

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 876 437**

51 Int. Cl.:

A61K 38/46 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2015** **PCT/RU2015/000721**
87 Fecha y número de publicación internacional: **04.05.2017** **WO17074211**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2015** **E 15907392 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.05.2021** **EP 3368064**

54 Título: **Uso de una ADNasa para mejorar la seguridad y la eficacia de una quimioterapia anticáncer**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.11.2021

73 Titular/es:

CLS THERAPEUTICS LIMITED (100.0%)
Frances House, Sir William Place, St. Peter Port
Guernsey, Channel Islands, GY1 1GX, GG

72 Inventor/es:

GENKIN, DMITRY DMITRIEVICH;
TETS, GEORGY VIKTOROVICH y
TETS, VIKTOR VENIAMINOVICH

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 876 437 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

Uso de una ADNasa para mejorar la seguridad y la eficacia de una quimioterapia anticáncer

Campo de la invención

5 La invención se refiere al uso de una enzima desoxirribonucleasa (ADNasa) para la prevención o la mejora de la toxicidad asociada con diversos compuestos quimioterapéuticos citostáticos y/o citotóxicos.

Antecedentes de la invención

10 Los cánceres son una causa de muerte muy importante en los seres humanos. Las principales terapias del cáncer en la actualidad son la cirugía, la radiación y la quimioterapia citostática y/o citotóxica. A pesar de los avances en el campo de los tratamiento de quimioterapia, la mayoría de las quimioterapias conocidas están asociadas con efectos secundarios graves, que incluyen mielopatía, hematopatía, trastornos digestivos (por ejemplo, náuseas, vómitos, anorexia, diarrea, estreñimiento), insuficiencia pulmonar, dermatopatía, trastornos del sistema nervioso, trastornos endocrinos, trastornos genitales, trastornos cardiovasculares, hepatopatía, trastorno pancreático, nefropatía, problemas de vejiga, hiperuricemia, disminución de la inmunocompetencia, infecciones, hipersensibilidad a la luz, pérdida de cabello, etc. (2-5). Estos efectos secundarios pueden poner en peligro la vida o son causa de debilidad grave y provocan una significativa morbilidad y mortalidad relacionada con la quimioterapia.

15 Una de las principales complicaciones de la quimioterapia del cáncer son los daños a las células de la médula ósea o la supresión de su función. De modo específico, la quimioterapia daña o destruye a las células precursoras hematopoyéticas que se encuentran principalmente en la médula ósea y el bazo, alterando la producción de nuevas células sanguíneas (granulocitos, linfocitos, eritrocitos, monocitos, plaquetas, etc.). Muchos de los pacientes con 20 cáncer mueren por infecciones u otras consecuencias de una insuficiencia hematopoyética posterior a una quimioterapia. Los agentes quimioterapéuticos también pueden provocar una formación de plaquetas inferior a la normal, lo cual produce una propensión hacia la hemorragia. La inhibición de la producción de eritrocitos puede provocar anemia. En fechas recientes, también se ha reconocido que el desarrollo de terapias citotóxicas más potentes y regímenes de quimioterapia más eficaces para una gama más amplia de malignidades aumenta significativamente la frecuencia de un acontecimiento adverso tóxico grave denominado síndrome de lisis tumoral ("Tumor Lysis Syndrome", TLS) (16). El TLS es un grupo de complicaciones metabólicas que pueden aparecer como resultado de la administración de terapias citotóxicas, lo más a menudo en el contexto de una quimioterapia para linfomas y leucemias, y está provocado por los productos de degradación de las células moribundas.

25 La principal razón por la cual la quimioterapia es tan debilitante y los síntomas son tan graves es que los fármacos quimioterapéuticos a menudo son incapaces de diferenciar entre las células normales sanas y las células tumorales contra las cuales se diseñan. Otro mecanismo responsable de la toxicidad relacionada con la quimioterapia son los efectos tóxicos de los componentes celulares liberados de las células que están sufriendo necrosis o apoptosis como resultado de la muerte celular inducida por la quimioterapia.

30 Los efectos secundarios asociados con los fármacos quimioterapéuticos limitan la frecuencia y la dosificación a las cuales pueden administrarse dichos fármacos, lo cual conduce a una menor eficacia.

35 A medida que ha evolucionado el concepto de quimioterapia citotóxica sistémica, se han dedicado muchos esfuerzos de investigación para identificar posibles estrategias para atenuar la toxicidad relacionada con la quimioterapia y para evitar la suspensión de la exposición del paciente a agentes quimioterapéuticos. Una posibilidad es la dosificación del producto quimioterapéutico y la modulación del programa, que conducen al desarrollo de modalidades de dosificación menos tóxicas (6). Otros han propuesto estrategias relacionadas con la dieta, tales como ayuno o restricción de nutrientes específicos durante y después de la quimioterapia (7); y el suplemento de la dieta del paciente con varios aminoácidos de la dieta específicos (8). El uso de ciertos antidotos metabólicos específicos de fármaco, en particular derivados acilados de uridina o citidina, para la prevención de la toxicidad inducida por análogos de nucleósidos de pirimidina se describe en la patente de EE. UU. n.º 7.776.838. El uso de cromanol glicósido para la prevención de la toxicidad inducida por agentes alquilantes se describe en la patente de EE. UU. n.º 7.462.601. También se ha propuesto el uso de antioxidantes para la prevención de la cardiotoxicidad inducida por antraciclina (9). También se ha descrito la atenuación de la toxicidad específica de tejido de fármacos quimioterapéuticos, en particular, la prevención de la mucositis usando la aplicación tópica de alfa-interferón o beta-interferón (patente de EE. UU. n.º 5.017.371); la prevención de efectos secundarios en el estómago y el intestino usando análogos del péptido 2 similares al glucagón ("glucagon-like-peptide-2", GLP-2) selectivos (patente de EE. UU. n.º 8.642.727); la prevención de daños hepáticos usando un antagonista del receptor de adenosina A2B (patente de EE. UU. n.º 8.188.099), y la prevención de los daños en la próstata usando el inhibidor del factor de crecimiento IGF1 (patente de EE. UU. n.º 8.211.700). El uso de la enzima fosfatasa alcalina para mejorar la toxicidad general de la quimioterapia y para mantener la masa sana de tejido muscular y adiposo en mamíferos que están recibiendo quimioterapia se ha descrito en la patente de EE. UU. n.º 8.460.654.

55 El desarrollo de nuevas composiciones y métodos para prevenir o mejorar la toxicidad relacionada con la quimioterapia es altamente deseable.

Las actuales radioterapias para el tratamiento de cáncer proporcionan beneficios significativos para los pacientes con cánceres de estadio temprano y radiosensibles, pero estos beneficios son mucho menos significativos para pacientes con tumores radiorresistentes (por ejemplo, cánceres cerebrales o de páncreas) y para pacientes con tumores de estadio tardío. Para estos pacientes, la radiación necesaria para erradicar el tumor puede provocar daños por radiación intolerables o mortales. Este es el caso especialmente de los pacientes pediátricos, cuyos tejidos normales que se están desarrollando con rapidez a menudo son más radiosensibles que sus tumores y, por tanto, no pueden tolerar una radioterapia que sería curativa para adultos con la misma enfermedad. Los daños a los tejidos normales limitan el uso de tratamientos de radioterapia para pacientes jóvenes con cáncer, pacientes con cánceres del sistema nervioso central, cánceres radiorresistentes, y cánceres de estadio tardío con tumores muy grandes.

El desarrollo de nuevas composiciones y métodos para prevenir o mejorar la toxicidad relacionada con la radioterapia es altamente deseable.

Sumario de la invención

Tal como se especifica en la sección de antecedentes, en la técnica resulta muy necesario desarrollar nuevas composiciones y métodos para prevenir o mejorar la toxicidad relacionada con la quimioterapia. La presente invención aborda estas y otras necesidades proporcionando composiciones y métodos basados en una enzima ADNasa.

De modo específico, la invención proporciona una enzima ADNasa para su uso en la prevención o la mejora de al menos un efecto secundario de una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, mediante la prevención o la mejora de una toxicidad asociada con dicha quimioterapia.

También se describe un método para aumentar la eficacia de una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha quimioterapia, y en el que la administración de la ADNasa da como resultado la prevención o la mejora de la toxicidad asociada con dicha quimioterapia.

En una realización específica del anterior uso o método, dicho efecto secundario de dicha quimioterapia se selecciona del grupo que consiste en pérdida de peso corporal, toxicidad de la médula ósea, cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre, necrosis miocárdica, toxicidad gastrointestinal, supresión de la inmunidad y neutropenia.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para prevenir o mejorar un estado catabólico que conduce a una pérdida de peso corporal asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar el estado catabólico que conduce a una pérdida de peso corporal asociada con dicha quimioterapia. En una realización específica, la quimioterapia es una terapia que contiene antraciclina.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para prevenir o mejorar una toxicidad de la médula ósea y/o cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre asociados con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar la toxicidad de la médula ósea y/o los cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre asociados con dicha quimioterapia. En una realización específica, la quimioterapia es una terapia que contiene antraciclina.

En otro aspecto, en la presente se describe un método para prevenir o mejorar una cardiotoxicidad asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar la cardiotoxicidad asociada con dicha quimioterapia. En una realización específica, la cardiotoxicidad es la necrosis miocárdica. En una realización específica, la quimioterapia es una terapia que contiene antraciclina.

