

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 857 810**

51 Int. Cl.:

A61K 38/18 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 15/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2013 E 17187879 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2020 EP 3278811**

54 Título: **Uso de GGF2 para tratar el dolor neuropático luego de lesión del nervio periférico**

30 Prioridad:

30.03.2012 US 201261618381 P

20.07.2012 US 201261674060 P

27.08.2012 US 201261693589 P

27.08.2012 US 201261693585 P

14.03.2013 US 201361785419 P

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

29.09.2021

73 Titular/es:

ACORDA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)

420 Saw Mill River Road

Ardsley, NY 10502 , US

72 Inventor/es:

CAGGIANO, ANTHONY, O.;

BELLA, ANTHONY, J.;

GANGULY, ANINDITA;

IACI, JENNIFER;

PARRY, THOMAS y

COLBURN, RAYMOND, WARREN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 857 810 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 GGF2 para tratar el dolor neuropático luego de lesión del nervio periférico

Campo de la divulgación

5 Esta invención se refiere en general a los campos de la biología molecular, la medicina regenerativa y los traumatismos o lesiones nerviosas. Los métodos de la divulgación se utilizan para administrar isoformas de neuregulina o segmentos funcionales de las mismas para prevenir, tratar o mejorar los síntomas de la lesión del nervio periférico. Los sujetos de estos métodos están en riesgo de sufrir una lesión del nervio periférico o tienen una lesión del nervio periférico.

Antecedentes

10 Los nervios periféricos se lesionan comúnmente por traumatismos que incluyen accidentes automovilísticos, accidentes de motocicleta, cirugías, heridas por arma blanca y proyectiles, y lesiones de nacimiento tanto del niño como de la madre. Después de una lesión nerviosa, hay una pérdida de sensibilidad y/o función en las regiones del cuerpo inervadas por el nervio dañado. Las causas quirúrgicas comunes de lesión nerviosa incluyen prostatectomía y mastectomía. Por ejemplo, después de una lesión nerviosa por prostatectomía, comúnmente hay disfunción eréctil.

15 Subsiste la necesidad de terapias y tratamientos adicionales para las lesiones de los nervios periféricos. Más aún, subsiste la necesidad desde hace mucho tiempo en la técnica de una terapia que pueda prevenir y/o limitar el grado de disfunción después de una lesión nerviosa.

20 El documento WO9918976 divulga métodos para el tratamiento y/o profilaxis de ciertos trastornos relacionados con la neurología. El documento WO2011047183 divulga el uso de neuregulinas para prevenir o tratar la lesión del nervio periférico, para atenuar, mejorar o evitar la pérdida de la función del nervio periférico. El documento WO9615812 divulga métodos para afectar la comunicación celular en un vertebrado. El documento WO2009108390 divulga la administración del factor de crecimiento glial 2 a un paciente en necesidad del mismo, para lograr niveles séricos del factor de crecimiento glial 2 dentro de una ventana terapéutica deseada. El documento WO2012021818 divulga métodos para tratar la lesión de los nervios centrales utilizando el factor de crecimiento glial 2.

25 Resumen

30 Se ha implicado a las neuregulinas como efectos neuroprotectores y neurorestauradores en una variedad de modelos animales de enfermedades y lesiones del sistema nervioso central. En el presente documento se divulgan métodos para tratar o mejorar la lesión del nervio periférico al administrar una neuregulina o un segmento funcional de la misma a un sujeto que tiene una lesión del nervio periférico o está en riesgo de lesión del nervio periférico. Se divulgan adicionalmente métodos para tratar o mejorar la lesión del nervio periférico al administrar un GGF2 o un segmento funcional del mismo al sujeto.

35 La presente divulgación demuestra que el tratamiento con neuregulina de la lesión del nervio periférico puede atenuar la pérdida de la función del nervio periférico, mejorar o atenuar la pérdida de la función del nervio periférico cuando se proporciona antes o después de la lesión del nervio y, en algunos casos, restaurar la función del nervio periférico.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona una composición que comprende una cantidad efectiva de un GGF2 para uso en un método para reducir dolor neuropático en un sujeto en riesgo de sufrir una lesión del nervio periférico debido a un procedimiento quirúrgico

El término sujeto incluye mamíferos y particularmente sujetos humanos.

40 La lesión del nervio periférico (PNI) en humanos se puede adquirir a través de un trauma físico o puede ser el resultado de una enfermedad. Por ejemplo, los nervios periféricos se lesionan por traumatismos, que incluyen accidentes automovilísticos, accidentes de motocicleta, cirugías, heridas de arma blanca y proyectiles, y lesiones de nacimiento tanto del niño como de la madre. Las complicaciones que siguen a una lesión pueden provocar deficiencias en la función sensitivomotora y desregulación autónoma.

45 Aunque se contemplan todos los nervios periféricos, los métodos divulgados se pueden aplicar a los siguientes ejemplos no limitantes de nervios periféricos, que incluyen los nervios ciático y cavernoso.

50 La lesión del nervio ciático da como resultado una pérdida de masa muscular, debilidad del músculo, cambios atróficos del músculo diana, paresia y dolor, lo que a menudo reduce la capacidad de rehabilitación y afecta la calidad de vida. Por ejemplo, con respecto a la lesión del nervio ciático, las composiciones de la divulgación aumentan la masa muscular, mejoran la fuerza muscular, reducen la atrofia muscular y reducen el dolor neuropático y mejoran la recuperación sensorial. Los resultados de la formación de imágenes de ultrasonido tridimensionales (3D) no invasivas han demostrado reducciones significativas en los volúmenes del músculo gastrocnemio y sóleo después de aplastamiento y transección en la extremidad posterior lesionada a lo largo del tiempo en comparación con los animales controles con operación simulada. La administración de GGF2, por ejemplo, aumenta el tamaño de

las miofibras y reduce la fibrosis en un tejido que rodea el nervio periférico. Más aún, la administración de GGF2, por ejemplo, aumenta el tamaño de las miofibras y reduce la fibrosis en el músculo esquelético.

5 Una lesión del nervio periférico puede resultar de una cirugía, tal como una prostatectomía. En el contexto de esencialmente cualquier intervención quirúrgica, la lesión del nervio periférico puede ser el resultado directo de la disección del tejido, resección del tejido y/o secundaria al posicionamiento y/o compresión del miembro.

10 El modelo de disfunción eréctil de rata se utiliza como un sistema in vivo para demostrar la eficacia de las neuregulinas en el tratamiento de la lesión del nervio periférico. La neuregulina puede ser eficaz como monoterapia para cualquier lesión del nervio periférico y no requiere tratamiento conjunto con conductos nerviosos naturales o artificiales ni tratamiento conjunto con terapias celulares tales como las células de Schwann. Se probó un péptido de neuregulina-1 (GGF2) en un modelo de aplastamiento bilateral en rata, que es un modelo aceptado de lesión del nervio cavernoso. Se ha utilizado este modelo para probar sildenafil y otros fármacos para ED. Como se muestra en los ejemplos proporcionados, GGF2 mejoró los resultados funcionales cuando los nervios se electroestimularon 5 semanas después de lesión y se midió la presión intercavernosa (ICP).

15 Procedimientos quirúrgicos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, hacer una incisión en el sujeto y realizar una cesárea. En un aspecto de esta realización, tipos de ejemplo de la lesión del nervio periférico incluyen, pero no se limitan a, una transección nerviosa, un aplastamiento de nervios, y una desmielinización nerviosa. En un aspecto de esta realización, el nervio periférico puede ser un nervio ciático. Alternativamente, o además, el nervio periférico puede ser un nervio cavernoso.

