generar células cancerígenas [10] [12] [13] [14].

La regulación del ciclo celular y la proliferación de las células se da mediante protooncogenes y otros genes como supresores de tumores, reguladores de la apoptosis e involucrados en la reparación de ADN. Estos pueden provocar defectos, llevando a la célula a una proliferación anormal. Una célula normalmente posee pasos en su ciclo en los que distintas proteínas (factores de crecimiento, ciclinas, quinasas dependientes de ciclinas) activan o desactivan dichos pasos, permitiendo detenerse o proseguir con su replicación. Los oncogenes codifican para oncoproteínas que inducen a las proteínas reguladoras del ciclo celular a fallas, y consecuente, a una proliferación sin control [15].

Además, la inflamación es distintiva del cáncer. Las células inmunes y los mediadores de la inflamación como interleucina 6 (IL-6, citoquina pro y antiinflamatoria), factor de necrosis tumoral (TNF- α , por sus siglas en inglés, principal citoquina proinflamatoria) e IL-23 (implicada en inflamaciones crónicas), y especies reactivas de oxígeno crean un microambiente idóneo para la aparición de mutaciones causantes del cáncer. Por todo lo anterior, el cáncer es un conjunto de enfermedades con características similares entre la gran variedad de neoplasias. Sus signos distintivos son: señal de proliferación sostenida, evasión de supresores de tumores, evasión de respuesta inmune, promoción de la inflamación, activación de invasión y metástasis, inmortalidad replicable, favorecimiento de la angiogénesis, mutación e inestabilidad genómica, resistencia a la muerte celular y desregulación de la energía celular [13] [16] [17] [18] [19].

El control inmunológico, principalmente por parte de linfocitos NK (del inglés Natural Killer), elimina células cancerígenas. Estos identifican antígenos presentados en el complejo mayor de histocompatibilidad tipo I (MHC-I, por sus siglas en inglés), hallado en todas las células del cuerpo humano. Si son activados, como consecuencia de la presencia de un antígeno en este complejo, su maquinaria lítica permite la eliminación de las células cancerígenas. Como complemento, las NK son activadas por aquellas células tumorales que no presentan MHC-I expresado en su superficie [20].

De forma similar a los NK, los linfocitos T citotóxicos (CD8+) atacan a las células cancerígenas, mediante su activación por medio del MHC-I. Las células tumorales al presentar los péptidos tumorales ocasionan la activación de los CD8+, las cuales reconocen estos péptidos como extraños. Una vez activados, liberan sustancias líticas que inducen la muerte de la célula dañada. Además, se da la liberación de interferón gamma (IFN- γ , por sus siglas en inglés), que modula la respuesta inmune innata, al atraer y activar los macrófagos, responsables de fagocitar las células tumorales e intentar eliminarlas por completo [21] [22].

No obstante, el cáncer ha logrado evadir el sistema inmune para continuar con su crecimiento exacerbado. Entre los diferentes mecanismos de evasión se pueden mencionar: pérdida del MHC-I (disminuyendo su expresión en la membrana o modificando proteínas propias del MHC, que hacen a las células irreconocibles por el sistema inmune), favorecimiento de la proliferación tumoral mediante la secreción de citoquinas supresoras del sistema inmune en el microambiente tumoral como el factor de crecimiento tumoral β (TGF- β , por sus siglas en inglés) e IL-10, y la presencia de células T reguladoras con actividad supresora en dicho microambiente [20].

Inmunoterapia y cáncer

Junto con las terapias convencionales como la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, con el paso de los años se ha comenzado a usar a la inmunoterapia como pilar fundamental contra el cáncer [23].

La inmunoterapia se define como aquella terapia en la cual se usan sustancias para estimular o para inhibir el sistema inmune y de esta manera, ayudar al cuerpo a combatir el cáncer, las infecciones y otras enfermedades [24]. Específicamente para el tratamiento del cáncer, implica

el uso de agentes terapéuticos que propician una manipulación del sistema inmune por medio de citoquinas, vacunas, terapias celulares y agentes de transfección humoral [25].

Estos logran estimular la respuesta antitumoral del huésped, al aumentar el número de células efectoras y la producción de mediadores solubles. Asimismo, disminuyen los mecanismos supresores, promoviendo un entorno de destrucción de tumores y la modulación de los puntos de control inmunitarios [25].

No obstante, se debe hacer la salvedad que esta terapia cuenta con mejores resultados frente a determinados tumores. Algunos poseen mecanismos de evasión de la respuesta inmune, imposibilitando la detección por parte de sus células mediante los mecanismos indicados con anterioridad. También puede ser empleada para modular la respuesta inmune, impidiendo los ambientes antiinflamatorios propios de los tumores [26].

La inmunoterapia fue usada por primera vez en los años 1970s a través de la vacuna del Bacilo Calmette–Guérin (BCG). Es una forma atenuada de la bacteria *Mycobacterium bovis*, capaz de estimular al sistema inmune en el tratamiento contra el cáncer de células superficiales de vejiga y en la inmunidad contra la tuberculosis [27].

En los últimos años, en países como Estados Unidos, se ha dejado de usar, debido a sus efectos adversos. Junto con ello, presenta un riesgo (aunque bajo) de infección por eficacia variable en la prevención de la tuberculosis pulmonar en adultos e interferencia en la reacción a la prueba cutánea de la tuberculina [28].

En la misma época, se dio el desarrollo de los interferones. Se trata de un grupo de glicoproteínas producidas naturalmente en el organismo de los mamíferos. Cuentan con diversos modos bioquímicos y celulares de acción que han demostrado actividad en el tratamiento de numerosas y diversas enfermedades malignas como el melanoma [29] [30].