En otro aspecto, también se describe un método para prevenir o mejorar una toxicidad gastrointestinal asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar la toxicidad gastrointestinal asociada con dicha quimioterapia. En una realización específica, la quimioterapia es una terapia que contiene 5-fluoruracilo y/o etopósido.

5 En otro aspecto, se describe un método para prevenir o mejorar una supresión de la inmunidad asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar la supresión de la inmunidad asociada con dicha quimioterapia. En una realización específica, la quimioterapia es una terapia que contiene taxano.

10 En otro aspecto, se describe un método para prevenir o mejorar una neutropenia asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una neutropenia asociada con dicha quimioterapia. En una realización específica, la quimioterapia es una terapia que contiene ciclofosfamida.

15 En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la quimioterapia comprende la administración de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en antimetabolitos, agentes alquilantes, antibióticos anticáncer, agentes dirigidos a microtúbulos, inhibidores de topoisomerasa, alcaloides y productos terapéuticos de transporte dirigido.

En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la quimioterapia comprende la administración de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en antraciclina, doxorubicina, 5-fluorouracilo (5-FU), etopósido, taxano y ciclofosfamida.

20 En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la enzima ADNasa se administra durante un ciclo de la quimioterapia. En otra realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la enzima ADNasa se administra después de un ciclo de la quimioterapia.

25 También se describe un método para prevenir o mejorar una toxicidad asociada con una terapia de radiación en un sujeto que padece un cáncer y que recibe dicha terapia de radiación, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha terapia de radiación.

30 Se describe un método para aumentar la eficacia de una terapia de radiación en un sujeto que padece un cáncer y que recibe dicha terapia de radiación, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha terapia de radiación, y en el que la administración de la ADNasa da como resultado la prevención o la mejora de la toxicidad asociada con dicha terapia de radiación.

El efecto secundario de la terapia de radiación puede seleccionarse del grupo que consiste en irritación o daños en la piel, fatiga, náuseas, vómitos, fibrosis, daños intestinales, pérdida de memoria, infertilidad y un segundo cáncer.

35 Se describe un método para prevenir o mejorar una pérdida de peso asociada con una terapia de radiación en un sujeto que padece un cáncer y que recibe dicha terapia de radiación, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa, en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una pérdida de peso corporal asociada con dicha terapia de radiación.

La terapia de radiación puede ser una terapia de radiación con un haz externo o una terapia de radioisótopos sistémica.

40 La enzima ADNasa puede administrarse durante un ciclo de la terapia de radiación. La enzima ADNasa puede administrarse después de un ciclo de la terapia de radiación.

45 En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la enzima ADNasa es la ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), o uno de sus análogos (por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2). En otra realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la enzima ADNasa es ADNasa II. En una realización, la enzima ADNasa tiene una semivida extendida (por ejemplo, se conjuga con poli(ácido siálico) o se protege frente a la unión con la actina mediante la modificación del sitio de unión a actina).

50 En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa es al menos 0,5 mg/kg/día o al menos 1000 unidades Kunitz (KU)/kg/día, preferiblemente al menos 1,5 mg/kg/día o al menos 3000 KU/kg/día. En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa es de 0,5 a 100 mg/kg/día o de 1000 a 200000 KU/kg/día, preferiblemente de 0,5 a 50 mg/kg/día o de 1000 a 100000 KU/kg/día, más preferiblemente de 1,5 a 50 mg/kg/día o de 3000 a 100000 KU/kg/día, lo más preferiblemente de 10 a 50 mg/kg/día o de 20000 a 100000 KU/kg/día.

55

En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la enzima ADNasa se administra por vía intravenosa o intraperitoneal. En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, la enzima ADNasa se administra por vía entérica (por ejemplo, por vía oral).

En una realización de cualquiera de los anteriores métodos descritos en la presente, el sujeto es un ser humano.

- 5 Estos y otros aspectos de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción, reivindicaciones y dibujos.

Breve descripción de los dibujos

10 La figura 1 es una gráfica de barras que muestra el área de necrosis miocárdica en ratas muertas expuestas a dosis IV subletales de doxorubicina (7,5 mg/kg) e inyecciones IP diarias de ADNasa I recombinante humana (15 mg/kg) (barra negra) o inyecciones IP diarias de placebo (WFI) (barra rayada en diagonal). Se analizaron muestras de microscopio de miocardio en serie procedentes de cada corazón usando un analizador de vídeo automático para cuantificar las áreas necróticas. Se calculó la suma del área necrótica (S_{an} ; nm²) como la suma de las áreas necróticas en 30 portaobjetos en serie procedentes de cada autopsia de corazón individual (n = 3 para las ratas tratadas con ADNasa I - barra negra; n = 5 para las ratas tratadas con placebo - barra rayada en diagonal).

15 Las figuras 2A-B muestran las fotografías de estómagos teñidos de ratas tratadas con etopósido oral (200 mg/kg) y 5-fluorouracilo (5-FU; 400 mg/kg), seguido de (A) un tratamiento IV con ADNasa I recombinante humana (50 mg/kg) o de (B) placebo IV (WFI). Son visible múltiples erosiones y úlceras en el estómago en el panel (B), mientras que el estómago en el panel (A) no presenta ninguna anomalía macroscópica.

20 La figura 3 es una gráfica que resume la dinámica del recuento de leucocitos ("white blood cell", WBC) en sangre en los tres grupos experimentales, en los que se indujo una neutropenia mediante una única inyección IP de ciclofosfamida (200 mg/kg), seguida de no recibir tratamiento (grupo I) o de un tratamiento IV con ADNasa I recombinante humana (25 mg/kg) (grupo II) o de un tratamiento SC con GM-CSF recombinante humano (200 µg/kg) (grupo III). El eje vertical representa el WBC con unidades de 10⁹ WBC/L. El eje horizontal representa el número de días después de la inyección de ciclofosfamida. La figura demuestra el efecto de mejora del tratamiento de ADNasa sobre la neutropenia inducida por un agente alquilante, tal como ciclofosfamida.

25 La figura 4 es una gráfica de barras que muestra un resumen de los datos de supervivencia para animales trasplantados con células de leucemia L1210 para inducir un cáncer, seguido de un tratamiento con citosina arabinósido (AraC) y/o ADNasa II. Los seis grupos experimentales se representan en el eje horizontal: 1. Control negativo; 2. AraC (control positivo); 3. AraC + ADNasa II (15 mg/kg); 4. AraC + ADNasa II (45 mg/kg); 5. ADNasa II (15 mg/kg); 6. ADNasa II (45 mg/kg). La figura demuestra los efectos sinérgicos del tratamiento con ADNasa y AraC sobre las tasas de supervivencia de ratones con leucemia.

Descripción detallada de la invención

35 Los presentes inventores han demostrado previamente que la enzima desoxirribonucleasa (ADNasa) es un agente útil para tratar el cáncer (véase, por ejemplo, la solicitud de patente de EE. UU. n.º de publicación 2010/0150903, y la patente de EE. UU. n.º 7.612.032), una propiedad que ha sido recientemente confirmada por varios autores (10-12). Sin embargo, también se ha indicado que la ADNasa carece de una influencia significativa sobre la tolerabilidad de una quimioterapia antiproliferativa (15) y que incluso puede contribuir significativamente a aumentar la toxicidad de la quimioterapia (17).

40 La presente invención se basa en un descubrimiento inesperado, realizado por los inventores, que consiste en que las enzimas de ADNasa no solo aumentan la eficacia de una quimioterapia citostática y/o citotóxica, sino que también disminuyen significativamente la toxicidad relacionada con la quimioterapia. Este descubrimiento es especialmente sorprendente a la luz de los informes previos sobre la falta de influencia de la ADNasa sobre la tolerabilidad de la quimioterapia (15) y la contribución de la ADNasa al aumento de la nefrotoxicidad de la quimioterapia (17). La capacidad de la ADNasa para prevenir y/o mejorar la toxicidad relacionada con la quimioterapia es compartida por diferentes tipos de enzimas ADNasas y es independiente de fármaco y de tejido, lo cual hace que las ADNasas sean candidatos potentes y muy deseables para una terapia auxiliar a la quimioterapia. En efecto, tal como se demuestra en la sección de ejemplos que aparece a continuación, pueden usarse diversos tipos de enzimas ADNasas (por ejemplo, ADNasa I, ADNasa gamma, y ADNasa II) para mejorar la toxicidad de dichos tipos diversos de agentes quimioterapéuticos, tales como doxorubicina (antibiótico de antraciclina que actúa intercalándose en el ADN), 5-FU (antimetabolito que actúa a través de la inhibición de la timidilato sintasa), etopósido (inhibidor de topoisomerasa), taxano (disruptor de microtúbulos) y ciclofosfamida (agente alquilante).

Definiciones

La expresión "quimioterapia citostática y/o citotóxica" y el término "quimioterapia" se usan indistintamente en la presente para indicar una terapia que implica la administración de un agente citostático y/o citotóxico.

Las expresiones "agente anticáncer" y "agente quimioterapéutico anticáncer" se usan en la presente para referirse a cualquier compuesto químico que se usa para tratar el cáncer. Los agentes quimioterapéuticos anticáncer son muy conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Gilman A. G., *et al.*, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8ª ed., sec. 12:1202-1263 (1990)). A lo largo de la memoria descriptiva se proporcionan ejemplos específicos de agentes quimioterapéuticos.

La expresión "efecto secundario de una quimioterapia", tal como se emplea en la presente, se refiere a un resultado no deseable y no intencionado, aunque no necesariamente inesperado, de una quimioterapia.