20 Procedimientos quirúrgicos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, disección de tejido o resección de cirugía de tumor. Alternativamente, o además, los procedimientos quirúrgicos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, una cirugía pélvica, abdominal o colorrectal. En un aspecto de esta realización, un tejido o tumor disecado o extirpado durante cirugía puede ser maligno o benigno. El tejido o los tumores malignos pueden ser uno o más tipos de cáncer. Tipos de cáncer de ejemplo incluyen, pero no se limitan a cánceres sólidos, cáncer de próstata y cáncer de mama. En un aspecto de esta realización, tipos de ejemplo de la lesión del nervio periférico incluyen, pero no se limitan a, una transección nerviosa, un aplastamiento de nervios, y una desmielinización nerviosa. En un aspecto de esta realización, el nervio periférico puede ser un nervio ciático. Alternativamente, o además, el nervio periférico puede ser un nervio cavernoso. En un aspecto de esta realización, la lesión del nervio periférico puede resultar en disfunción eréctil.

30 En una realización de la invención, una lesión del nervio periférico se puede deber al parto de un bebé. Procedimientos quirúrgicos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, hacer una incisión en el sujeto y realizar una cesárea. En un aspecto de esta realización, tipos de ejemplo de la lesión del nervio periférico incluyen, pero no se limitan a, una transección nerviosa, un aplastamiento de nervios, y una desmielinización nerviosa. En un aspecto de esta realización, el nervio periférico puede ser un nervio ciático. Alternativamente, o además, el nervio periférico puede ser un nervio cavernoso.

35 En una realización de la invención, la composición es adecuada para administración antes de incurrir en la lesión del nervio periférico. En un aspecto de esta realización, la composición se puede administrar antes pero no después de incurrir en la lesión del nervio periférico. La composición se puede administrar de acuerdo con un régimen de dosificación discontinuo. Preferiblemente, el régimen de dosificación discontinuo comprende administrar la composición a intervalos especificados. Intervalos especificados de ejemplo pueden incluir, pero no se limitan a, administración en intervalos de cada 24 horas, cada 48 horas, y cada 72 horas. Alternativamente, intervalos especificados pueden incluir, pero no se limitan a, administración en intervalos de al menos cada 24 horas, al menos cada 48 horas, y al menos cada 72 horas. En un aspecto de esta realización, el régimen de dosificación discontinuo puede ser continuo por un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 11 semanas, y aproximadamente 12 semanas. En un aspecto de esta realización, el intervalo especificado de administración puede ser al menos una vez por semana. En un aspecto de esta realización, el intervalo especificado de administración puede ser al menos una vez por semana y el régimen de dosificación discontinuo puede continuar por un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses, y aproximadamente 3 meses.

55 En una realización de la invención, la composición es adecuada para administración en el curso de incurrir en la lesión del nervio periférico. En un aspecto de esta realización, la composición se puede administrar en el curso de pero no después de incurrir en la lesión del nervio periférico. Una neuregulina o una composición que comprende una neuregulina se puede administrar de acuerdo con un régimen de dosificación discontinuo. Preferiblemente, el régimen de dosificación discontinuo comprende administrar la composición a intervalos especificados. Intervalos especificados de ejemplo pueden incluir, pero no se limitan a, administración en intervalos de cada 24 horas, cada 48 horas, y cada 72 horas. Alternativamente, intervalos especificados pueden incluir, pero no se limitan a, administración en intervalos de al menos cada 24 horas, al menos cada 48 horas, y al menos cada 72 horas. En un aspecto de esta realización, el régimen de dosificación discontinuo puede ser continuo por un período de tiempo

5 seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 11 semanas, y aproximadamente 12 semanas. En un aspecto de esta realización, el intervalo especificado de administración puede ser al menos una vez por semana. En un aspecto de esta realización, el intervalo especificado de administración puede ser al menos una vez por semana y el régimen de dosificación discontinuo puede continuar por un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses, y aproximadamente 3 meses.

10 En una realización de la invención, la composición es adecuada para administración antes de y en el curso de incurrir en la lesión del nervio periférico. En un aspecto de esta realización, la composición se puede administrar antes de y en el curso de pero no después de incurrir en la lesión del nervio periférico. La composición se puede administrar de acuerdo con un régimen de dosificación discontinuo. Preferiblemente, el régimen de dosificación discontinuo comprende administrar la composición a intervalos especificados. Intervalos especificados de ejemplo pueden incluir, pero no se limitan a, administración en intervalos de cada 24 horas, cada 48 horas, y cada 72 horas. Alternativamente, intervalos especificados pueden incluir, pero no se limitan a, administración en intervalos de al menos cada 24 horas, al menos cada 48 horas, y al menos cada 72 horas. En un aspecto de esta realización, el régimen de dosificación discontinuo puede ser continuo por un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 11 semanas, y aproximadamente 12 semanas. En un aspecto de esta realización, el intervalo especificado de administración puede ser al menos una vez por semana. En un aspecto de esta realización, el intervalo especificado de administración puede ser al menos una vez por semana y el régimen de dosificación discontinuo puede continuar por un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses, y aproximadamente 3 meses.

30 En una realización de la invención, una cantidad efectiva de un GGF2 puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 2.5 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 1.5 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.7 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.3 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.1 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.05 mg/kg de peso corporal. En un aspecto de esta realización, una cantidad efectiva puede estar entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.02 mg/kg de peso corporal.

40 La cantidad de dosificación real de una composición de la presente invención administrada a un sujeto se puede determinar por factores físicos y fisiológicos tales como peso corporal, gravedad de la afección, tipo de enfermedad que se está tratando, intervenciones terapéuticas previas o concurrentes, idiopatía del paciente y en la ruta de administración. El médico responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la concentración de ingrediente activo en una composición y la dosis apropiada para el sujeto individual.

50 Ciertos aspectos de los métodos divulgados incluyen la administración de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1 - 10, 1 - 20, 10 - 20, 1 - 30, 1 - 40, 1 - 50, 10 - 20, 10 - 30, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 15 - 25, 15 - 40, 15 - 35, 15 - 50, 20 - 50, 20 - 40, 20 - 40, 25 - 35, 30 - 50, 30 - 60, 50 - 75, 50 - 100, 100, 1 - 100, 100 - 150, 150 - 200, 200, 1 - 200 μ g o mg de polipéptido o péptido de neuregulina en base a la actividad de la neuregulina particular utilizada, ruta de administración, método de administración y contexto médico. Ciertos aspectos incluyen la administración de neuregulina antes y/o después de lesión. Una neuregulina se puede administrar 12, 24, 48, o 72 horas antes de la lesión, durante la lesión, y/o a intervalos específicos o regulares después de lesión. En ciertas circunstancias, una neuregulina se puede administrar 24 o 48 horas antes de la lesión, y una vez cada día (por ejemplo, 24 horas) o cada semana después de lesión. La administración antes de la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración durante la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración después de lesión puede ser sistémica y/o local.

60 Ciertos aspectos de los métodos divulgados incluyen la administración de aproximadamente 0.005, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 μ g o mg, o cualquier valor entre ellos, de polipéptido o péptido de neuregulina en base a la actividad de la neuregulina utilizada, ruta de administración, método de administración y el contexto médico. Por ejemplo, se puede emplear una neuregulina o isoforma de NRG-1, que incluye, pero no se limita a, GGF2 que se administra a 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, o 15 μ g/kg o mg/kg. Cualquier ruta apropiada de administración, que incluye, pero no se limita a, administración parenteral, subcutánea,

intramuscular, perineural, intracraneal, intraorbital, oftálmica, intraventricular, intracapsular, intraespinal, intracisternal, intraperitoneal, intranasal, aerosol, oral o transdérmica o tópica (por ejemplo, al aplicar un dispositivo o un parche adhesivo que lleve una formulación capaz de atravesar la dermis y entrar en el torrente sanguíneo).