En el año 1976, se dio el descubrimiento de la interleucina-2 (IL-2) como un factor promotor del crecimiento celular (TCGF, por sus siglas en inglés) [31]. La IL-2 es un potente activador de los linfocitos T, las células NK, los macrófagos y los linfocitos B. Asimismo, estimula la liberación de varias citoquinas. Su efecto antitumoral es mediado por la promoción de la activación de las células NK, las células asesinas activadas por linfoquinas (LAK, por sus siglas en inglés) y otras células citotóxicas, así como la inducción de IFN- γ (potencia la transcripción de genes involucrados en actividades inmunomoduladoras, antivirales, antitumorales y antiproliferativas, y aumenta las actividades citotóxica y fagocítica de células presentadoras de antígenos) [32] y TNF- α (promueve la expresión de genes proinflamatorios y de autoinmunidad) [33].

Como complemento, su uso en terapia génica contra cáncer se ha empleado en diversos modelos tumorales preclínicos, incluyendo carcinoma hepatocelular, carcinoma de cabeza y cuello, sarcomas, plasmocitoma, carcinoma de mama, linfomas y cáncer cervical [34] [35] [36].

Otro acercamiento de la inmunoterapia es la regulación de los llamados puntos de control. De esta manera, las terapias se dirigen hacia las moléculas que sirven como controles en la regulación de las respuestas inmunes y bloquean las moléculas inhibitorias de tales respuestas. Además, activan aquellas que mejoran la función anticancerígena del sistema inmune [25].

En cuanto a las vacunas terapéuticas, potencian el desarrollo de una respuesta inmune contra antígenos específicos de tumores o asociados a otros tumores. No obstante, el problema es la obtención del antígeno, porque son muy similares a los de las células normales y, por ende, menos inmunogénicos [37].

Los virus oncolíticos son otra opción. La razón de usarlos es que para su replicación necesitan destruir las células, como es el caso de las tumorales. La terapia con virus de este tipo modificados genéticamente puede ocasionar su destrucción y la liberación de antígenos

capaces de generar una mayor respuesta inmune contra dicha enfermedad. Entre los más usados se encuentran: ONYX015 (dl1520), ICOVIR-7 y DELTA-24 (Ad5/3-D24-GMCSF). Sus características se describen en el cuadro 1 [38] [39].

Dentro de esta estrategia, una de las herramientas más empleadas son los anticuerpos monoclonales. Fueron descubiertos en 1975 por Georges Kohler y César Milstein [40]. Son proteínas obtenidas en el laboratorio que se puede unir a antígenos presentes en el cuerpo, incluso en células cancerosas. Existen diversos tipos de anticuerpos monoclonales, de acuerdo con la proporción del anticuerpo cuyo origen sea humano o de otra especie [41].

Cuadro 1. Principales virus oncolíticos usados en la inmunoterapia [38]

Virus oncolítico	Características
ONYX015 (dl1520)	Adenovirus que carece de la proteína viral E1B, implicada en su replicación. Sin ella no puede replicarse en las células que contienen p53 funcional (células normales). Las células tumorales tienen alterado el p53, permitiendo su replicación y favoreciendo la lisis celular
ICOVIR-7	Cuenta con una modificación en el gen RGD-4C para que presente selectividad por las células tumorales. También, para respetar el tejido sano, presenta una modificación en el promotor E2F, que está estructurado en palíndromos (tipo de secuencia de organización de ADN, relacionada con la señal para el inicio de la transcripción). Con ello, consigue su unión a la proteína del retinoblastoma Rb-p16, alterada en la mayoría de los tumores sólidos avanzados, constituyendo el complejo E2F-pRb.
DELTA-24 (Ad5/3-D24-GMCSF)	Desarrollado tras sustituir fibras del adenovirus serotipo 3 en el esqueleto del adenovirus 5. Con ello, mejora la transferencia de genes, pues el adenovirus 3 se une a un receptor no coxsackie, cuya expresión está aumentada en las células tumorales. Además, este vector quimérico 5/3 expresa el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF, por sus siglas en inglés), induciendo actividad inmune antitumoral.

Inicialmente se contó con la tecnología del hibridoma, la cual usa una célula de melanoma y un linfocito B. Estos se fusionan y forman un hibridoma capaz de producir este tipo de anticuerpos. Sin embargo, debido a problemas de inmunogenicidad por su origen murino, se dio un proceso de humanización de los mismos, conduciendo al desarrollo de anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos, cuya tendencia implica tener una mayor proporción de naturaleza humana en la molécula [42].

Una de las aplicaciones de esta terapia es el cáncer de mama, uno de los que más afecta a las mujeres. Se descubrió que algunos tipos sobreexpresan el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2, por sus siglas en inglés). En el caso del anticuerpo monoclonal trastuzumab, funciona debido a tres mecanismos: inhibe la autoactivación del receptor HER-2, activa la citotoxicidad dependiente de anticuerpos y promueve la degradación de este receptor [43] [44].

Como complemento, combinarlos parece ser un buen tratamiento. Un ejemplo es la combinación de la IL-2 y un anticuerpo capaz de reconocer péptidos en la superficie de células cancerígenas. Por ejemplo, el tratamiento con IL-2 favoreció la función del sistema inmune contra los tumores

y al vincularlo al anticuerpo ALT-801, se incrementó la actividad contra las células cancerosas [45].

Otra terapia es la basada en células T. Como se mencionó anteriormente, son células que intervienen en mayor medida en la eliminación de células tumorales. Para esta terapia, se extraen del paciente y se modifican en el laboratorio para que actúen mejor sobre las células cancerosas y las destruyan. Se producen millones de copias de estas células modificadas y se devuelven al paciente para que combatan el cáncer [47]. En el año 2017, se aprobó el uso de la terapia con células T de receptor de antígeno químerico (CAR T, por sus siglas en inglés) en niños y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica aguda a través del medicamento tisagenlecleucel (Kymriah®) de la casa farmacéutica Novartis [47].

Finalmente, se ha implementado el uso de las células dendríticas (DC, por sus siglas en inglés). La respuesta inmune adaptativa por parte de los linfocitos T requiere la presentación de antígenos tumorales mediante células presentadoras como las DC, los macrófagos y los linfocitos B en el contexto del MHC-I. Así, se han creado DC modificadas para mejorar la actividad antitumoral [48].