Tal como se emplean en la presente, los términos y la expresión "radioterapia", "terapia de radiación" y "RT" se usan indistintamente para referirse al uso médico de la radiación ionizante como parte del tratamiento de un cáncer para dañar el ADN de las células malignas, de modo directo o creando partículas cargadas dentro de las células afectadas que dañan el ADN. Los tipos de terapia de radiación que se emplean habitualmente incluidos en la presente invención incluyen, por ejemplo, terapia de radiación con haces externa ("external beam radiation therapy", EBRT o XRT), braquiterapia/terapia de radiación de fuente sellada, y terapia de radioisótopos sistémica/radioterapia de fuente no sellada.

Las expresiones "efecto secundario de una radioterapia" o "efecto secundario de una terapia de radiación", tal como se emplean en la presente, se refieren a un resultado no deseable y no intencionado, aunque no necesariamente inesperado, de una terapia de radiación. El efecto secundario que se desarrolla depende del área del cuerpo que se está tratando, de la dosis administrada por día, de la dosis total administrada, de la condición médica general del paciente y de otros tratamientos administrados al mismo tiempo, y puede incluir, por ejemplo, irritación o daños en la piel, fatiga, náuseas, vómitos, fibrosis, daños intestinales, pérdida de memoria, infertilidad o un segundo cáncer.

La expresión "estado catabólico", tal como se emplea en la presente, se refiere a una afección caracterizada por una pérdida rápida de peso y pérdida de masa de grasa y de músculo esquelético que puede aparecer en un entorno de quimioterapia o terapia de quimiorradiación. Los acontecimientos clínicos asociados incluyen, por ejemplo, inmunosupresión, debilidad muscular, predisposición a una embolia pulmonar, tromboflebitis, y respuesta alterada al estrés.

Tal como se emplean en la presente, los términos "desoxirribonucleasa" y "ADNasa" se emplean para referirse a cualquier enzima que cataliza la ruptura hidrolítica de los enlaces fosfodiéster en el esqueleto del ADN. Se conoce una amplia diversidad de desoxirribonucleasas y estas pueden usarse en los métodos descritos en la presente. Los ejemplos no limitantes de ADNasas útiles en los métodos de la presente invención incluyen, por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina, y acetilcolinesterasa. La presente invención también incluye enzimas ADNasas que tienen una semividua extendida (por ejemplo, enzimas ADNasas conjugadas con poli(ácido siálico) o protegidas frente a la unión con la actina mediante la modificación del sitio de unión a actina; véase, por ejemplo, Gibson *et al.* (1992), *J. Immunol. Methods*, 155, 249-256). La ADNasa I rompe al ADN preferentemente en los enlaces fosfodiéster adyacentes a un nucleótido de pirimidina, produciendo polinucleótidos terminados en 5'5'-fosfato con un grupo hidroxilo libre en la posición 3', produciendo en promedio tetranucleótidos. La ADNasa I actúa sobre el ADN monocatenario, el ADN bicatenario y la cromatina.

El término "aproximadamente" significa con un intervalo de error aceptable para el valor concreto, según lo determinan los expertos en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, es decir, las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, "aproximadamente" puede significar dentro de una desviación estándar aceptable, según la práctica en la técnica. Como alternativa, "aproximadamente" puede significar un intervalo de hasta $\pm 20\%$, preferiblemente de hasta $\pm 10\%$, más preferiblemente de hasta $\pm 5\%$, y aún más preferiblemente de hasta $\pm 1\%$ de un valor concreto. Como alternativa, en particular con respecto a sistemas o procesos biológicos, el término puede significar dentro de un orden de magnitud, preferiblemente dentro de 2 veces, de un valor. Cuando se describen valores concretos en la solicitud y las reivindicaciones, a menos que se indique lo contrario, el término "aproximadamente" está implícito y, en este contexto, significa dentro de un intervalo de error aceptable para el valor concreto.

En el contexto de la presente invención, en la medida en que se relacionan con cualquiera de las afecciones de enfermedad mencionadas en la presente, los términos "tratar", "tratamiento" y similares significan aliviar o mitigar al menos un síntoma asociado con dicha afección, o frenar o revertir el avance de dicha afección. Dentro del significado de la presente invención, el término "tratar" también indica detener, retrasar la aparición (es decir, el periodo anterior a la manifestación clínica de una enfermedad) y/o reducir el riesgo de desarrollar o empeorar una enfermedad. Por ejemplo, en conexión con el cáncer, el término "tratar" puede significar eliminar o reducir la carga tumoral de un paciente, o prevenir, retrasar o inhibir la metástasis, etc.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "terapéuticamente eficaz", aplicada a una dosis o cantidad, se refiere a la cantidad de un compuesto o composición farmacéutica que es suficiente para producir una actividad deseada tras su administración a un sujeto que lo necesita. Dentro del contexto de la presente invención, cuando la expresión "terapéuticamente eficaz" se usa en conexión con el uso de una desoxirribonucleasa (ADNasa) para

mejorar o prevenir los efectos secundarios de una quimioterapia citostática y/o citotóxica, se refiere a una cantidad de ADNasa, o una composición farmacéutica que contiene ADNasa, que es eficaz para mejorar o prevenir al menos un efecto secundario de dicha quimioterapia citostática y/o citotóxica. Nótese que cuando se administra una combinación de ingredientes activos (por ejemplo, una combinación de ADNasa y otro compuesto eficaz para mejorar o prevenir los efectos secundarios de una quimioterapia), la cantidad eficaz de la combinación puede incluir o no cantidades de cada ingrediente que serían eficaces si se administrasen de modo individual.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", tal como se emplea en conexión con las composiciones descritas en la presente, se refiere a entidades moleculares y otros ingredientes de dichas composiciones que son fisiológicamente tolerables y generalmente no producen reacciones adversas cuando se administran a un sujeto (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano). Preferiblemente, tal como se emplea en la presente, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal, o listado en la Farmacopea de EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en mamíferos y, más en concreto, en seres humanos.

La expresión "producto terapéutico de transporte dirigido" se emplea para indicar una clase de compuestos químicos y biológicos que pueden ser eficaces en pacientes cuyos cánceres tienen una diana molecular específica, pero pueden no ser eficaces en ausencia de dicha diana (18).

Tal como se emplea en la presente, el término "sujeto" se refiere a cualquier mamífero. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano.

Tal como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "el/la" y "un/una" también incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Según la presente invención, pueden emplearse técnicas de biología molecular y de farmacología convencionales dentro de la técnica. Estas técnicas se explican a fondo en la bibliografía. Véase, por ejemplo, Sambrook, Fritsch y Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York (en la presente, "Sambrook *et al.*, 1989"); *DNA Cloning: A Practical Approach*, Volumes I and II (D.N. Glover ed., 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait ed., 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B.D. Hames y S.J. Higgins, eds. (1985)); *Transcription and Translation* (B.D. Hames y S.J. Higgins, eds. (1984)); *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney, ed. (1986)); *Immobilized Cells and Enzymes* (IRL Press (1986)); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F.M. Ausubel *et al.* (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (1994); entre otros.

30 *Métodos terapéuticos descritos en la presente*

En un aspecto, la descripción proporciona un método para prevenir o mejorar una toxicidad asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha quimioterapia.

En otro aspecto, la descripción proporciona un método para aumentar la eficacia de una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha quimioterapia, y en el que dicha administración de ADNasa da como resultado la prevención o la mejora de la toxicidad asociada con dicha quimioterapia.

Según la presente invención, las enzimas ADNasas pueden usarse para mejorar la toxicidad de una amplia gama de agentes quimioterapéuticos diferentes. Los ejemplos no limitantes de dichos agentes incluyen antimetabolitos, tales como análogos de pirimidina (por ejemplo, 5-fluorouracilo [5-FU], floxuridina, capecitabina, gemcitabina y citarabina) y análogos de purina, antagonistas de folato e inhibidores relacionados (por ejemplo, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina (cladribina)); agentes antiproliferativos/antimitóticos, que incluyen productos naturales, tales como vinca-alcaloides (por ejemplo, vinblastina, vincristina y vinorelbina), disruptores de microtúbulos, tales como taxanos (por ejemplo, paclitaxel, docetaxel), vincristina, vinblastina, nocodazol, epotilonas y navelbina, epididodofilotoxinas (por ejemplo, etopósido, tenipósido), agentes que dañan el ADN (por ejemplo, actinomicina, amsacrina, antraciclinas, bleomicina, busulfano, camptotecina, carboplatino, clorambucilo, cisplatino, nedaplatino, ciclofosfamida, citoxano, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, aclarubicina, purarubicina, hexametilaminaoxalplatina, ifosfamida, melfalano, mercloretamina, mitomicina, mitoxantrona, nitrosourea, nimustina, ranimustina, estramustina, plicamicina, procarbazona, taxol, taxótero, tenipósido, trietilfosforamida y etopósido (VP16)); antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (actinomicina D), daunorubicina,