5 En un aspecto de la divulgación, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 1.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 2.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 5.0 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 10 mg/kg, o desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 15 mg/kg. En una realización particular, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 0.02 mg/kg, desde aproximadamente 0.02 mg/kg hasta 0.06 mg/kg, desde aproximadamente 0.06 mg/kg hasta aproximadamente 0.1 mg/kg, desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 0.3 mg/kg, desde aproximadamente 0.3 mg/kg hasta aproximadamente 0.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 0.7 mg/kg, desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, desde aproximadamente 0.7 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, desde aproximadamente 1.0 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg, desde aproximadamente 1.5 mg/kg hasta aproximadamente 2 mg/kg, desde aproximadamente 2 mg/kg hasta aproximadamente 2.5 mg/kg, desde aproximadamente 2.5 mg/kg hasta aproximadamente 3 mg/kg, desde aproximadamente 3 mg/kg hasta aproximadamente 3.5 mg/kg, desde aproximadamente 3.5 mg/kg hasta aproximadamente 4 mg/kg, desde aproximadamente 4 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg, desde aproximadamente 4.5 mg/kg hasta aproximadamente 5 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg, o desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 5.0 mg/kg. En otra realización particular, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 15 mg/kg.

En un aspecto de la divulgación, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 1.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 2.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 5.0 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 10 mg/kg, o desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 15 mg/kg, administrados aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses. En una realización particular, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 0.02 mg/kg, desde aproximadamente 0.02 mg/kg hasta 0.06 mg/kg, desde aproximadamente 0.06 mg/kg hasta aproximadamente 0.1 mg/kg, desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 0.3 mg/kg, desde aproximadamente 0.3 mg/kg hasta aproximadamente 0.5 mg/kg, desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 0.7 mg/kg, desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, desde aproximadamente 0.7 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, desde aproximadamente 1.0 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg, desde aproximadamente 1.5 mg/kg hasta aproximadamente 2 mg/kg, desde aproximadamente 2 mg/kg hasta aproximadamente 2.5 mg/kg, desde aproximadamente 2.5 mg/kg hasta aproximadamente 3 mg/kg, desde aproximadamente 3 mg/kg hasta aproximadamente 3.5 mg/kg, desde aproximadamente 3.5 mg/kg hasta aproximadamente 4 mg/kg, desde aproximadamente 4 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg, desde aproximadamente 4.5 mg/kg hasta aproximadamente 5 mg/kg, desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg, o desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 5.0 mg/kg administrada aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses. En otra realización particular, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 15 mg/kg administrada aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses.

En otro aspecto de la divulgación, a un rango de dosificación de entre 5 mg/kg a 15 mg/kg, inclusive de los criterios de valoración, una neuregulina o isoforma de NRG-1 se puede administrar a un sujeto sistémica o localmente. Por ejemplo, cuando un polipéptido o péptido NRG1, que incluye, pero no se limita a GGF2, se administra a un rango de dosificación de entre 5 mg/kg a 15 mg/kg, inclusive de los criterios de valoración, la ruta preferida de administración puede ser intravenosa, subcutánea, transdérmica o tópica.

Una neuregulina se puede administrar antes de la lesión, durante la lesión, y/o a intervalos específicos o regulares después de lesión. En un ejemplo no limitante, una neuregulina se puede administrar aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas antes de la lesión. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses antes de la lesión. Alternativamente, o además, una neuregulina se puede administrar una vez cada 24 horas o cada semana después de lesión. La administración antes de la lesión puede ser sistémica y/o local. La

administración durante la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración después de lesión puede ser sistémica y/o local. Algunas dosis de una neuregulina (por ejemplo, un rango de dosificación de entre 5 mg/kg a 15 mg/kg, inclusive de los criterios de valoración) se puede administrar mediante un método no sistémico o local, que incluye, pero no se limita a una inyección subcutánea o un implante o método de suministro transdérmico.

5 Un método de administración "local", "localizado" o "dirigido" proporciona una neuregulina terapéuticamente efectiva en el sitio de la lesión para mejorar la recuperación o función del nervio periférico sin aumentar sustancialmente los niveles de la neuregulina en el torrente sanguíneo o sin sustancialmente penetrando la barrera hematoencefálica, aumentando de esta manera los niveles de la neuregulina dentro del líquido cefalorraquídeo del sistema nervioso central.

10 Una neuregulina de las composiciones y métodos divulgados puede ser cualquier neuregulina de longitud completa codificada por los genes NRG 1, 2, 3 o 4. En un aspecto adicional, una neuregulina puede ser cualquier segmento funcional de un polipéptido de neuregulina. El segmento funcional de una neuregulina puede contener un dominio similar a EGF. Una neuregulina puede ser cualquier péptido codificado por los genes NRG 1, 2, 3 o 4 que se una a los receptores ErbB y los active. Alternativamente, una neuregulina puede ser cualquier péptido modificado a partir de un péptido de tipo silvestre codificado por los genes NRG 1, 2, 3 o 4, de modo que el péptido modificado se una a y active los receptores ErbB.

15 Las neuregulinas y polipéptidos que contienen dominios de neuregulinas similares a EGF pueden administrarse a sujetos con un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable, en forma de dosificación unitaria. Puede emplearse la práctica farmacéutica convencional para proporcionar formulaciones o composiciones adecuadas para administrar tales composiciones a pacientes o animales de experimentación.

20 Aunque se puede preferir la administración intravenosa en determinadas circunstancias, se puede emplear cualquier ruta de administración apropiada, que incluyen, pero sin limitarse a, administración parenteral, subcutánea, intramuscular, intracraneal, intraorbital, oftálmica, intraventricular, intracapsular, intraespinal, intracisternal, intraperitoneal, intranasal, en aerosol, oral o transdérmica o tópica (por ejemplo, al aplicar un dispositivo o un parche adhesivo que lleva una formulación capaz de atravesar la dermis y entrar en el torrente sanguíneo). Las formulaciones terapéuticas pueden estar en forma de soluciones o suspensiones líquidas; para la administración oral, las formulaciones pueden estar en forma de comprimidos o cápsulas; y para formulaciones intranasales, en forma de polvos, gotas nasales o aerosoles.

25 Por "neuregulina-1", "NRG-1", "heregulina" se entiende un polipéptido que se une a los receptores ErbB 1, 3 o 4; y por emparejamiento de receptores (dimerización) también con ErbB2. En una realización de la divulgación, la neuregulina está codificada por el gen del ligando p185erbB2 descrito en las Patentes de EE.UU. Nos. 5,530,109; 5,716,930; y 7,037,888. En una realización de la divulgación, la neuregulina es GGF2 o cualquier subsecuencia del mismo, o cualquier molécula que comprenda toda o una parte activa de la secuencia de GGF2.