En general, la situación anterior muestra que existe un número considerable de sustancias capaces de modular la respuesta inmune contra el cáncer. No obstante, la búsqueda continúa, y uno de los resultados de esta han sido las ficocianinas.

Generalidades de las ficocianinas

Las ficobiliproteínas son proteínas presentes en las cianobacterias, las algas rojas y las criptófitas [49]. Están constituidas por al menos dos tipos diferentes de péptidos, que conforman la proteína conjugada o apoproteína. A esta parte proteica se unen grupos prostéticos lineales de tetrapirrol a través de enlaces tioéter de cisteína [50]. Sus subunidades son pigmentos de colores brillantes, solubles en agua y autofluorescentes. Algunas de las principales fuentes son: cianobacterias como *Arthrospira (Spirulina) plantensis* y *Arthrospira (Spirulina) máxima*, microalgas, entre ellas, *Pyrophyridium* sp, *Synechocystis* sp, *Phormidium ceylanicum*, *Limnothrix* sp, *Synechococcus lividus* y algunas especies de *Nostoc* [51].

Estas proteínas se clasifican según el color observable y el intervalo de absorbancia en: aloficocianina (APC, por sus siglas en inglés) de color azul-verde (650 a 655 nm), ficocianina (PC, por sus siglas en inglés) de color azul (610 a 620 nm) y ficoeritrina (PE, por sus siglas en inglés) de color rosado (540 a 570 nm) [49] [50]

También se clasifican según la fuente de la cual han sido extraídas en: C-ficocianina (proviene de cianobacterias o algas verde azuladas), R-ficocianina (se obtiene de algas rojas) y R-ficocianina II (proviene de especies de *Synechococcus*) [52].

La primera estructura elucidada de una ficobiliproteína fue la de la C-ficocianina. Esta se halló en *Mastigocladus laminosus* en 1985. Posteriormente, se reportaron las estructuras de otras C-ficocianinas presentes en diversos organismos, entre ellos: *Agmenellum quadruplicatum*, *Fremyella diplosiphon* y *Cyanidium caldarium* [53].

En general, se ha reportado que dicha proteína está conformada por subunidades distintas llamadas α y β que pueden formar heterodímeros $\alpha\beta$. Esta contiene cuatro trímeros $(\alpha\beta)_3$, los cuales se ubican cara a cara para formar dos hexámeros $(\alpha\beta)_6$ [53].

Recientes investigaciones demuestran que la C-ficocianina presente en *Arthonema africanum* (Cyanophyceae) posee propiedades antitumorales y anticancerígenas. Por otra parte, la de *Spirulina* cuenta con propiedades hepatoprotectoras, neuroprotectoras y antioxidantes. Además, en el caso de la producida por *Spirulina platensis*, se ha observado que tiene propiedades

como: antihiperalgnesia, antiviral, antifúngica, ateroprotectora, antioxidante, antiinflamatoria e inmunomoduladora [51].

Algunas de las formas más comunes para la obtención son la extracción de fuentes como cianobacterias y microalgas. Esto mediante procesos que involucran la ruptura de las paredes celulares y la extracción en medios acuosos de las proteínas solubles en agua [54]. Existen cuatro métodos de producción:

1. *Producción fotoautotrófica*: método de producción al aire libre mediante el uso de estanques abiertos. Se utiliza mayoritariamente *A. platensis* para la producción [55].
2. Producción heterótrofa: no está limitada por la intensidad de luz incidente. Se usa un biorreactor cerrado. La producción depende de medios heterotróficos o suplementos orgánicos. El compuesto orgánico es empleado como fuente de energía y carbono [49]. *Galdieria sulphuraria* es una rodófito unicelular o alga roja marina adecuada para la producción heterotrófica de C-ficocianina [55].
3. *Producción mixotrófica*: se lleva a cabo en un reactor cerrado. Se emplea luz, nutrientes orgánicos y/o inorgánicos como fuente de energía y carbono. La tasa de crecimiento específica de los cultivos mixotróficos es considerablemente más alta que las de crecimiento específicas fotoautotróficas y heterotróficas [49].
4. Producción recombinante: se ha utilizado la Ingeniería Genética para producir C-ficocianina recombinante con funciones novedosas utilizando *Escherichia coli* [55]. Sin embargo, la síntesis completa de las ficobiliproteínas recombinantes es un proceso difícil de lograr, pues depende de la coexpresión de las cadenas α y β , así como de la síntesis paralela y la inserción de los cromóforos de ficobilina correctos [54]. Mediante esta técnica, se ha logrado la expresión de la proveniente de *Spirulina subsalsa* en *E. coli* [50].

Debido a que tiene efectos sobre la respuesta inmune [51], se ha estudiado de qué forma se puede regular dicha respuesta para ser utilizada como tratamiento contra el cáncer.

Efecto de la C-ficocianina sobre el sistema inmune

Efecto antiinflamatorio

Si bien se busca el desarrollo de un ambiente proinflamatorio cuando el cáncer se ha generado, una medida profiláctica para disminuir el riesgo de desarrollarlo es mediante la administración de sustancias que favorezcan el ambiente antiinflamatorio en personas sanas. Por ejemplo, la ingesta de C-ficocianina promovió la producción de inmunoglobulina A (IgA) y redujo la de IgE e IgG1 en la mucosa intestinal de ratones inmunizados con ovoalbúmina soluble como antígeno. Este comportamiento sugiere que ejerce sus efectos inhibidores contra la alergia (un tipo de inflamación) a través de la amplificación de la producción de IgA en la inmunidad de la mucosa para defenderse contra la invasión de alérgenos. También suprime la producción de IgE e IgG1 en la inmunidad sistémica para minimizar las respuestas excesivas a estas sustancias [56].