doxorubicina (adriamicina), idarubicina, antraciclinas, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), pleomicina, peplomicina, mitomicinas (por ejemplo, mitomicina C), actinomicinas (por ejemplo, actinomicina D), zinostatinestimalámero); enzimas (por ejemplo, L-asparaginasa); neocarzinostatina; agentes antiplaquetas; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos, tales como mostazas de nitrógeno (por ejemplo, mecloretamina, ciclofosfamida y análogos, imidazol carboxamida, melfalano, clorambucilo, clorhidrato de mostaza-N-óxido de nitrógeno, ifosfamida), etileniminas y metilmelaminas (por ejemplo, hexametilmelamina, tiotepa, carboquona, trietilentiofosfaramida), sulfonatos de alquilo (por ejemplo, busulfano, tosilato de isoprosulfano), nitrosoureas (por ejemplo, carmustina (BCNU) y análogos, estreptoocina), trazenos-dacarbazina (DTIC); compuestos de tipo epóxido (por ejemplo, mitobronitol); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos, tales como análogos del ácido fólico (por ejemplo, metotrexato); complejos de coordinación de platino (por ejemplo, cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiurea, mitotano, aminoglutetimida; hormonas, análogos de hormonas (por ejemplo, estrógeno, tamoxifeno, goserelina, bicalutamida, nilutamida) e inhibidores de aromatasas (por ejemplo, letrozol, anastrozol); agentes antiseoretos (por ejemplo, breveldina); inmunosupresores (por ejemplo ciclosporina, tacrolimus (FK-506), sirolimus (rapamicina), azatioprina, micofenolato mofetilo); compuestos antiangiogénicos (por ejemplo, TNP-470, genisteína, bevacizumab) e inhibidores del factor de crecimiento (por ejemplo, inhibidores del factor de crecimiento de fibroblastos ("fibroblast growth factor", FGF)); bloqueantes del receptor de angiotensina; donantes de ácido nítrico; oligonucleótidos antisentido; anticuerpos (por ejemplo, trastuzumab); inhibidores del ciclo celular e inductores de la diferenciación (por ejemplo, tretinoína); inhibidores de mTOR, inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, doxorubicina (adriamicina), amsacrina, camptotecina, daunorubicina, dactinomicina, enipósido, epirubicina, etopósido, idarubicina, mitoxantrona, topotecano, irinotecano); inhibidores de la quinasa de transducción de señales del factor de crecimiento; inductores de la disfunción mitocondrial; disruptores de cromatina; sobuzoxana; tretinoína; pentostatina; flutamida; porfímero natrio; fadrozol; procarbazona; aceglatona; compuestos de radioinmunoterapia (RIT) (por ejemplo, ibritumomab tiuxetano, yodo (¹³¹I) tositumomab); y compuestos de terapia de radionúclidos dirigida ("targeted radionuclide therapy", TRT) (por ejemplo, samario-153-EDTMP, estroncio-89-cloruro).

Los ejemplos no limitantes de efectos secundarios de una quimioterapia citostática y/o citotóxica que pueden prevenirse o mejorarse mediante la administración de enzimas ADNasas según los métodos descritos en la presente incluyen, por ejemplo, toxicidad de la médula ósea, neutropenia, mielopatía (por ejemplo, leucopenia, granulocitopenia, linfopenia, trombocitopenia, eritropenia); hematopatía (por ejemplo, fibrinogenopenia del plasma); cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre; trastornos gastrointestinales (por ejemplo, náuseas, vómitos, anorexia, pérdida de peso corporal, sensación pesada en el estómago, diarrea, estreñimiento, estomatitis, esofagitis); insuficiencia pulmonar (por ejemplo, neumonía crónica, fibrosis de pulmón, ARDS, ALS, émbolos en el pulmón); dermatopatía (por ejemplo, queratinización, paquimelia, cromatosis, epilación, sarpullido, alteración de las uñas, alopecia inducida por cáncer); trastornos del sistema nervioso (por ejemplo, parestesia, depresión, areflexia profunda, neuroparálisis, trastornos auditivos, alolalia, desorientación, manifestación neurológica, ataxia cerebelar, somnolencia, coma, vértigo, micción frecuente, deseo de defecación frecuente); trastornos endocrinos (por ejemplo, trastorno de la pituitaria, trastorno adrenal, hiperglucemia, hipoglucemia); trastornos genitales (por ejemplo, hiposexualidad, oligospermia, ginecomastia, trastorno menstrual); trastornos cardiovasculares (por ejemplo, necrosis miocárdica, cardiomiopatía, arritmia, presión sanguínea baja, taquicardia, insuficiencia cardíaca); hepatopatía, trastorno pancreático, nefropatía, problemas en la vejiga, hiperuricemia, disminución de la inmunocompetencia e infección.

También se describe un uso para prevenir o mejorar una toxicidad asociada con una terapia de radiación en un sujeto que padece un cáncer y que recibe dicha terapia de radiación, comprendiendo dicho uso administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha terapia de radiación.

También se describe un uso para aumentar la eficacia de una terapia de radiación en un sujeto que padece un cáncer y que recibe dicha terapia de radiación, comprendiendo dicho uso administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar al menos un efecto secundario de dicha terapia de radiación, y en el que dicha administración de ADNasa da como resultado la prevención o la mejora de la toxicidad asociada con dicha terapia de radiación.

Las enzimas ADNasas pueden usarse para mejorar la toxicidad y aumentar la eficacia de diversos tipos de terapia de radiación que incluyen, por ejemplo, terapia de radiación con haces externa (EBRT o XRT), braquiterapia/terapia de radiación de fuente sellada, y terapia de radioisótopos sistémica/radioterapia de fuente no sellada.

Los ejemplos no limitantes de efectos secundarios de la radioterapia que pueden prevenirse o mejorarse mediante la administración de las enzimas ADNasas incluyen, por ejemplo, irritación o daños en la piel, fatiga, náuseas, vómitos, fibrosis, daños intestinales, pérdida de memoria, infertilidad y un segundo cáncer.

Los métodos descritos en la presente pueden usarse en sujetos que padecen una amplia gama de cánceres, en los que dichos sujetos se someten a tratamientos quimioterapéuticos anticáncer que producen efectos secundarios perjudiciales. Los ejemplos no limitantes de cánceres pertinentes incluyen, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de próstata, mieloma múltiple, carcinoma de células de transición, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico ("non-small cell lung cancer", NSCLC)), cáncer renal, cáncer de tiroides, leucemia (por ejemplo, leucemia mieloide crónica, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia linfocítica aguda), linfoma (por ejemplo, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma no hodgkiniano, linfoma de Hodgkin), cáncer de cabeza y cuello, cáncer esofágico, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer intestinal, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer del conducto biliar, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de ovario, cáncer endometrial uterino, cáncer vaginal, cáncer cervical, cáncer de vejiga, neuroblastoma, sarcoma, osteosarcoma, melanoma maligno, cáncer de células escamosas, cáncer de hueso, que incluye cánceres de hueso primarios (por ejemplo, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, adamantinoma, tumor de células gigantes, y cordoma) y cánceres de hueso secundarios (metastásicos), sarcoma del tejido blando, carcinoma de células basales, angiosarcoma, hemangiosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, sarcoma osteogénico, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, cáncer testicular, cáncer uterino, cáncer gastrointestinal, mesotelioma, leiomiomasarcoma, rhabdomyosarcoma, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, macroglobulinemia de Waldenström, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, retinoblastoma, carcinoma medular, timoma, sarcoma, etc.

En una realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar un estado catabólico que conduce a pérdida de peso corporal asociado con una quimioterapia citostática y/o citotóxica (por ejemplo, terapia con doxorubicina) en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar un estado catabólico que conduce a pérdida de peso corporal asociado con dicha quimioterapia.

En otra realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar la toxicidad de la médula ósea y/o cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre asociados con una quimioterapia citostática y/o citotóxica (por ejemplo, terapia con doxorubicina) en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar la toxicidad de la médula ósea y/o cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre asociados con dicha quimioterapia.

En otra realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar una cardiotoxicidad (por ejemplo, necrosis miocárdica) asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica (por ejemplo, terapia con doxorubicina) en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una cardiotoxicidad asociada con dicha quimioterapia.

En otra realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar una toxicidad gastrointestinal asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica (por ejemplo, quimioterapia de combinación de 5-fluorouracilo/etopósido) en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una toxicidad gastrointestinal asociada con dicha quimioterapia.

En otra realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar una supresión de la inmunidad asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica (por ejemplo, terapia con taxano) en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una supresión de la inmunidad asociada con dicha

quimioterapia.

5 En otra realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar una neutropenia asociada con una quimioterapia citostática y/o citotóxica (por ejemplo, terapia con ciclofosfamida) en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una neutropenia asociada con dicha quimioterapia.

10 En otra realización, se proporciona un método para prevenir o mejorar una pérdida de peso corporal asociada con una terapia de radiación en un sujeto que padece un cáncer y que recibe dicha terapia de radiación, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa (por ejemplo, ADNasa I (por ejemplo, ADNasa I recombinante humana o ADNasa I pancreática bovina), análogos de la ADNasa I (tales como, por ejemplo, ADNasa X, ADNasa gamma, o ADNS1L2), ADNasa II, fosfodiesterasa I, lactoferrina o acetilcolinesterasa), en el que dicha cantidad de la enzima ADNasa es eficaz para prevenir o mejorar una pérdida de peso corporal asociada con dicha terapia de radiación.

15 En una realización de cualquiera de los anteriores métodos, la cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa es al menos 0,5 mg/kg/día o al menos 1000 unidades Kunitz (KU)/kg/día, preferiblemente al menos 1,5 mg/kg/día o al menos 3000 KU/kg/día. En una realización de cualquiera de los anteriores métodos, la cantidad terapéuticamente eficaz de una enzima ADNasa es de 0,5 a 100 mg/kg/día o de 1000 a 200000 KU/kg/día, preferiblemente de 0,5 a 50 mg/kg/día o de 1000 a 100000 KU/kg/día, más preferiblemente de 1,5 a 50 mg/kg/día o de 3000 a 100000 KU/kg/día, lo más preferiblemente de 10 a 50 mg/kg/día o de 20000 a 100000 KU/kg/día.