30 En ciertas realizaciones de las composiciones y métodos divulgados, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, al menos aproximadamente un 0.1 % del compuesto activo. En otras realizaciones de la divulgación, un compuesto activo puede comprender entre aproximadamente un 2 % a aproximadamente un 75 % del peso de la unidad, o entre aproximadamente un 25 % a aproximadamente un 60 %, por ejemplo, y cualquier rango derivado de la misma. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender desde aproximadamente 1 microgramo (μg)/kg de peso corporal, aproximadamente 5 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 10 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 50 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 100 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 200 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 350 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 500 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 350 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, a aproximadamente 1000 mg/kg mg/kg o más por administración, y cualquier rango derivable en la misma. En ejemplos no limitantes de un rango derivable de los números que se indican en el presente documento, se puede administrar un rango de aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 μg /kg de peso corporal a aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, etc., en base a los números descritos anteriormente.

35 El término "cantidad terapéuticamente efectiva" o una "cantidad efectiva" pretenden significar la cantidad de neuregulina que provoca una respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que está siendo buscado por un investigador, veterinario, médico u otro clínico.

40 Un cambio terapéutico puede ser un cambio en una característica bioquímica o fisiológica medida en una dirección que alivia la enfermedad o afección que se está tratando, por ejemplo, lesión del nervio periférico. Más particularmente, una "cantidad efectiva" es una cantidad suficiente para disminuir los síntomas asociados con una condición médica o dolencia, para normalizar las funciones corporales en enfermedades o trastornos que dan como resultado el deterioro de funciones corporales específicas, o para proporcionar una mejora en una o más de los parámetros medidos clínicamente de una enfermedad o afección. Una cantidad o dosificación terapéuticamente

- 5 efectiva de una neuregulina divulgada en el presente documento puede ser una cantidad suficiente para restaurar una medida de función equivalente al estado anterior a la lesión del sujeto o a un valor asociado con la función normal. Alternativamente, o además, una cantidad o dosificación terapéuticamente efectiva de una neuregulina divulgada en el presente documento puede ser una cantidad suficiente para preservar, restaurar o inducir la supervivencia, conectividad, transducción de señales o función de un nervio ciático que está lesionado o en riesgo de lesión. Una cantidad o dosificación terapéuticamente efectiva de una neuregulina divulgada en el presente documento puede ser una cantidad suficiente para preservar, restaurar o inducir la supervivencia o función de la célula o células diana a las que un nervio ciático que está lesionado o en riesgo de lesionarse envía señal, controla, o inerva.
- 10 El uso del término “o” en las reivindicaciones se utiliza para significar “y/o” a menos que se indique explícitamente para referirse únicamente a alternativas o cuando las alternativas sean mutuamente excluyentes “. También se contempla que cualquier cosa enumerada utilizando el término “o” también se puede excluir específicamente de las otras opciones que se establecen.
- 15 A lo largo de esta solicitud, el término “aproximadamente” se utiliza para indicar que un valor que está dentro del 85 %, 90 %, 95 % o la desviación de error estándar para el dispositivo o método que se emplea para determinar el valor.
- Siguiendo la ley de patentes de larga data, las palabras “un” y “una”, en las reivindicaciones o especificación, denotan uno o más, a menos que se indique específicamente.
- 20 En ciertos aspectos de la divulgación, la neuregulina se utiliza de manera profiláctica para prevenir o disminuir una posible lesión. Alternativamente, o además, la neuregulina se utiliza pronósticamente para indicar el estado futuro del sujeto. Alternativamente, o además, la neuregulina se utiliza como diagnóstico para indicar la presencia o probable presencia de una condición o estado. La neuregulina se puede utilizar terapéuticamente para afectar una afección de alguna manera que disminuya o elimine un síntoma o signo de la afección o enfermedad que se está tratando.
- 25 Las neuregulinas desempeñan una función importante en el sistema nervioso periférico del adulto. Por ejemplo, las neuregulinas, específicamente el factor de crecimiento glial 2 (GGF2), influyen en múltiples aspectos de la diferenciación de las células de Schwann, que incluye la supervivencia de los precursores de las células de Schwann, la proliferación de las células de Schwann, la envoltura de los axones y la mielinización. Además, las neuregulinas también desempeñan una función en la regulación de los receptores de acetilcolina en la unión neuromuscular. Las neuregulinas también influyen en la función de las células de Schwann en los nervios periféricos y tienen efectos miogénicos y metabólicos en el músculo esquelético. Como tal, el objetivo del estudio presentado en el presente documento fue evaluar los efectos del factor de crecimiento glial 2 de isoforma 1 de neuregulina (GGF2) sobre cambios microscópicos en la función del músculo esquelético y del nervio ciático y la recuperación de los mismos después de una lesión por aplastamiento del nervio ciático.
- 30
- 35 Los datos presentados en el presente documento demuestran que GGF2 beneficia la mielinización del nervio periférico, la función del músculo diana y las funciones sensoriales del nervio después de una lesión del nervio periférico (por ejemplo, después de una lesión del nervio ciático). Específicamente, como se describe en el presente documento, la evaluación histológica del músculo gastrocnemio demostró un aumento de la fibrosis en animales aplastados en comparación con la simulación a las 2, 4 y 6 semanas después de la lesión; sin embargo, el tratamiento con GGF2 redujo significativamente la fibrosis inducida por lesiones a niveles casi normales a las 6 semanas después de la lesión. Más aún, se observó una reducción significativa en el área de miofibras a las 2, 4 y 6 semanas después de la lesión; sin embargo, el tratamiento con GGF2 promovió un cambio en el área de miofibras hacia un tamaño mayor (es decir, más similar a controles simulados) a las 4 y 6 semanas después de la lesión. Después de la lesión, se observó una amplia variedad de lesiones con diversa gravedad en el nervio ciático en comparación con los animales controles con operación simulada; sin embargo, GGF2 redujo cualitativamente el grado de desmielinización en comparación con los animales tratados con vehículo en el nervio ciático lesionado. GGF2 mitigó los signos de hipersensibilidad mecánica y al frío después de una lesión por aplastamiento, al tiempo que mejora las funciones mecánicas y sensoriales del frío después de desafereciación ciática por transección.
- 40
- 45
- 50 Otros objetos, características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Se debe entender, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, si bien indican realizaciones específicas de la invención, se dan solo a modo de ilustración, ya que varios cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance de la invención resultarán evidentes para aquellos expertos en la técnica a partir de esta descripción detallada.
- Breve descripción de los dibujos
- 55 Los siguientes dibujos forman parte de la presente divulgación y se incluyen para demostrar ciertos aspectos no limitantes de la presente divulgación. La divulgación se puede entender mejor al hacer referencia a uno de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de las realizaciones específicas presentadas en el presente documento.

La Figura 1 es una ilustración esquemática de una lesión por aplastamiento del nervio ciático 8 – 10 mm proximal a la trifurcación del nervio ciático.

5 La Figura 2 es un gráfico que representa el cambio porcentual en la fibrosis en el músculo gastrocnemio lateral observado en función del tiempo (2, 4 o 6 semanas) bajo condiciones de lesión simulada, tratamiento con vehículo después de lesión por aplastamiento o tratamiento con GGF2 después de lesión por aplastamiento.

La Figura 3 es una serie de fotomicrografías (Tricromo 100X) de secciones musculares representativas de animales controles con operación simulada [A], tratados con vehículo [B] y tratados con GGF2 [C] a 2 y 6 semanas después de lesión.

10 Las Figuras 4A, 4B y 4C son una serie de gráficos que representan el porcentaje de fibrosis observado en función del tiempo (2, 4 o 6 semanas, respectivamente) bajo condiciones de lesión simulada, tratamiento con vehículo después de lesión por aplastamiento o tratamiento con GGF2 después de lesión por aplastamiento

La Figura 5 es un gráfico que muestra una evaluación de la mielinización en la tinción de proteína proteolípida del nervio ciático (PLP) a las 2, 4 y 6 semanas bajo condiciones de lesión simulada, tratamiento con vehículo después de lesión por aplastamiento o tratamiento con GGF2 después de lesión por aplastamiento.