Además, disminuye la permeabilidad vascular. Esto quiere decir que puede aliviar la inflamación a través de un proceso que ocurre antes de la activación del sistema, suprimiendo la producción de anticuerpos específicos contra un determinado antígeno [56]. Adicionalmente, se ha observado que el efecto inhibitorio en la respuesta inflamatoria alérgica también se debe a que reduce significativamente la liberación de histamina de los mastocitos. Asimismo, reduce varias citoquinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, así como el óxido nítrico (NO) [57].

En el caso del NO, su producción extensiva derivada de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS, por sus siglas en inglés) es crucial en la patogénesis de la inflamación. Se ha apreciado

que la C-ficocianina inhibe de forma significativa la producción de nitrito (indicador de NO) y la expresión de la enzima [58].

Junto con ello, la actividad inhibitoria sobre la producción de NO y la expresión de iNOS está asociada con la disminución de la liberación del TNF- α al medio por los macrófagos y la inhibición de la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF- κ B, por sus siglas en inglés). Este constituye un regulador importante en la expresión de varios genes inflamatorios como iNOS, ciclooxigenasa 2 (COX-2), citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión [58].

Abonado a lo anterior, la C-ficocianina es un inhibidor selectivo del COX-2 [59]. La COX-2 contribuye a las reacciones inflamatorias y a la producción de prostaglandinas en el sitio de inflamación, especialmente de la prostaglandina E (PGE2), que desempeña un papel clave en el desarrollo de los tres signos de inflamación: hinchazón-enrojecimiento, dolor y fiebre. Se trata de un potente vasodilatador que incrementa la permeabilidad vascular y el flujo sanguíneo del tejido, contribuyendo a la aparición de edema y de eritema característico. Igualmente, ocasiona la sensibilización de las terminaciones nerviosas sensoriales periféricas ubicadas en el sitio de la inflamación y ejerce una potente mediación en la aparición de la fiebre [60].

Finalmente, el reclutamiento y la liberación de la mieloperoxidasa es parte de la respuesta inflamatoria. Consiste en una enzima oxidante endógena que genera especies reactivas de oxígeno y puede ser liberada fuera de la célula, aumentando el potencial de daño a un objetivo extracelular [61]. La C-ficocianina inhibe tanto la peroxidación lipídica microsomal del hígado como la agregación de plaquetas, disminuyendo la producción de PGE2 y de nitritos, reduciendo la producción de mieloperoxidasa y suprimiendo la activación del NF- κ B a través de la prevención de la degradación del inhibidor kappa B alfa ($\text{I}\kappa\text{B-}\alpha$) citosólico [62].

Efecto inmunomodulador

Esta molécula puede promover la expresión de la proteína CD59. Esta funciona como un inhibidor del complejo de ataque a la membrana (MAC, por sus siglas en inglés) CD5b-9 del complemento humano, restringiendo la actividad citolítica del complejo CD5b-9, y protegiendo la sangre humana y las células vasculares del ataque autólogo del complemento [63]. Sin embargo, existen resultados donde se muestra su actividad inhibitoria. La terapia combinada de C-ficocianina y ácido transretinoico total *in vitro* tuvo un efecto inmunomodulador significativo, al disminuir la expresión de la proteína CD59 en células HeLa (células de cultivo celular). Otro aspecto demostrado fue el efecto inhibitorio del ciclo celular con la inducción de apoptosis y la citólisis mediada por el complemento [58].

Adicionalmente, se han realizado estudios con animales. Estos han demostrado un mejoramiento de la actividad de los linfocitos, la inmunidad de un organismo y la capacidad del cuerpo para prevenir y para resistir enfermedades [57].

Las propiedades inmunorreguladoras de la C-ficocianina fueron evaluadas en un modelo de ratas con lesiones agudas de pulmón inducidas por lipopolisacáridos (LPS). Los resultados obtenidos mostraron que posterior al tratamiento con esta molécula, hubo una disminución de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-6. También, atenuó de forma significativa la actividad de la MPO inducida por LPS, la formación de radicales, y los niveles de expresión y de activación de las enzimas iNOS y COX-2, así como el NF- κ B en el pulmón. Por otra parte, logró modular la expresión de enzimas tanto antiapoptóticas (aumentando Bcl-2 y Bcl-xL) como proapoptóticas (disminuyendo caspasa-3 y BAX) en el tejido pulmonar expuesto a la lesión por LPS. Estos resultados indicaron la disminución de la respuesta inmune [58].

Otros estudios se han realizado en macrófagos. Estos desempeñan un papel importante en la defensa inmunológica innata contra las infecciones del huésped en mamíferos y destruyen las células tumorales a través de la secreción de varias citoquinas. En una respuesta inmune, destruyen directamente los microorganismos extraños y las células tumorales al secretar una variedad de mediadores como IL-1, TNF- α e IL-6, entre otras. La IL-1 β pueden promover la proliferación de células T, inducir a las células B a producir anticuerpos, y potenciar las funciones citotóxicas de los linfocitos T citotóxicos y células NK. Junto con ello, la IL-6 promueve la proliferación de células B en el hígado, mientras que el TNF- α tiene un efecto citotóxico y supresor del crecimiento de células tumorales [64].

La infección por bacterias patógenas causa un aumento de estas citoquinas o sus factores moduladores. En 2003, un estudio demostró que con dosis crecientes de C-ficocianina se redujo la proliferación de macrófagos RAW 264.7. Asimismo, tuvieron la capacidad de suprimir la producción de citoquinas cuando estos macrófagos fueron estimuladas con LPS [64].

A pesar de este tipo de estudio, en macrófagos J774A.1 mostró bioactividad al aumentar el rendimiento de la inmunomodulación y tuvo la capacidad de inducir la expresión de TNF- α , IL-1 β e IL-6. Estos resultados evidenciaron la modulación de las células del sistema inmune en mamíferos, favoreciendo la respuesta para la destrucción de células tumorales. La diferencia entre estos dos macrófagos se debe a que existe cierta heterogeneidad entre las células [58] [64].