En una realización de cualquiera de los métodos descritos en la presente, el sujeto es un ser humano.

Métodos para administrar la ADNasa y las composiciones de ADNasa

25 En los métodos descritos en la presente, una enzima ADNasa puede administrarse antes, durante y/o después de la administración de un agente quimioterapéutico, o durante o después de la administración de una terapia de radiación. Preferiblemente, (i) una enzima ADNasa y un agente quimioterapéutico (o una terapia de radiación) se administran al mismo tiempo y/o (ii) una enzima ADNasa se administra poco tiempo después de la administración de un agente quimioterapéutico (o una terapia de radiación). La ADNasa puede administrarse al paciente de una vez o a lo largo de una serie de tratamientos; una o varias veces diarias.

30 Las dosis de ADNasa útiles en los métodos descritos en la presente dependen del tipo de efectos secundarios de la quimioterapia o terapia de radiación que se van a tratar, la gravedad y el curso de estos efectos secundarios, cualquier terapia previa, la historia clínica y la respuesta a la quimioterapia (o la terapia de radiación) del paciente y la ADNasa, así como del criterio del médico encargado. Los ejemplos no limitantes de intervalos de dosificación útiles incluyen de 0,5 a 100 mg/kg/día o de 1000 a 200000 KU/kg/día, preferiblemente de 0,5 a 50 mg/kg/día o de 1000 a 100000 unidades Kunitz (KU)/kg/día, más preferiblemente de 1,5 a 50 mg/kg/día o de 3000 a 100000 KU/kg/día, lo más preferiblemente de 10 a 50 mg/kg/día o de 20000 a 100000 KU/kg/día.

40 La administración de una enzima ADNasa según los métodos descritos en la presente puede realizarse a través de cualquier vía adecuada, que incluye la administración sistémica, así como la administración directamente al sitio de la enfermedad (por ejemplo, a un tumor primario). Los ejemplos no limitantes específicos de vías de administración útiles incluyen la vía intravenosa (IV), subcutánea (SC), intraperitoneal (IP), oral, o mediante inhalación.

En ciertas realizaciones, una enzima ADNasa se formula en una composición farmacéutica con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 Las formulaciones usadas en los métodos descritos en la presente pueden presentarse de modo conveniente en una forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica. La cantidad de los ingredientes activos que puede combinarse con un material de vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo del huésped que se está tratando y del modo de administración concreto. La cantidad de los ingredientes activos que puede combinarse con un material de vehículo para producir una única forma de dosificación, en general, será la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico.

50 En general, las formulaciones pueden prepararse con un vehículo líquido o un vehículo sólido finalmente dividido, o ambos, y después, si es necesario, dando forma al producto.

55 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral pueden comprender uno o más ingredientes activos (una ADNasa y, opcionalmente, otro compuesto eficaz para mejorar o prevenir efectos secundarios de una quimioterapia citostática y/o citotóxica o una terapia de radiación) en combinación con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse para formar disoluciones o suspensiones inyectables estériles justo antes del uso, que pueden contener antioxidantes, tampones,

bacteriostatos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, o agentes suspensores o espesantes. Los ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la descripción incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y sus mezclas adecuadas, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Puede mantenerse una fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener conservantes, agentes humectantes, agentes emulgentes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede resultar deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares, en las composiciones. Además, puede lograrse una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

Pueden prepararse formas de depósitos de liberación lenta ("depot") inyectables formando matrices de microencapsulación de uno o más ingredientes activos en polímeros biodegradables, tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la proporción de ingrediente activo a polímero y de la naturaleza del polímero concreto empleado, puede controlarse la tasa de liberación del ingrediente activo. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables en depot también se preparan atrapando los ingredientes activos en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Las formulaciones para la administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, polvos, gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso (por ejemplo, como un colutorio, como una composición para ser ingerida, o como un enema), o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite y similares, y cada una contiene una cantidad predeterminada de uno o más ingredientes activos.

En las formas de dosificación sólidas para la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), uno o más ingredientes activos pueden mezclarse con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o cualquiera de los siguientes: (1) cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) ligantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina; (6) acelerantes de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y sus mezclas; y (10) agentes colorantes. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina de relleno duro y blando usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Las suspensiones, además de uno o más ingredientes activos, pueden contener agentes suspensores, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol, y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y sus mezclas.

Los polvos y los pulverizados pueden contener, además de uno o más ingredientes activos, excipientes, tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio, y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizados pueden contener además propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos no sustituidos volátiles, tales como butano y propano.

Ejemplos

La presente invención también se describe y se demuestra mediante los siguientes ejemplos. Sin embargo, el uso de estos y otros ejemplos en cualquier parte de la memoria descriptiva solo es ilustrativo y no limita de ninguna manera el alcance y el significado de la invención.

Ejemplo 1: Mejora de la toxicidad aguda de doxorubicina en ratas

Materiales y métodos

Se usaron 42 ratas Wistar macho (180-200 g) en este experimento (obtenidas del criadero Stolbovaya de la Academia Rusa de Ciencias Médicas). Los animales se mantuvieron en condiciones convencionales con acceso

libre al alimento y al agua para beber. Los animales se aleatorizaron en 7 grupos (6 animales en cada grupo) como sigue:

1. Grupo I: grupo control (sin doxorubicina, sin ADNasa);
- 5 2. Grupo II: animales tratados mediante inyecciones intravenosas (IV) diarias de doxorubicina (LENS) a una dosis de 3,75 mg/kg/día durante 5 días, más inyecciones intraperitoneales (IP) diarias de ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 15 mg/kg/día (30000 KU/kg/día); las inyecciones de doxorubicina y de ADNasa I se administraron al mismo tiempo;
- 10 3. Grupo III: animales tratados mediante inyecciones IV diarias de doxorubicina (LENS) a una dosis de 3,75 mg/kg/día durante 5 días, más inyecciones IP diarias de placebo (agua para inyección, "water for injection", [WFI]);
- 15 4. Grupo IV: animales tratados mediante inyecciones IV diarias de doxorubicina (LENS) a una dosis de 7,5 mg/kg/día durante 5 días, más inyecciones IP diarias de ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 15 mg/kg/día (30000 KU/kg/día); las inyecciones de doxorubicina y de ADNasa I se administraron al mismo tiempo;
- 20 5. Grupo V: animales tratados mediante inyecciones IV diarias de doxorubicina (LENS) a una dosis de 7,5 mg/kg/día durante 5 días, más inyecciones IP diarias de placebo (WFI);
6. Grupo VI: animales tratados mediante inyecciones IV diarias de doxorubicina (LENS) a una dosis de 10,0 mg/kg/día durante 5 días, más inyecciones IP diarias de ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 15 mg/kg/día (30000 KU/kg/día); las inyecciones de doxorubicina y de ADNasa I se administraron al mismo tiempo;
7. Grupo VII: animales tratados mediante inyecciones IV diarias de doxorubicina (LENS) a una dosis de 10,0 mg/kg/día durante 5 días, más inyecciones IP diarias de placebo (WFI).

Los animales se controlaron durante 2 semanas desde el comienzo del experimento para la supervivencia y el peso.

Resultados

Tabla 1: Datos de supervivencia de los animales entre diferentes grupos experimentales

Grupo	I	II	III	IV	V	VI	VII
Número de muertos/número total en el grupo	0/6	1/6	3/6	3/6	5/6	6/6	6/6
Mediana de la supervivencia de las ratas muertas (en días)	-	7	12 ± 2,1	10,3 ± 1,4	8,2 ± 1,0	6,2 ± 1,0	6,6 ± 0,9

25 Los resultados resumidos en la tabla 1 demuestran que la ADNasa suprime la letalidad de la doxorubicina y aumenta la duración de la vida de ratas expuestas a dosis subletales de doxorubicina. La supresión de la letalidad, medida como el número de animales supervivientes, se produjo de una manera dependiente de la dosis.

30 Tabla 2: Peso corporal de las ratas supervivientes (en gramos) después de la administración de doxorubicina a una dosis de 3,75 mg/kg, medido antes de la administración de doxorubicina y en los días 4, 7, y 14 del tratamiento

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Línea de base	167 ± 4	168 ± 4	164 ± 6
Día 4	165 ± 5	160 ± 6	143 ± 6
Día 7	172 ± 4	158 ± 5	151 ± 7
Día 14	175 ± 4	164 ± 6	156 ± 6

Los resultados resumidos en la tabla 2 demuestran que un tratamiento con ADNasa mejora la pérdida de peso corporal en ratas que sobrevivieron a una exposición aguda de doxorubicina a la dosis DL₅₀ de 3,75 mg/kg.