15 La Figura 6 es un gráfico que representa el cambio de presión intracavernosa media (ICP) desde el valor inicial en función de la condición experimental. GGF2 “Dosis baja” GGF2 = 0.5 mg/kg y “dosis alta” 0.54 GGF2 5 mg/kg (“dosis alta”). 32 ratas macho Sprague-Dawley de 3 meses se dividen en cuatro condiciones experimentales: Grupo 1 - cirugía simulada, Grupo 2 - lesión por aplastamiento + no GGF2, Grupo 3 - aplastamiento + GGF2 de dosis baja (0.5 mg/kg), y Grupo 4 - aplastamiento + GGF2 de dosis alta (5.0 mg/kg). GGF2 suministrado 24 hrs aplastamiento
20 previo, 24 hrs posterior a aplastamiento y uno cada 7 días (una vez a semana) hasta el final del estudio (5 semanas) después de cirugía. La cirugía incluyó una incisión en la línea media inferior para exponer la próstata, los nervios cavernosos y los ganglios pélvicos principales (MPG) y una lesión por aplastamiento de 2 minutos (impulsor de aguja en un ángulo de 90 grados y presión de “un clic”).

25 La Figura 7 es un gráfico que representa la ICP media normalizada a las Presiones Aórticas medias (MAP) en función de la condición experimental. Las proporciones ICP/MAP son 0.81 (normal), 0.15 (aplastamiento y sin tratamiento) frente a GGF2 0.4 0.5 mg/kg (“dosis baja”) y GGF2 0.54 5 mg/kg (“dosis alta”) (todos los valores p <0.05). 32 ratas macho Sprague-Dawley de 3 meses se dividen en cuatro condiciones experimentales: Grupo 1 - cirugía simulada, Grupo 2 - lesión por aplastamiento + sin GGF2, Grupo 3 - aplastamiento + GGF2 de dosis baja (0.5 mg/kg), y Grupo 4 - aplastamiento + GGF2 de dosis alta (5.0 mg/kg). GGF2 suministrado 24 hrs previas
30 aplastamiento, 24 hrs posterior a aplastamiento y una cada 7 días (una vez a semana) hasta el final del estudio (5 semanas) después de cirugía. La cirugía incluyó una incisión en la línea media inferior para exponer la próstata, los nervios cavernosos y los ganglios pélvicos principales (MPG) y una lesión por aplastamiento de 2 minutos (impulsor de aguja en un ángulo de 90 grados y presión de “un clic”).

35 La Figura 8A-C es una serie de fotografías que muestran el marcado de Fluoro-oro representativo de los ganglios pélvicos principales (MPG) de 3 animales por grupo de tratamiento ((panel A) normal, (panel B) aplastamiento, (panel C) aplastamiento + GGF2). El fluoro-oro inyectado en el tejido del pene se transporta de forma retrógrada a través de nervios intactos hasta los cuerpos celulares en el MPG. Panel A: los animales normales demuestran la cantidad de marcado retrógrado observado en ausencia de lesión nerviosa. Panel B: los animales aplastados demuestran la reducción drástica de las fibras nerviosas intactas de la lesión, ya que la marca de oro fluorado no se
40 puede transportar hasta el MPG. Panel C: Los animales por aplastamiento + GGF2 muestran un mayor número de células MPG marcadas con fluoro-oro, lo que indica que hay más fibras nerviosas conservadas presentes después de la lesión como resultado del tratamiento con GGF2.

45 La Figura 9 es un gráfico que representa la cuantificación del marcado con fluoro-oro en el MPG. Los resultados mostraron que los animales normales tienen una gran cantidad de cuerpos celulares marcados en el MPG. Después de una lesión por aplastamiento, el número de células marcadas se reduce drásticamente, como consecuencia del daño de las fibras nerviosas y la incapacidad resultante de transportar de forma retrógrada la marca de vuelta al MPG. Sin embargo, el tratamiento con GGF2 mejoró el número de fibras nerviosas intactas disponibles para transportar el fluoro-oro desde el tejido del pene hasta el MPG de manera retrógrada, lo que resultó en un mayor número de células marcadas.

50 La Figura 10A-C es una serie de fotografías que muestran tinciones representativas de los niveles de nNos. La nNOS cavernosa es un marcador bien establecido de la preservación del nervio cavernoso. Los resultados de este trabajo incluyeron tinción de tejido normal (panel A). En comparación, hubo una pérdida significativa de tinción de nNOS después de una lesión por aplastamiento del nervio cavernoso (panel B). La tinción con nNOS conservada de las terminaciones nerviosas cavernosas en los cuerpos del pene demostró un aumento de las tasas de supervivencia de los nervios cavernosos tras la lesión por aplastamiento con el tratamiento con GGF2 (panel C). La
55 densidad de la tinción indica la conservación de la tinción de nNOS con el tratamiento con GGF2.

La Figura 11A-C es una serie de fotografías que muestran tinciones representativas de los niveles de tirosina hidroxilasa (TH). El panel A representa la tinción de tejido normal y sobre el panel B una pérdida significativa de

tinción TH después de una lesión por aplastamiento del nervio cavernoso. El panel C muestra tinción TH conservada de terminaciones nerviosas cavernosas en los cuerpos del pene; este hallazgo corresponde a una preservación general o restablecimiento de la inervación del pene después de una lesión por aplastamiento producida por tratamiento con GGF2. Por tanto, la densidad de tinción indicó la conservación de la tinción de TH con el tratamiento con GGF2.

5 La Figura 12A-C es una serie de fotografías que representa la tinción representativa del transportador vesicular de acetilcolina (VaChT). Los resultados muestran tinción de tejido normal (panel A) y una pérdida significativa de tinción de VaChT después de una lesión por aplastamiento del nervio cavernoso (panel B). Por el contrario, la tinción con VaChT conservada de las terminaciones nerviosas cavernosas en los cuerpos del pene mostrados en el (panel C) demuestra un aumento de las tasas de supervivencia de los nervios cavernosos después de una lesión por aplastamiento con el tratamiento con GGF2 (C). La densidad de la tinción muestra tendencias hacia la conservación de la tinción VaChT con el tratamiento con GGF2.

La Figura 13 es un gráfico que representa el cambio en el peso corporal de los sujetos del estudio en función del número progresivo de dosis de GGF2 o vehículo (véase Ejemplo 6).

15 La Figura 14A es un gráfico que representa el cambio en la presión intracavernosa (ICP máxima normalizada a la presión aórtica media (MAP)) a diferentes niveles de estimulación eléctrica del nervio cavernoso (véase el Ejemplo 6). La respuesta de la ICP fue significativamente mayor en los Grupos C y D. Grupo A: simulado + vehículo. Grupo B: simulado + GGF2. Grupo C: BCI + GGF2 (5 mg/kg, sc). Grupo D: BCI + GGF2 (15 mg/kg, sc). Grupo E: BCI + vehículo.

20 La Figura 14B es un gráfico que representa el cambio en la presión intracavernosa (ICP área/MAP) a diferentes niveles de estimulación eléctrica del nervio cavernoso (véase el Ejemplo 6). La respuesta de la ICP fue significativamente mayor en los Grupos C y D. Grupo A: simulado + vehículo. Grupo B: simulado + GGF2. Grupo C: BCI + GGF2 (5 mg/kg, sc). Grupo D: BCI + GGF2 (15 mg/kg, sc). Grupo E: BCI + vehículo.