A pesar de estos experimentos, se considera que es capaz de estimular y no inhibir las respuestas inmunes. Esto se ha visto a través de su ingesta. Cuando se usa como adyuvante de la quimioterapia, impulsa al sistema inmune a combatir la propagación de las células tumorales, mejora su respuesta frente a la quimioterapia y reduce el riesgo de que esta dé lugar a un nuevo cáncer [62]. En adición, puede estimular directamente la formación de la unidad formadora de colonias eritroide, incrementando la hematopoyesis de la médula ósea [57]. Adicionalmente, hay estudios que demuestran que suprime la respuesta alérgica de anticuerpos IgE y mejora la de anticuerpos secretores IgA en ratones. Las células inmunes involucradas en el control del cáncer (células NK y linfocitos T citotóxicos) funcionan de manera más efectiva con la ingesta de esta proteína [62].

Por su actividad antitumoral (en la subunidad β de la C-ficocianina), se ha observado que inhibe la proliferación y promueve la apoptosis de las células cancerígenas en líneas celulares. Esta acción se debe al aumento de la actividad de las caspasas 3 y 8, permitiendo la escisión de la poli (ADP-ribosa) polimerasa 1 (PARP-1), incrementando la relación Bcl-2/BAX. Esto genera un grado de apoptosis mayor y evita que las células proliferen, porque permanecen en las fases G0/G1 del crecimiento celular, despolimerizando los microtúbulos y los microfilamentos [65] [66].

Por otra parte, se cree que interactúa con la β -tubulina (participa en la migración intercinética nuclear en el proceso de replicación celular [67]) y con la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (involucrada en la vía central del metabolismo del carbono como lo es la glucólisis y la gluconeogénesis [68]), causando que el ciclo celular se detenga. Este mecanismo aún no se tiene claro, pero se especula que la subunidad β de la C-ficocianina interactúa con la β -tubulina, asociada a la coprecipitación con la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa bajo ambientes de estrés. Junto con promover la apoptosis y evitar la proliferación, se da una inducción de la autofagia [65] [66].

Además, en un estudio realizado en tejidos de ratas con cáncer de colon inducido, la C-ficocianina redujo el número y el tamaño de los tumores, ya que se unió al receptor del factor vesicular de crecimiento endotelial A1, disminuyendo la angiogénesis. Como complemento, decreció el factor inducible de hipoxia 1 α , relacionado con la demanda de oxígeno y la

angiogénesis. Y fue aún más efectivo cuando se combinó con un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) como piroxicam. Ambas sustancias producen un efecto antineoplásico, porque regulan las propiedades de la membrana (potencial, fluidez y cambio de lípidos), aumentan la calpaína-9 (proteasa dependiente de calcio con una cisteína en su sitio catalítico ubicada en estómago e intestino delgado [69]), la concentración de calcio (regulador de múltiples actividades celulares de señalización y de comunicación [70]) y la expresión del receptor activado de la proliferación de peroxisomas (organelas celulares que participan en procesos bioquímicos como metabolismo del peróxido de hidrógeno, síntesis y degradación de colesterol, síntesis de glicerolípidos y beta oxidación de los ácidos grasos), evitando la progresión del cáncer. Este estudio demostró que puede prevenir el cáncer de colon [71] [72].

Otro detalle visto es que tiene mejor efecto en células metastásicas [66]. Estas son más dañinas que el tumor primario, porque tienen la capacidad de diseminarse y actuar como células madre del tumor, propagando la enfermedad a otros tejidos. Dentro de los tipos de cáncer que se ha visto que tiene efecto *in vitro* e *in vivo* son: colon, mama, hígado, pulmón y leucemia [65].

Adicionalmente, se efectuó un estudio en líneas celulares con el fenotipo de resistencia a múltiples drogas anticancerígenas. Estas presentan transportadores que sacan la droga de las células tumorales e incrementan la concentración extracelular del fármaco. Los resultados mostraron que su uso aumentó la sensibilidad a las quimioterapias y evitó la resistencia sin dañar a las células sanas, específicamente macrófagos [73].

Otras posibles propiedades estudiadas sobre estas proteínas son como agentes antioxidantes, en el mejoramiento del sistema inmune, la protección del hígado y de los riñones, la ayuda en el tratamiento de la fibrosis, la remielinización en esclerosis múltiple o luego de un accidente cerebrovascular isquémico, la inhibición de la arteriosclerosis, el tratamiento de la diabetes, la detección de sustancias fluorescentes, como colorante en cosmetología y como aditivo alimentario [57] [65] [66] [73] [74] [75] [76] [77].

Las perspectivas a futuro en el uso de las C-ficocianinas es que se puedan emplear en conjunto con los medicamentos antitumorales actuales, potenciando sus efectos con una menor cantidad de efectos adversos. A pesar de ello, hacen falta estudios *in vivo* y ensayos clínicos para comprobar esta posible utilidad [16]. Como corolario, es necesario proponer un mecanismo de acción acerca de la actividad antitumoral, lo cual está en investigación en este momento [78].

Conclusiones

Las C-ficocianinas son proteínas obtenidas a partir de diversos microorganismos. A lo largo de los años se han estudiado los efectos que tienen sobre la respuesta inmune. Dichos efectos son principalmente el antiinflamatorio y el inmunomodulador.

Por ello, establecer la respuesta que tienen en el sistema inmune es trascendental para que estas puedan ser utilizadas como una terapia profiláctica o terapéutica contra el cáncer. Hasta el momento, no existe evidencia suficiente para predecir la eficacia y la seguridad de estas proteínas como agentes farmacológicos.

Ante esta situación, es trascendental la información, principalmente hacia otros profesionales de la salud, sobre sustancias naturales como estas. Aunque se ven más atractivas para tratar enfermedades como el cáncer, no existen efectos terapéuticos totalmente comprobados. De esta manera, se debe mantener una actualización constante, de forma que se puedan brindar información útil hacia profesionales, pacientes y público en general.