35 Tabla 3: Datos de recuento de células sanguíneas y bioquímica de la sangre de las ratas supervivientes después de la administración de doxorubicina a una dosis de 3,75 mg/kg en el día 14 del tratamiento.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Hemoglobina, G %	13,5 ± 0,5	11,9 ± 0,4	9,5 ± 0,7
Hematocrito, %	42,2 ± 2,1	37,5 ± 2,0	30,5 ± 2,2
Eritrocitos, 10 ¹² /L	7,8 ± 0,2	6,8 ± 0,2	5,7 ± 0,4
Recuento de sedimentación de eritrocitos, mm/h	4,4 ± 0,3	16,5 ± 0,8	24,1 ± 4,5
Plaquetas, 10 ⁹ /L	540 ± 25	440 ± 25	340 ± 25
Leucocitos, 10 ⁹ /L	7,7 ± 0,4	6,0 ± 0,3	4,9 ± 0,2
Neutrófilos segmentados, %	29,6 ± 1,3	13,5 ± 1,0	11,6 ± 1,3
Basófilos, %	0	0	0
Eosinófilos, %	0	0	2,4 ± 0,3
Monocitos, %	2,7 ± 0,5	2,9 ± 0,4	2,3 ± 0,5
Linfocitos, %	63,4 ± 1,7	80,3 ± 1,4	82,3 ± 2,2
Células plasmáticas, %	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	1,3 ± 0,5
Proteína, g/L	74,2 ± 4,3	64,3 ± 5,2	54,7 ± 7,3
Urea, mmol/L	4,12 ± 0,21	5,39 ± 0,40	7,21 ± 0,3
Creatinina, μmol/L	54,7 ± 6,2	65,5 ± 7,2	68,3 ± 8,4
Glucosa, mmol/L	6,8 ± 0,1	5,9 ± 0,2	6,1 ± 0,2
Lípidos totales, g/L	2,22 ± 0,20	2,12 ± 0,21	2,06 ± 0,27
Colesterol total, mmol/L	1,32 ± 0,30	1,69 ± 0,18	1,10 ± 0,29
Bilirrubina total, mmol/L	8,9 ± 0,3	9,5 ± 0,5	8,2 ± 0,6
Bilirrubina unida, mmol/L	2,0 ± 0,4	2,6 ± 0,3	2,0 ± 0,5
Na, mmol/L	142 ± 3	151 ± 4	144 ± 2
K, mmol/L	5,2 ± 0,2	5,1 ± 0,3	5,6 ± 0,3

Los resultados resumidos en la tabla 3 demuestran que un tratamiento con ADNasa mejora la toxicidad de la médula ósea y los cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre en ratas que sobrevivieron a una exposición aguda de doxorubicina a la dosis DL₅₀ de 3,75 mg/kg.

- 5 Los corazones de las ratas muertas que fueron expuestas a dosis subletales de doxorubicina (7,5 mg/kg) de los grupos IV y V se sometieron a una autopsia. Se analizaron muestras de microscopio de miocardio en serie de cada corazón usando un analizador de vídeo automático para cuantificar las áreas necróticas. Se calculó la suma del área necrótica (S_{an} ; nm²) como la suma de las áreas necróticas en 30 portaobjetos en serie procedentes de cada autopsia de corazón individual (n = 3 para el grupo IV (figura 1, barras negras); n = 5 para el grupo V (figura 1, barras rayadas en diagonal)). El grupo IV recibió inyecciones IP diarias de ADNasa I recombinante humana a una dosis de 15 mg/kg, mientras que el grupo V recibió inyecciones IP diarias de placebo (WFI).

Los resultados presentados en la figura 1 demuestran que un tratamiento con ADNasa disminuye el área de necrosis miocárdica en ratas expuestas a dosis subletales de doxorubicina.

Ejemplo 2: Mejora de la toxicidad gastrointestinal de una quimioterapia de combinación de 5-fluorouracilo/etopósido

15 *Materiales y métodos*

Se usaron 64 ratas Wistar macho (170-200 g) en este experimento (obtenidas del criadero Stolbovaya de la Academia Rusa de Ciencias Médicas). Los animales se mantuvieron en condiciones convencionales con acceso libre al alimento y al agua para beber. En el día 1, se administraron etopósido (LANCER) 200 mg/kg y 5-fluorouracilo

(5-FU; EBEWE) 400 mg/kg por vía oral con una aguja de alimentación en 500 µl de una disolución de glucosa al 9 %. Los animales se dividieron en 4 grupos de 16 ratas cada uno. Dos horas después de la exposición a etopósido/5-FU, las ratas se trataron como sigue:

1. Grupo I: IV placebo (WFI);
- 5 2. Grupo II: ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 1,5 mg/kg (3000 KU/kg) IV;
3. Grupo III: ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 50 mg/kg (100000 KU/kg) IV;
4. Grupo IV: disolución de cimetidina (Gedeon Richter) a una dosis de 50 mg/kg IV.

Treinta y seis horas después, todos los animales recibieron eutanasia y sus estómagos se retiraron y se analizaron para la presencia de erosiones y hemorragias usando un sistema de analizador de vídeo automático.

10 Resultados

Tabla 4: Efectos de la administración de ADNasa I o cimetidina sobre las lesiones gastrointestinales en animales tratados con etopósido 200 mg/kg y 5-FU 400 mg/kg

Gr.	Número de animales	Quimioterapia	Tratamiento	Número total de lesiones por grupo	Mediana del número de lesiones	Número de animales sin lesiones
I	16	Etopósido 200 mg/kg + 5-FU 400 mg/kg per os	Placebo	86	5,38 ± 1,41	4 (25 %)
II	16	Etopósido 200 mg/kg + 5-FU 400 mg/kg per os	rHuADNasa I 1,5 mg/kg IV	60	3,75 ± 1,53	5 (31,25 %)
III	16	Etopósido 200 mg/kg + 5-FU 400 mg/kg per os	rHuADNasa I 50 mg/kg IV	16	1,00 ± 0,69	12 (75 %)
IV	16	Etopósido 200 mg/kg + 5-FU 400 mg/kg per os	Cimetidina 50 mg/kg IV	40	2,5 ± 0,1	10 (62,5 %)

15 Los resultados resumidos en la tabla 4 demuestran que la ADNasa suprime la ulceración inducida por la quimioterapia y aumenta el número de animales sin erosiones gastrointestinales de una manera dependiente de la dosis en animales tratados con etopósido y 5-FU. La dosis de ADNasa I de 50 mg/kg fue significativamente superior en términos de protección lograda, en comparación con la dosis de 1,5 mg/kg de ADNasa I y la dosis de 50 mg/kg de cimetidina.

20 La figura 2 muestra el estómago teñido de una rata procedentes del grupo III (A) y una rata procedente del grupo I (B). Son visibles múltiples erosiones y úlceras en el estómago del animal del grupo I, mientras que el estómago del animal del grupo III no presenta ninguna anomalía macroscópica.

Ejemplo 3: Mejora de la supresión de la inmunidad inducida por taxano

Materiales y métodos

25 A 10 ratones F1 de 6 semanas macho (CBAxC57B16) (obtenidos del animalario Rappolovo) se les suministró una única dosis de 20 mg/kg de paclitaxel (Paclitaxel-Teva) IV. Un grupo de 5 ratones tratados con paclitaxel recibieron una inyección IP 1 hora después de ADNasa gamma de ratón recombinante (USCN Life Science Inc.) a una dosis de 2 mg/kg IP. Un grupo de 5 ratones no tratados recibieron una inyección IP al mismo tiempo con 1 ml de placebo (WFI) para actuar como control. Todos los ratones se sacrificaron 24 horas después mediante dislocación cervical.

30 Se recogieron los timos de cada grupo y se homogeneizaron en un separador en medio RPMI 1640 suplementado con suero de ternero fetal al 10 %. La suspensión de los timocitos se filtró y se sedimentó en una centrífuga a 400 x g durante 2 minutos, y después se resuspendió con el mismo medio. Los timocitos se cultivaron en placas de 96 pocillos (900.000 células por pocillo en 200 µl de RPMI 1640 suplementado con suero de ternero fetal ("fetal calf serum", FCS) al 10 %) y se incubaron durante 32 horas a 37 °C, 100 % de humedad y una atmósfera de 5 % de CO₂. Después, cada pocillo se suplementó con ³H timidina (1 µCi/10 µl/pocillo) y concanavalina A (ConA; 50 µl; 1,25 µg/ml).

35 Después de 24 horas de incubación posterior, los timocitos se recolectaron y se secaron. Se midió la incorporación de ³H timidina marcada usando un contador de centelleo Beckman. Los datos sobre la transformación de blastos de linfocitos inducida por Con A se resumen en la siguiente tabla 5.

Resultados

Tabla 5: Efecto de la ADNasa gamma sobre la transformación de blastos de linfocitos inducida por Con A

Grupo	Recuentos de centelleo; CPM	
	Incorporación de $^3\text{H-T}$ basal	Incorporación de $^3\text{H-T}$ inducida por Con A
Control	641 \pm 62	7894 \pm 1067
Paclitaxel	277 \pm 21	1686 \pm 142
Paclitaxel + ADNasa	357 \pm 25	5237 \pm 1232

Los resultados resumidos en la tabla 5 demuestran que la ADNasa mejora la supresión de la actividad proliferativa de timocitos inducida por taxano.

5 Ejemplo 4: Mejora de la neutropenia inducida por ciclofosfamida

Materiales y métodos

Se usaron 30 ratones BALB/C hembra de 10-12 semanas (obtenidos del animalario Rappolovo) en este experimento. Los animales se mantuvieron en condiciones convencionales con acceso libre al alimento y al agua para beber. En el día 1, se indujo una neutropenia mediante una única inyección IP de ciclofosfamida 200 mg/kg (Cyclophosphanum-LANS) en 200 μl de WFI. Comenzando en el día 2, los ratones después se trataron como sigue:

1. Grupo I (n = 10): control (sin tratamiento);
2. Grupo II (n = 10): los animales se trataron con ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 25 mg/kg/día (50000 KU/kg/día) inyectada IV en los días 2-5;
3. Grupo III (n = 10): los animales se trataron con GM-CSF recombinante humano (Neostim, Pharmsynthez OJSC) a una dosis de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ inyectada por vía subcutánea (SC) en los días 2-5.