25 La Figura 15 es un gráfico que representa el número de la mediana de células de Schwann por nervio cavernoso en función del número de fibras amielínicas para los grupos de tratamiento A, E y C (véase el ejemplo 6).

La Figura 16A-B es un par de gráficos que representan un curso temporal de los umbrales mecánicos (táctiles) de von Frey durante 6 semanas de estudio bajo condiciones de lesión simulada, tratamiento con vehículo del tratamiento con GGF2 después de una lesión por aplastamiento (panel A) o lesión de transección (panel B).

30 La Figura 17A-B es un par de gráficos que representan un curso temporal de las respuestas conductuales al enfriamiento por evaporación con acetona durante 6 semanas de estudio en condiciones de lesión simulada, tratamiento con vehículo o tratamiento con GGF2 después de una lesión por aplastamiento (panel A) o una lesión por transección (panel B).

Descripción detallada

35 La lesión de los nervios periféricos es el resultado común de varios eventos, compresión, contusión, transección transversal, aplastamiento o estiramiento, causados, por ejemplo, por traumatismo, accidente o cirugía. Si bien los factores externos que conducen a la lesión nerviosa son variados, las manifestaciones a nivel del nervio tienen características comunes (para una revisión, véase, por ejemplo, Lee and Wolfe, J Am Acad Orthop Surg, 8(4), p. 243, 2008). Las lesiones traumáticas de cualquier etiología a menudo provocan daños en la mielinización, el epineuro, el perineuro, el endoneuro y los axones. En los casos más leves, la lesión es principalmente de la mielina y el epineuro, después de lo cual se produce una recuperación completa espontánea dentro de varios días o semanas.

Muchas lesiones nerviosas dan como resultado la alteración del endoneuro y los axones, así como una alteración de la función que no se recupera completamente o se recupera durante un período de tiempo prolongado.

45 Con respecto a una lesión del nervio periférico que implica daño a un axón, existe una degeneración local de ese axón que se produce pocas horas después de la lesión. Durante los próximos días, el cuerpo de la neurona proximal y el axón se someten a un proceso conocido como degeneración walleriana. Después de la degeneración del axón, la célula de Schwann productora de mielina muere dejando residuos e inflamación. Esta muerte de las células de Schwann y la inflamación relacionada exacerban el daño nervioso.

50 A diferencia del sistema nervioso central, puede producirse una cantidad significativa de regeneración en los nervios periféricos. Los axones crecen a lo largo de los canales del perineuro y reinervan las dianas distales, y las células de Schwann remielinizan los axones. Aunque hay regeneración de los nervios periféricos, el proceso natural de regeneración mediado por el cuerpo no proporciona una restauración completa, y muchas neuronas que sufren degeneración nunca se regeneran o nunca encuentran su diana original ni los resultados de disfunción permanente. Esta disfunción puede comprender pérdida de la función motora, pérdida de la función sensorial, parestesias, pérdida de reflejos, rigidez, contracturas o disminución del rango de movimiento.

5 El dolor normalmente se asocia con una lesión o daño del nervio sensorial y da como resultado la protección e inmovilización del área afectada. Por lo tanto, la nocicepción (la señalización neuronal que subyace a la sensación de dolor), es concomitante con los mecanismos y la promoción de la curación rápida, aunque desencadena una experiencia sensorial y emocional desagradable. Sin embargo, en muchas situaciones patológicas, las entradas nociceptivas pueden resultar en cambios funcionales que son activamente perjudiciales para el organismo.

10 La lesión nerviosa da como resultado la alteración de muchas de las propiedades de las neuronas aferentes primarias y sus conexiones centrales en la médula espinal, lo que lleva a la alodinia (la percepción del dolor de un estímulo normalmente inocuo), hiperalgesia (una respuesta exagerada a cualquier estímulo doloroso proporcionado) y una expansión del campo receptivo (es decir, el área que es "dolorosa" cuando se aplica un estímulo). La mayoría de las condiciones de dolor crónico surgen como resultado de daños en el tejido nervioso central o periférico.

15 Un cuerpo de literatura demuestra que las neuregulinas mejoran la capacidad de las neuronas para regenerarse a través de conductos artificiales y funcionan como terapia complementaria con terapias celulares tales como injertos de células de Schwann. Antes de la presente divulgación, no se sabía que las neuregulinas solas pudieran tratar, por ejemplo, proteger y/o restaurar la función) en la lesión del nervio periférico.

15 Composiciones de neuregulina

La neuregulina se puede utilizar de forma profiláctica, previniendo o minimizando de esta manera una posible lesión. Alternativamente, o además, se puede utilizar neuregulina para tratar una lesión. El término tratamiento puede incluir, pero no se limita a, prevención de lesiones adicionales, inhibición de daños posteriores o en curso, mejora de un signo o síntoma de lesión y/o mejora/restauración de la función después de una lesión.

20 Se puede administrar una neuregulina a un sujeto con riesgo de sufrir una lesión del nervio periférico o de tener una lesión del nervio periférico existente para mejorar la función muscular, tal como, a modo de ejemplo, y no de limitación, la función del músculo esquelético. Los ejemplos de función muscular mejorada incluyen, pero no se limitan a, aumento de la masa muscular (por ejemplo, aumento del tamaño de miofibras), fuerza muscular, reducción de la atrofia muscular y/o reducción de la fibrosis muscular. En un aspecto preferido de las composiciones y métodos de la divulgación, la neuregulina es GGF2.

25 Se puede administrar una neuregulina a un sujeto con riesgo de sufrir una lesión de nervio periférico o tener una lesión de nervio periférico existente para tratar un déficit sensorial y/o motor y/o hipersensibilidad. Los ejemplos no limitantes de déficits sensoriales y/o hipersensibilidad que se pueden tratar mediante los métodos de la divulgación incluyen neuropatía diabética, neuropatía traumática y/o neuropatía quimioterapéutica (por ejemplo, después de la administración de cisplatino o paclitaxel). En un aspecto preferido, la neuregulina es GGF2.

30 Se puede administrar una neuregulina a un sujeto con riesgo de sufrir una lesión del nervio periférico o de tener una lesión del nervio periférico existente para tratar una disfunción del sistema nervioso autónomo en un sujeto que tiene una lesión del nervio periférico existente. Las disfunciones de ejemplo en el sistema nervioso autónomo incluyen disfunciones en los sistemas nerviosos simpático y/o parasimpático. Ejemplos no limitantes de disfunciones autonómicas que se pueden tratar mediante los métodos de la divulgación incluyen disfunciones en el flujo sanguíneo regional (por ejemplo, lesión del nervio cavernoso que resulta en disfunción eréctil), secreciones de motilidad intestinal, cambios respiratorios, cambios de la vejiga y/o cambios oculares. En un aspecto preferido, la neuregulina es GGF2.

35 Composiciones de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, una neuregulina, una NRG-1, o una molécula de péptido o ácido nucleico de GGF2. Los nervios periféricos de ejemplo sujetos a los métodos divulgados incluyen, pero no se limitan a, un nervio ciático y/o un nervio cavernoso.

40 La cantidad de dosificación real de una composición de la presente invención administrada a un sujeto se puede determinar por factores físicos y fisiológicos tales como el peso corporal, gravedad de la afección, tipo de enfermedad que se está tratando, intervenciones terapéuticas previas o concurrentes, idiopatía del paciente y en la ruta de administración. El médico responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la concentración de ingrediente activo en una composición y la dosis apropiada para el sujeto individual.