Referencias

- [1] C. Moses, B. García-Bloj, A. R. Harvey, and P. Blancafort, "Hallmarks of cancer: The CRISPR generation," *European Journal of Cancer*, 93, 10-18, 2018.
- [2] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, and A. Jemal, "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394-424, 2018.
- [3] Ministerio de Salud. (2019, Mayo). Estadística de Cáncer - Registro Nacional Tumores. [en línea]. Disponible en: <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/estadisticas-y-bases-de-datos/estadisticas/estadistica-de-cancer-registro-nacional-tumores>.
- [4] International Agency for Research on Cancer, "World cancer factsheet," Cancer Research UK, Londres, 2014.
- [5] A. Ramos Molina, "Obtención y Purificación de Ficocianinas Mediante Cromatografía de Adsorción en Lecho Expandido. Escalado del Proceso, Caracterización Fisicoquímica y Aplicación como Colorantes Naturales," tesis doctoral, Universidad de Jáen, Andalucía, España, 2011.
- [6] A. Schwabe and F. J. Bruggeman, "Contributions of Cell Growth and Biochemical Reactions to Nongenetic Variability of Cells," *Biophysical Journal*, 107(2), 301-313, 2014.
- [7] L. A. Loeb, K. R. Loeb, and J. P. Anderson, "Multiple mutations and cancer," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(3), 776-781, 2003.
- [8] A. S. Boyer, D. Walter, and C. S. Sørensen, "DNA replication and cancer: From dysfunctional replication origin activities to therapeutic opportunities," *Seminars in Cancer Biology*, 37-38, 16-25, 2016.
- [9] Organización Mundial de la Salud. (2018, Setiembre 12). Cáncer. [en línea]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- [10] R. de la Peña-López y Y. A. Remolina-Bonilla, "Cáncer," *Gaceta Médica De México*, 152 (supl 1), 63-66, 2016.
- [11] S. M. Parizadeh, R. Jafarzadeh-Esfehani, S. M. Hassani, S. M. R. Parizadeh, S. Vojdani, M. Ghandehari et al, "Targeting cancer stem cells as therapeutic approach in the treatment of colorectal cancer," *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 110, 75-83, 2019.
- [12] F. Nasim, B. F. Sabath, and G. A. Eapen, "Lung Cancer," *Medical Clinics of North America*, 103(3), 463-473, 2019.
- [13] D. Hanahan and R. A. Weinberg, "Hallmarks of Cancer: The Next Generation," *Cell*, 144(5), 646-674, 2011.
- [14] F. Rodríguez Montero, "Cáncer gástrico: Su relación con *Helicobacter pylori*," *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 71(609), 5-7, 2014.
- [15] A. Ghosh, D. Ghartimagar, and S. Thapa, "Oncogenes – the basics," *Journal of Biomedical Sciences*, 3(4), 35-37, 2016.
- [16] E. F. e Silva, F. da Silva Figueira, A. P. Lettnin, M. Carrett-Dias, D. M. V. B. Filgueira, S. Kalil et al, "C-Phycocyanin: Cellular targets, mechanisms of action and multi drug resistance in cancer," *Pharmacological Reports*, 70(1), 75-80, 2017.
- [17] J. C. Arthur, E. Perez-Chanona, M. Mühlbauer, S. Tomkovich, J. M. Uronis, T. J. Fan et al, "Intestinal Inflammation Targets Cancer-Inducing Activity of the Microbiota," *Science*, 338(6103), 120-123, 2012.
- [18] S. M. Crusz and F. R. Balkwill, "Inflammation and cancer: advances and new agents," *Nature Reviews Clinical Oncology*, 12(10), 584-596, 2015.
- [19] L. Zitvogel, F. Pietrocola, and G. Kroemer, "Nutrition, inflammation and cancer," *Nature Immunology*, 18(8), 843-850, 2017.
- [20] L. Zamai, C. Ponti, P. Mirandola, G. Gobbi, S. Papa, L. Galeotti et al, "NK Cells and Cancer," *The Journal of Immunology*, 178(7), 4011-4016, 2007.
- [21] S. M. A. Mahmoud, E. C. Paish, D. G. Powe, R. D. Macmillan, M. J. Grainge, A. H. S. Lee et al, "Tumor-Infiltrating CD8+ Lymphocytes Predict Clinical Outcome in Breast Cancer," *Journal of Clinical Oncology*, 29(15), 1949-1955, 2011.
- [22] J. Hamanishi, M. Mandai, M. Iwasaki, T. Okazaki, Y. Tanaka, K. Yamaguchi et al, "Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(9), 3360-3365, 2007.2006.
- [23] Instituto Nacional del Cáncer. (2019). Tipos de tratamiento. [en línea]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos>