Se controló el recuento de leucocitos ("white blood cell", WBC) en cada animal a diario durante el experimento de 10 días usando un contador de células sanguíneas.

Resultados

La gráfica en la figura 3 resume la dinámica del recuento de leucocitos (WBC) en los tres grupos experimentales. El eje vertical representa el WBC con unidades de 10^9 WBC/L. El eje horizontal representa el número de días después de la inyección de ciclofosfamida.

Los resultados en la figura 3 demuestran que la ADNasa mejora la neutropenia inducida por un agente alquilante, tal como ciclofosfamida. Resulta de particular importancia que el tratamiento con ADNasa previene la típica disminución del recuento de WBC en la fase temprana, mientras que el tratamiento con GM-CSF no es capaz de prevenirla.

25 Ejemplo 5: Sinergia entre un tratamiento con ADNasa y una quimioterapia anticáncer

Materiales y métodos

Para evaluar una posible sinergia del uso combinado de una ADNasa y el agente quimioterapéutico de análogo de nucleósido citosina arabinósido (AraC), se trasplantaron ratones DBA2 (8-10 semanas; 24-26 g; obtenidos del animalario Rappolovo) IP con células de leucemia L1210 (1×10^5 células por ratón; las células se obtuvieron del Instituto Petrov de la colección de oncología) en el día 0 para inducir cáncer. El tratamiento con ADNasa y AraC se inició en el día 1 del experimento. Se inyectó citosina arabinósido (AraC; Cytosar; Pfizer) IP a una dosis de 1000 mg/kg en los días 2, 5 y 8. Las dosis inyectadas se consideraron adecuadas para el modelo y la vía de inyección basándose en experimentos previos (13-14). La ADNasa II (Wornington) se inyectó IP a unas dosis de 15 mg/kg/día y 45 mg/kg/día en los días 1, 3, 5, 8, 10, 12, 15, 17 y 19.

35 Los animales se aleatorizaron en 6 grupos experimentales de 6 ratones por grupo como sigue:

1. Grupo I: control negativo (sin tratamiento);
2. Grupo II: control positivo (animales tratados con AraC);
3. Grupo III: animales tratados con AraC y 15 mg/kg de ADNasa;
4. Grupo IV: animales tratados con AraC y 45 mg/kg de ADNasa;

5. Grupo V: animales tratados con 15 mg/kg de ADNasa, sin AraC;

6. Grupo VI: animales tratados con 45 mg/kg de ADNasa, sin AraC.

Resultados

5 Los datos de supervivencia se resumen en la figura 4. El eje vertical de la figura 4 representa la supervivencia medida en días después de la implantación de las células de leucemia L1210. Los seis grupos experimentales se representan en el eje horizontal: 1- control negativo; 2- AraC (control positivo); 3- AraC + ADNasa II 15 mg/kg; 4- AraC + ADNasa II 45 mg/kg; 5- ADNasa II 15 mg/kg; 6- ADNasa II 45 mg/kg.

10 Los resultados resumidos en la figura 4 demuestran que el tratamiento con AraC únicamente (grupo II) y ADNasa II únicamente (grupos V y VI) provoca unas tasas de supervivencia mejores frente a los ratones no tratados (grupo I). Sin embargo, la combinación de AraC y ADNasa da como resultado una ventaja de supervivencia clara frente a cualquiera de los tratamientos individuales. El efecto sinérgico del tratamiento de combinación sobre las tasas de supervivencia depende de la dosis con dosis crecientes de ADNasa.

Ejemplo 6: Un tratamiento con ADNasa aumenta la eficacia y disminuye la toxicidad de una radioterapia del cáncer

Materiales y métodos

15 Para evaluar una posible sinergia del uso combinado de una ADNasa y una terapia de radiación, se trasplantaron 60 ratones SHR (12-14 semanas; 28-32 g; obtenidos del animalario Rappolovo) IP con células de carcinoma de Erlich (1×10^6 células por ratón; las células se obtuvieron del Instituto Petrov de la colección de oncología) en el día 0 para inducir el crecimiento de un tumor de ascitis. La radioterapia se realizó usando una máquina de teleterapia de cobalto-60. Los campos abdominales de los ratones se trataron mediante irradiación externa. El fraccionamiento fue de 200 cGy por día durante 5 días. Los ratones se dividieron en 6 grupos que se trataron como sigue: Grupo 1: solo radioterapia (irradiación externa de 200 cGy por día durante 5 días); Grupo 2: ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez) 20 mg/kg/día administrados por vía intramuscular en 2 dosis diarias; Grupo 3: ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez) 40 mg/kg/día administrados por vía intramuscular en 2 dosis diarias; Grupo 4: radioterapia (irradiación externa de 200 cGy por día durante 5 días) más ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez) 20 mg/kg/día administrados por vía intramuscular en 2 dosis diarias; Grupo 5: radioterapia (irradiación externa de 200 cGy por día durante 5 días) más ADNasa I recombinante humana (Pharmsynthez) 40 mg/kg/día administrados por vía intramuscular en 2 dosis diarias. El grupo 6 fue un grupo control que recibió placebo (agua para inyección).

Resultados

30 En la tabla 6 se resumen la supervivencia de los animales y la dinámica del peso corporal en el día 16 después del trasplante del carcinoma de Erlich.

Tabla 6

Grupo experimental	% de supervivencia en el día 16	Cambio en la mediana del peso corporal en el día 16
Grupo 1	40	-3 g
Grupo 2	40	+2 g
Grupo 3	50	+1,5 g
Grupo 4	80	0
Grupo 5	100	+1,5 g
Grupo 6	0	+5,5 g

35 Los resultados resumidos en la tabla 6 demuestran que un tratamiento con terapia de radiación únicamente (grupo I) y ADNasa I únicamente (grupos 2 y 3) produce unas tasas de supervivencia mejores frente a los ratones no tratados (grupo 6). Sin embargo, la combinación de terapia de radiación y ADNasa da como resultado una ventaja de supervivencia clara frente a cualquiera de los tratamientos individuales. El efecto sinérgico del tratamiento de combinación sobre las tasas de supervivencia depende de la dosis con dosis crecientes de ADNasa. El tratamiento con ADNasa también previene claramente la pérdida de peso corporal inducida por la radioterapia.

40 Referencias bibliográficas

1. Joshi *et al.*, 2007, J. Neurosci. Res., 85:497-503.

2. Curigliano G. *et al.*, *Ann Oncol.*, 2012, 23, supl. 7, vii155-vii166.
3. Syvak L.A. *et al.*, *Lik Sprava*, 2012, (3-4):25-30.
4. Verstappen C.C. *et al.*, *Drugs*, 2003, 63(15):1549-1563.
5. Lyman G.H. *et al.*, *Oncology (Williston Park)*, 2006, 20(14, supl. 9):16-25.
- 5 6. Romiti A. *et al.*, *Cancer Chemother Pharmacol.*, 2013, 72(1):13-33.
7. Laviano A. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 2012, 366:2319-2320.
8. Gaurav K., *Indian J. of Med. Paed. Oncol.*, 2012, 33(1):13-20.
9. Vincent D.T. *et al.*, *Cancer Chemother Pharmacol.*, 2013, 72(6):1157-1168.
10. Fushi W. *et al.*, *Cancer Res.*, 2013, 73:4256.
- 10 11. Cools-Lartigue J. *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 2013, 123(8):3446-3458.
12. Trejo-Becerril C. *et al.*, *PLoS One*, 2012, 7(12): e52754.
13. Chabot, G. y Momparier, R. L., *Cancer. Treat. Rep.*, 1984, 68:1483-1487.
14. Lech-Maranda, E. *et al.*, *Haematologica*, 2000, 85:588-594.
15. Hall I.H., *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1974, 63(4):625-626.
- 15 16. McBride A., *et al.*, *J. Hematol. Oncol.*, 2012, 5:75
17. Basnakian *et al.*, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005, 16:697-702
18. Gerber D., *Am. Fam. Physician*, 2008, 77(3):311-319.

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Una enzima ADNasa para su uso en la prevención o la mejora de al menos un efecto secundario de una quimioterapia citostática y/o citotóxica en un sujeto que padece un cáncer y que recibe o se considera que recibirá dicha quimioterapia, mediante la prevención o la mejora de una toxicidad asociada con dicha quimioterapia.
- 2.- La enzima ADNasa para su uso según la reivindicación 1, en la que dicho efecto secundario de dicha quimioterapia se selecciona del grupo que consiste en pérdida de peso corporal, toxicidad de la médula ósea, cambios catabólicos en la bioquímica de la sangre, necrosis miocárdica, toxicidad gastrointestinal, supresión de la inmunidad y neutropenia.
- 10 3.- La enzima ADNasa para su uso según la reivindicación 2, en la que la cardiotoxicidad es una necrosis miocárdica.
- 15 4.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la quimioterapia comprende la administración de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en antimetabolitos, agentes alquilantes, antibióticos anticáncer, agentes dirigidos a microtúbulos, inhibidores de topoisomerasa, alcaloides y productos terapéuticos de transporte dirigido.
- 5.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la quimioterapia comprende la administración de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en antraciclina, doxorubicina, 5-fluorouracilo (5-FU), etopósido, taxano y ciclofosfamida.
- 20 6.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la enzima ADNasa se administra durante o después de un ciclo de la quimioterapia.
- 7.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la enzima ADNasa es i) ADNasa I, preferiblemente ADNasa I humana recombinante; ii) un análogo de ADNasa I, preferiblemente ADNasa gamma; o iii) ADNasa II.
- 25 8.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la enzima ADNasa tiene una semivida extendida.
- 9.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la enzima ADNasa se administrará dentro del intervalo de 0,5-50 mg/kg/día, preferiblemente 1,5-50 mg/kg/día, también preferiblemente 10-50 mg/kg/día.
- 30 10.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la enzima ADNasa se administrará por vía intravenosa, intraperitoneal o entérica, preferiblemente por vía oral.
- 11.- La enzima ADNasa para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que el sujeto es un ser humano.