45 Ciertos aspectos de los métodos divulgados incluyen la administración de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1 - 10, 1 - 20, 10 - 20, 1 - 30, 1 - 40, 1 - 50, 10 - 20, 10 - 30, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 15 - 25, 15 - 40, 15 - 35, 15 - 50, 20 - 50, 20 - 40, 20 - 40, 25 - 35, 30 - 50, 30 - 60, 50 - 75, 50 - 100, 100, 1 - 100, 100 - 150, 150 - 200, 200, 1 - 200 µg o mg de polipéptido o péptido de neuregulina en base a la actividad de la neuregulina particular utilizada, ruta de administración, método de administración y contexto médico. Ciertos aspectos incluyen la administración de neuregulina antes y/o después de lesión.

50 Una neuregulina se puede administrar antes de la lesión, durante la lesión, y/o a intervalos específicos o regulares después de lesión. En un ejemplo no limitante, una neuregulina se puede administrar aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas

antes de la lesión. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses antes de la lesión. Alternativamente, o además, una neuregulina se puede administrar una vez cada 24 horas o cada semana después de lesión. La administración antes de la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración durante la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración después de lesión puede ser sistémica y/o local.

Ciertos aspectos de los métodos divulgados incluyen la administración de aproximadamente 0.005, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 μg o mg , o cualquier valor entre ellos, de polipéptido o péptido de neuregulina en base a la actividad de la neuregulina utilizada, ruta de administración, método de administración y el contexto médico. Por ejemplo, una neuregulina o isoforma de NRG-1, que incluye, pero no se limita a, se administra GGF2 a 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, o 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o mg/kg . Se puede emplear cualquier ruta de administración apropiada, que incluye, pero sin limitarse a, administración parenteral, subcutánea, intramuscular, perineural, intracraneal, intraorbital, oftálmica, intraventricular, intracapsular, intraespinal, intracisternal, intraperitoneal, intranasal, aerosol, oral o transdérmica o tópica (por ejemplo, al aplicar un dispositivo o un parche adhesivo que lleve una formulación capaz de atravesar la dermis y entrar en el torrente sanguíneo).

En un aspecto de la divulgación, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 1.5 mg/kg , desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 2.5 mg/kg , desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 5.0 mg/kg , desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 10 mg/kg , o desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta 15 mg/kg , administrada aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses. En una realización particular, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 0.02 mg/kg , desde aproximadamente 0.02 mg/kg hasta 0.06 mg/kg , desde aproximadamente 0.06 mg/kg hasta aproximadamente 0.1 mg/kg , desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 0.3 mg/kg , desde aproximadamente 0.3 mg/kg hasta aproximadamente 0.5 mg/kg , desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 0.7 mg/kg , desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg , desde aproximadamente 0.7 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg , desde aproximadamente 1.0 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg , desde aproximadamente 1.5 mg/kg hasta aproximadamente 2 mg/kg , desde aproximadamente 2 mg/kg hasta aproximadamente 2.5 mg/kg , desde aproximadamente 2.5 mg/kg hasta aproximadamente 3 mg/kg , desde aproximadamente 3 mg/kg hasta aproximadamente 3.5 mg/kg , desde aproximadamente 3.5 mg/kg hasta aproximadamente 4 mg/kg , desde aproximadamente 4 mg/kg hasta aproximadamente 4.5 mg/kg , desde aproximadamente 4.5 mg/kg hasta aproximadamente 5 mg/kg , desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg , o desde aproximadamente 0.001 mg/kg hasta aproximadamente 5.0 mg/kg administrada aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses. En otra realización particular, los niveles de dosis de GGF2 varían desde aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 15 mg/kg administrada aproximadamente cada 24 horas (o una vez por día), al menos cada 24 horas, cada 48 horas, al menos cada 48 horas, al menos una vez cada dos días, cada 72 horas, al menos cada 72 horas, durante aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, o 12 semanas. En otra realización se administra GGF2 al menos una vez por semana durante 1 mes, 2 meses, o 3 meses.

En otro aspecto de la divulgación, a un rango de dosificación de entre 5 mg/kg a 15 mg/kg , inclusive de los criterios de valoración, una neuregulina o isoforma de NRG-1 se puede administrar a un sujeto sistémica o localmente. Por ejemplo, cuando un polipéptido o péptido NRG1, que incluye, pero no se limita a GGF2, se administra a un rango de dosificación de entre 5 mg/kg a 15 mg/kg , inclusive de los criterios de valoración, la ruta preferida de administración puede ser intravenosa, subcutánea, transdérmica, o tópica. Una neuregulina se puede administrar antes de la lesión, durante la lesión, y/o a intervalos específicos o regulares después de lesión. En un ejemplo, una neuregulina se puede administrar 24 o 48 horas antes de la lesión y una vez cada 24 horas o cada semana después de lesión. La administración antes de la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración durante la lesión puede ser sistémica y/o local. La administración después de lesión puede ser sistémica y/o local. Algunas dosis de una neuregulina (por ejemplo, un rango de dosificación de entre 5 mg/kg a 15 mg/kg , inclusive de los criterios de valoración) se puede administrar mediante un método local o no sistémico, que incluye, pero no se limita a una inyección subcutánea o un implante o un método de suministro transdérmico.

En ciertas realizaciones de las composiciones y métodos divulgados, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, al menos aproximadamente 0.1 % de compuesto activo. En otras realizaciones, se puede administrar un compuesto activo puede comprender entre aproximadamente 2 % a aproximadamente 75 % del peso de la unidad, o entre aproximadamente 25 % a aproximadamente 60 %, por ejemplo, y cualquier rango derivable en la misma. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender desde aproximadamente 1 microgramo (μg)/ kg de peso corporal, aproximadamente 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal, aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal, aproximadamente 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal, aproximadamente 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal,

aproximadamente 200 µg/kg de peso corporal, aproximadamente 350 µg/kg de peso corporal, aproximadamente 500 µg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 350 mg/kg de peso corporal, a aproximadamente 1000 mg/kg mg/kg o más por administración, y cualquier rango derivable en la misma. En ejemplos no limitantes de un rango derivable de los números que se indican en el presente documento, un rango de aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, etc., en base a los números descritos anteriormente.

El término “aproximadamente” se utiliza para indicar que un valor que está dentro del 85 %, 90 %, 95 % o la desviación estándar del error para el dispositivo o método que se emplea para determinar el valor.

Las neuregulinas y polipéptidos que contienen dominios de neuregulinas similares a EGF pueden administrarse a sujetos con un diluyente, portador o excipiente farmacéuticamente aceptable, en forma de dosificación unitaria. Se puede emplear la práctica farmacéutica convencional para proporcionar formulaciones o composiciones adecuadas para administrar dichas composiciones a pacientes o animales de experimentación. Aunque se prefiere la administración intravenosa, se puede emplear cualquier ruta de administración apropiada, por ejemplo, administración parenteral, subcutánea, intramuscular, perineural, intracraneal, intraorbital, oftálmica, intraventricular, intracapsular, intraespinal, intracisternal, intraperitoneal, intranasal, aerosol, oral o transdérmica o tópica (por ejemplo, al aplicar un dispositivo o un parche adhesivo que lleve una formulación capaz de atravesar la dermis y entrar en el torrente sanguíneo). Las formulaciones terapéuticas pueden estar en forma de soluciones o suspensiones líquidas. Para la administración oral, las formulaciones pueden estar en forma de comprimidos o cápsulas. Para las formulaciones intranasales, las formulaciones pueden estar en forma de polvos, gotas nasales o aerosoles.