- [24] Instituto Nacional del Cáncer. (2019). Diccionario de cáncer. [en línea]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/inmunoterapia>
- [25] D. L. Stanculeanu, Z. Daniela, A. Lazescu, R. Bunghez, and R. Anghel, "Development of new immunotherapy treatments in different cancer types," *Journal of Medicine and Life*, 9(3), 240-248, 2016.
- [26] S. Arshad, D. Baleanu, J. Huang, Y. Tang, and M. M. Al Qurashi. "Dynamical analysis of fractional order model of immunogenic tumors," *Advances in Mechanical Engineering*, 8(7), 1-13, 2016.
- [27] O. Fuge, N. Vasdev, P. Allchorne P, and J. Green, "Immunotherapy for bladder cancer," *Research and Reports in Urology*, 7, 65-79, 2015.
- [28] National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention, "Eliminación de la TB, Vacuna BCG," Center for Disease Control and Prevention, Georgia, 2011.
- [29] N. González Sánchez, Z. Armada Esmores, L. Llopiz Casanova. "Propiedades de los interferones y su acción antitumoral," *Medicentro Electrónica*, 21(3), 192-198, 2017.
- [30] A. A. Tarhini, H. Gogas, and J. M. Kirkwood, "IFN- α in the Treatment of Melanoma," *The Journal of Immunology*, 189(8), 3789-3793, 2012.
- [31] T. Jiang, C. Zhou, and S. Ren, "Role of IL-2 in cancer immunotherapy," *Oncoimmunology*, 5(6), e1163462, 2016.
- [32] D. A. Mata-Espinosa y R. Hernández-Pando, "Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos," *Revista de Investigación Clínica*, 60(5), 421-431, 2008.
- [33] J. M. Fragoso, G. Vargas Alarcón, S. Jiménez Morales, O. D. Reyes Hernández y J. Ramírez Bello, "El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) en las enfermedades autoinmunes (EA): biología molecular y genética," *Gaceta Médica de México*, 150(4), 334-344, 2014.
- [34] V. H. Bermúdez-Morales, O. Peralta-Zaragoza y V Madrid-Marina, "Terapia génica con citocinas contra cáncer cervicouterino," *Salud Pública de México*, 47(6), 458-468, 2005.
- [35] T. Chinen, A. K. Kannan, A. G. Levine, X. Fan, U. Klein, Y. Zheng et al, "An essential role for the IL-2 receptor in T_{reg} cell function," *Nature Immunology*, 17(11), 1322-1333, 2016.
- [36] Chemocare. IL-2 (2019). Chemocare. [en línea]. Disponible en: <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/IL-2.aspx>
- [37] F. Ferriols Lisart, R. Ferriols Lisart y J. Colomina Rodríguez, "Inmunoterapia Tumoral. Vacunas y Terapia Génica," *Farmacia Hospitalaria*, 21(3), 166-170, 1997.
- [38] M. J. de Prado Hidalgo y A. Llanos Méndez. Seguridad y eficacia de los virus oncolíticos en el cáncer avanzado, Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, Sevilla, Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, AETSA 2011 / 2-3, 2012.
- [39] L. Lerma, "Virus oncolíticos: un nuevo aliado en la lucha contra el cáncer," *Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular*, 2019.
- [40] G. Köhler, "Derivation and Diversification of Monoclonal Antibodies," *Physiology or Medicine*, 228-243, 1984.
- [41] I. Dávila González, "Generalidades del tratamiento con anticuerpos monoclonales," *Monografías de Archivos de Bronconeumología*, 4(1), 2017.
- [42] G. Falero, B. L. Rodríguez, I. Rodríguez, E. Suzarte, O. Otero, N. Núñez et al, "Generación de hibridomas productores de anticuerpos monoclonales contra la proteína de membrana externa U (OmpU) de *Vibrio cholerae*," *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 38(3), 224-227, 2006.
- [43] S. Escrivá-de-Romaní, M. Arumí, M. Bellet, and C. Saura, "HER2-positive breast cancer: Current and new therapeutic strategies," *The Breast*, 39, 80-88, 2018.
- [44] T. Vu, F. X. Claret, "Trastuzumab: Updated Mechanisms of Action and Resistance in Breast Cancer," *Frontiers in Oncology*, 2:62, 2012.
- [45] R. Muthuswamy, L. Wang, J. Pitteroff, J. R. Gingrich, and P. Kalinski. "Combination of IFN α and poly-I:C reprograms bladder cancer microenvironment for enhanced CTL attraction". *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 3(6), 2015.
- [46] Cancer.net. Qué es la inmunoterapia. (2019, Enero). American Society of Clinical Oncology. [en línea]. Disponible en: <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atenci%C3%B3n-del-c%C3%A1ncer/c%C3%B3mo-se-trata-el-c%C3%A1ncer/inmunoterapia/qu%C3%A9-es-la-inmunoterapia>
- [47] Instituto Nacional del Cáncer. La terapia con células T y CAR ha sido aprobada para algunos niños y adultos jóvenes con leucemia. (2017, Octubre 19). Instituto Nacional del Cáncer. [en línea]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2017/tisagenlecleucel-fda-leucemia-infantil>