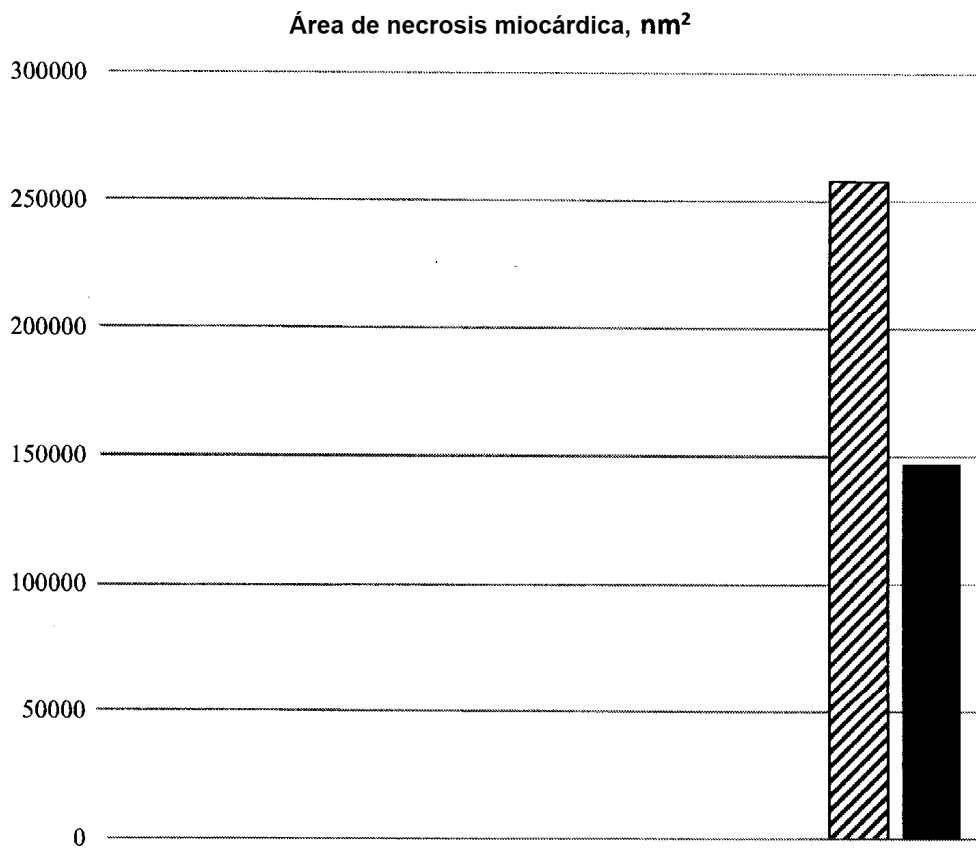
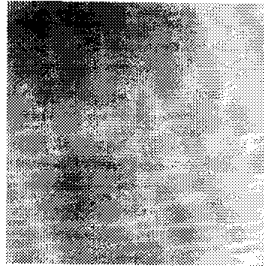


FIG. 1

A.



B.

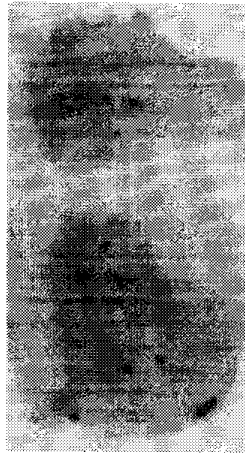


FIG. 2

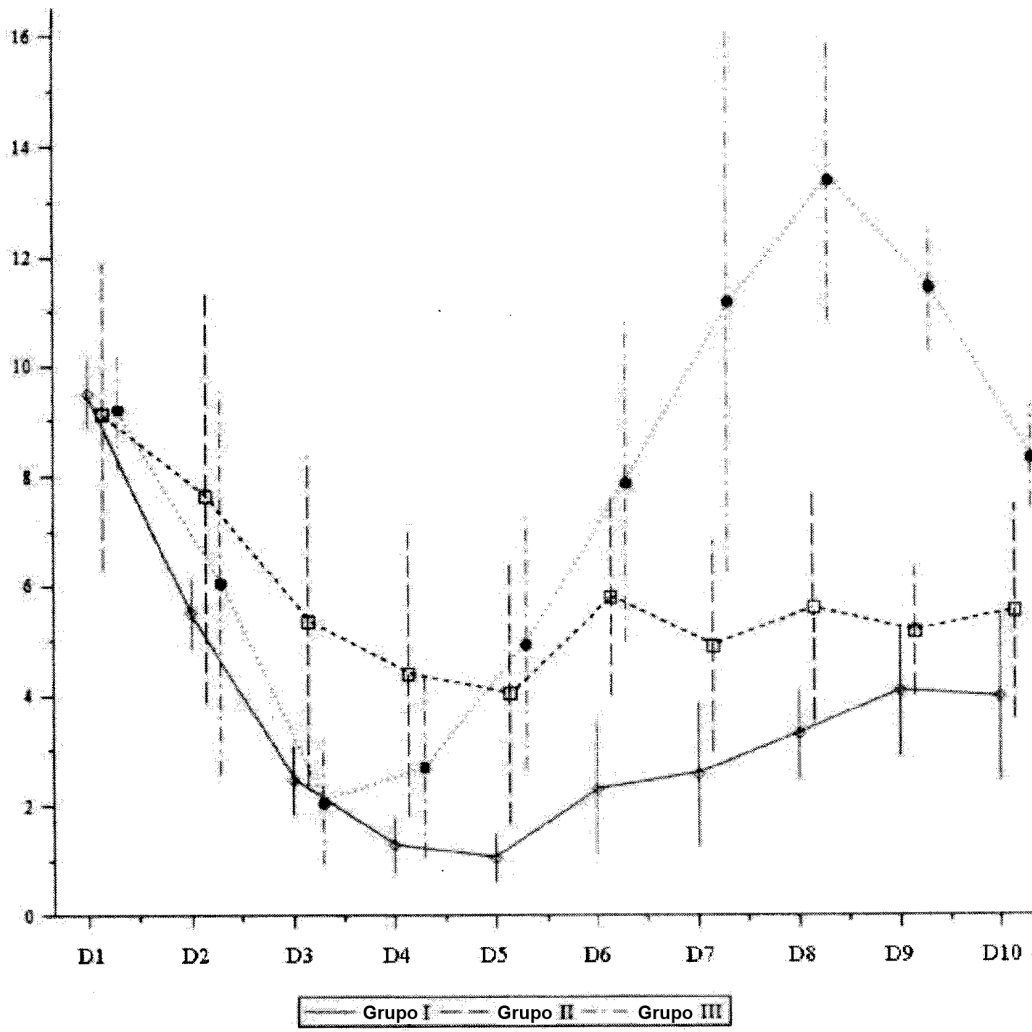


FIG. 3

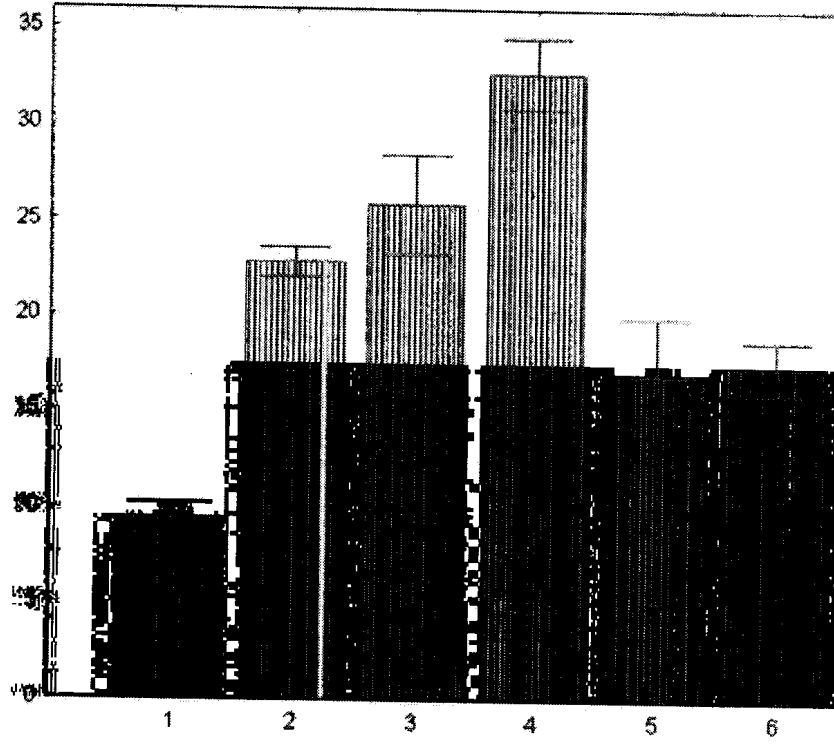


FIG. 4