- [48] M. Gato, T. Liechtenstein, I. Blanco-Luquín, M. I. Zudaire, G. Kochan y D. Escors. "Inmunoterapia genética con células dendríticas para el tratamiento del cáncer," *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 38(2), 279-288, 2015.
- [49] V. K. Kannaujiya, D. Kumar, J. Pathak, and R. P. Sinha, "Phycobiliproteins and Their Commercial Significance," *Cyanobacteria: From Basic Science to Applications*, A. K. Mishra, D. N. Tiwari, and A. N. Rai, Ed. Londres: Academic Press, 2019.
- [50] X. J. Wu, H. Yang, Y. T. Chen, and P. P. Li, "Biosynthesis of Fluorescent β Subunits of C-Phycocyanin from *Spirulina subsalsa* in *Escherichia coli*, and Their Antioxidant Properties," *Molecules*, 23(6), 1369, 2018.
- [51] E. Manirafasha, T. Ndikubwimana, X. Zeng, Y. Lu, and K. Jing. Phycobiliprotein: "Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent". *Biochemical Engineering Journal*, 109, 282-296, 2016.
- [52] B. Fernández-Rojas, J. Hernández-Juárez, and J. Pedraza-Chaverri, "Nutraceutical properties of phycocyanin," *Journal of Functional Foods*, 11, 375-392, 2014.
- [53] X. Q. Wang, L. N. Li, W. R. Chang, J. P. Zhang, L. L. Gui, B. J. Guo et al, "Structure of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* at 2.2 Å resolution: a novel monoclinic crystal form for phycobiliproteins in phycobilisomes," *Acta Crystallographica Section D Biological crystallography*, 57(Pt 6), 784-792, 2001
- [54] N. T. Eriksen, "Production of phycocyanin — a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine," *Applied Microbiology Biotechnology*, 80(1), 1-14, 2008.
- [55] M. Kuddus, P. Singh, G. Thomas, and A. Al-Hazimi, "Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin," *BioMed Research International*, 2013, 742859, 2013.
- [56] C. Nemoto-Kawamura, T. Hirahashi, T. Nagai, H. Yamada, T. Katoh, and O. Hayashi, "Phycocyanin enhances secretory IgA antibody response and suppresses allergic IgE antibody response in mice immunized with antigen-entrapped biodegradable microparticles," *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 50(2), 129-136, 2004.
- [57] Q. Liu, Y. Huang, R. Zhang, T. Cai y Y. Cai, "Medical Application of *Spirulina platensis* Derived C-Phycocyanin," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 7803846, 2016.
- [58] G. Díaz Domínguez, V. Marsán Suárez y L. O. del Valle Pérez, "Principales propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias de la ficobiliproteína C-ficocianina," *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(4), 447-454, 2016.
- [59] Ch. Romay, R. Gonzalez, N. Ledon, D. Remirez, and V. Rimbau, "C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects," *Current Protein and Peptide Science*, 4(3), 207-216, 2003.
- [60] S. Agarwal, G. V. Reddy, and P. Reddanna, "Eicosanoids in inflammation and cancer: the role of COX-2," *Expert Review of Clinical Immunology*, 5(2), 145-165, 2009.
- [61] G. Ding, F. Liu, C. Feng, J. Xu, and Q. Ding, "Asociación entre los polimorfismos de genes de mieloperoxidasa y la susceptibilidad a cáncer de próstata: un estudio caso-control en la población de nacionalidad china," *Actas Urológicas Españolas*, 37(2), 79-82, 2013.
- [62] A. Soni, M. Dubey, M. Verma, R. Dhankhar, V. Kaushal, R. et al, "Revisiting the Role of Phycocyanin in Current Clinical Practice," *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(11), 4588-4600, 2015.
- [63] R. Raja and S. Hemaiswarya, "Microalgae and Immune Potential" *Dietary Components and Immune Function*, R. Watson, S. Zibadi, and V. Preedy, Ed. Nueva Jersey: Humana Press, 2010.
- [64] H. W. Chen, T. S. Yang, M. J. Chen, Y. C. Chang, I. Eugene, C. Wang et al, "Purification and immunomodulating activity of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas". *Process Biochemistry*, 49(8), 1337-1344, 2014.
- [65] L. Jiang, Y. Wang, Q. Yin, G. Liu, H. Liu, Y. Huang et al, "Phycocyanin: A Potential Drug for Cancer Treatment". *Journal of Cancer*, 8(17), 3416-3429, 2017.
- [66] H. Wang, Y. Liu, X. Gao, C. L. Carter, and Z. R. Liu, "The recombinant β subunit of C-phycocyanin inhibits cell proliferation and induces apoptosis," *Cancer letters*, 247(1), 150-158, 2007.
- [67] S. Viñas Domínguez, "Enfermedades de tubulinas," tesis, Universidad de Cantabria, Cantabria, España, 2016.
- [68] A. Iddar, F. Valverde, O. Assobhei, A. Serrano, A. Soukri, "Widespread occurrence of non-phosphorylating glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase among gram-positive bacteria," *International Microbiology*, 8(4), 252-258, 2005.
- [69] M. M. Esparza-Jiménez Morán, "Calpáinas," *Revista Médica MD*, 1(2).

- [70] O. Díaz Horta, "El ion calcio: su regulación y función en la célula β pancreática," *Revista Cubana de Endocrinología*, 14(3), 2003. [Internet]. 2003 [citado 2019 Jun 22]; 14(3).
- [71] M. K. Saini and S. N. Sanyal, "Piroxicam and c-phycocyanin prevent colon carcinogenesis by inhibition of membrane fluidity and canonical Wnt/ β -catenin signaling while up-regulating ligand dependent transcription factor PPAR γ ," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 68(5), 537-550. 2014;68(5):537-50.
- [72] M. K. Saini and S. N. Sanyal, "Targeting angiogenic pathway for chemoprevention of experimental colon cancer using C-phycocyanin as cyclooxygenase-2 inhibitor," *Biochemistry and Cell Biology*, 92(3), 206-218, 2014.
- [73] E. Fernandes e Silva, F. S. Figueira, A. D. Cañedo, K. S. Machado, M. T. S. F. Salgado, T. K. Silva et al, "C-phycocyanin to overcome the multidrug resistance phenotype in human erythroleukemias with or without interaction with ABC transporters," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 532-542, 2018.
- [74] G. Pentón-Rol, J. Marín-Prida, and Falcón-Cama, "C-Phycocyanin and Phycocyanobilin as Remyelination Therapies for Enhancing Recovery in Multiple Sclerosis and Ischemic Stroke: A Preclinical Perspective," *Behavioral Sciences*, 8(1), 15, 2018.
- [75] N. B. Gdara, A. Belgacem, I. Khemiri, S. Mannai, and L. Bitri, "Protective effects of phycocyanin on ischemia/reperfusion liver injuries," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 196-202, 2018.
- [76] M. Ichimura, S. Kato, K. Tsuneyama, S. Matsutake, M. Kamogawa, E. Hirao et al, "Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome," *Nutrition Research*, 33(5), 397-405, 2013.
- [77] X. Li, L. Ma, W. Zheng, and T. Chen, "Inhibition of islet amyloid polypeptide fibril formation by selenium-containing phycocyanin and prevention of beta cell apoptosis," *Biomaterials*, 35(30), 8596-8604, 2014.
- [78] R. J. Fayyad, A. N. M. Ali, A. S. Dwaish, A. K. A. Al-Abboodi, "Anticancer Activity of *Spirulina platensis* Methanolic Extracts Against L20B and MCF7 Human Cancer Cell Lines". *Plant Archives*, 19(Suppl 1), 1419-1426, 2019.