Por “neuregulina-1”, “NRG-1”, “heregulina” se entiende un polipéptido que se une a los receptores ErbB 3 o 4, y por emparejamiento de receptores (dimerización) también a ErbB2. La neuregulina puede ser GGF2 o cualquier subsecuencia de la misma, o cualquier molécula que comprenda toda o una parte activa de la secuencia de GGF2. El GGF2 puede ser una secuencia de tipo silvestre, una subsecuencia o cualquier variante de la misma que comprenda toda o una parte activa de la secuencia de GGF2. La secuencia de GGF2 puede ser una secuencia humana, una subsecuencia, o cualquier variante de la misma que comprenda toda o una parte activa de la secuencia de GGF2.

Un ejemplo no limitante de una secuencia de aminoácidos de GGF2 de la divulgación (con una región que comprende su dominio similar a EGF subrayado) es:

MRWRRAPRRSGRPGPRAQRPGSAARSSPPLPLLPLLLLGTAAALAPGAAAGNEAAPAG
 ASVCYSSPPSVGVSQELAQRAAVVIEGKVHPQRRQQGALDRKAAAAGEAGAWGGD
 REPPAAGPRALGPPAEEPLLAANGTVPSWPTAPVPSAGEPGEEAPYLVKVHQQVWAVKA
 GGLKKDSLTLVRLGTWGHFAFPSCGRLKEDSRYIFFMEPDANSTSRAPAAFRASFPPLET
 GRNLKKEVSRVLCKRCALPPQLKEMKSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGN
 ELNRKNKPQNIKIQQKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDSSANITIVESNAT
 STSTTGTSHLVKCAEKEKTFVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMA
SFYSTSTPFLSLPE (SEQ ID NO:1) (número de acceso GenBank AAB59622).

Un polipéptido de neuregulina o un segmento del mismo puede ser 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 % idéntico u homólogo a la secuencia de aminoácidos de GGF2. Un polipéptido similar a la neuregulina puede ser 75, 80, 85, 86, 97, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 % idéntico u homólogo a la secuencia de aminoácidos del dominio similar a EGF de GGF2.

Los términos “proteína” o “polipéptido” se refieren a una molécula que comprende al menos diez residuos de aminoácidos. La proteína puede comprender todo o parte del polipéptido GGF2. Se puede utilizar una versión de tipo silvestre de una proteína o polipéptido. Alternativamente, o además, se utiliza una proteína o polipéptido modificado para tratar la lesión del nervio periférico. Los términos “péptido”, “proteína” o “polipéptido” se utilizan indistintamente. El término “péptido” se puede utilizar para referirse a secuencias de aminoácidos de cualquier longitud.

Un “péptido modificado” se refiere a un péptido cuya estructura química, particularmente su secuencia de aminoácidos, está alterada con respecto al péptido de tipo silvestre respectivo. En algunas realizaciones, un péptido

modificado tiene al menos un aminoácido modificado. En algunas realizaciones, un péptido modificado tiene al menos un d-aminoácido. En algunas realizaciones, un péptido modificado tiene al menos un aminoácido de origen no natural.

5 Los péptidos modificados pueden incluir variantes de sustitución, inserción o supresión. Las variantes de supresión carecen normalmente de uno o más residuos de la molécula nativa o de tipo silvestre. Se pueden suprimir residuos individuales o se pueden suprimir varios aminoácidos contiguos. Se puede introducir un codón de terminación (por sustitución o inserción) en una secuencia de ácidos nucleicos codificante para generar una proteína truncada. Los mutantes de inserción normalmente implican la adición de material en un punto no terminal en el péptido. Esto puede incluir la inserción de uno o más residuos. También se pueden generar adiciones terminales, a menudo llamadas proteínas de fusión o péptidos de fusión. Las variantes de sustitución contienen normalmente el intercambio de un aminoácido por otro en uno o más sitios dentro del péptido, y se pueden diseñar para modular una o más propiedades del péptido, con o sin la pérdida de otras funciones o propiedades, tales como unión y activación de receptores de neuregulina. Las sustituciones pueden ser conservadoras, es decir, un aminoácido se reemplaza por uno de forma y carga similares. Alternativamente, las sustituciones pueden ser no conservadoras de manera que se pueda afectar una función o actividad del péptido. Los cambios no conservadores implican normalmente la sustitución de un residuo con uno que sea químicamente diferente, tal como un aminoácido polar o cargado por un aminoácido no polar o no cargado, y viceversa.

20 Las sustituciones conservadoras “pueden incluir, sin limitación, por ejemplo, los cambios de: alanina a serina; arginina a lisina; asparagina a glutamina o histidina; aspartato a glutamato; cisteína a serina; glutamina a asparagina; glutamato a aspartato; glicina a prolina; histidina a asparagina o glutamina; isoleucina a leucina o valina; leucina a valina o isoleucina; lisina a arginina; metionina a leucina o isoleucina; fenilalanina a tirosina o leucina o metionina; serina a treonina; triptófano a serina, tirosina a triptófano o fenilalanina y valina a isoleucina o leucina.

25 Las secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos pueden incluir residuos adicionales, tales como aminoácidos de terminales N o C adicionales, o secuencias 5' o 3', respectivamente, siempre que la secuencia cumpla con los criterios funcionales establecidos en el presente documento, tales como el mantenimiento de la actividad biológica. La adición de secuencias terminales se aplica particularmente a secuencias de ácidos nucleicos que pueden incluir, por ejemplo, varias secuencias no codificantes que flanquean las porciones 5' o 3' de la región codificante.

30 El término “cantidad terapéuticamente efectiva” o “cantidad efectiva” pretende significar la cantidad de neuregulina que provoca una respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que está siendo buscado por un investigador, veterinario, médico u otro clínico.

35 Un cambio terapéutico puede ser un cambio en una característica bioquímica o fisiológica medida en una dirección que alivia la enfermedad o afección que se está abordando, por ejemplo, lesión de nervios periféricos, atrofia muscular (aumenta la masa muscular, mejora la fuerza muscular, reduce la atrofia muscular), reduce el dolor neuropático, mejora la recuperación sensorial, mejora la remielinización del nervio periférico. Más particularmente, una “cantidad efectiva” es una cantidad suficiente para reducir los síntomas asociados con una condición médica o dolencia, para normalizar las funciones corporales en enfermedades o trastornos que dan como resultado el deterioro de funciones corporales específicas, o para proporcionar una mejora en uno o más de los parámetros medidos clínicamente de una enfermedad o afección.

Formulaciones farmacéuticas

40 Las formulaciones farmacéuticas de la presente divulgación comprenden una cantidad efectiva de un péptido disuelto o disperso en un portador farmacéuticamente aceptable. Las frases “farmacéuticamente o farmacológicamente aceptables” se refieren a composiciones que generalmente no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción adversa cuando se administran a un sujeto, por ejemplo, un ser humano, según sea apropiado. Aquellos expertos en la técnica conocen la preparación de dichas composiciones farmacéuticas a la luz de la presente divulgación, como se ejemplifica en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990. Más aún, para propósitos de administración humana, se entenderá que las preparaciones deben cumplir con los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza requeridos por, por ejemplo, la Oficina de Estándares Biológicos de la USFDA.

50 Más aún, como se utiliza en el presente documento, “portador farmacéuticamente aceptable” incluye materiales tales como solventes, medios de dispersión, revestimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardadores de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizadores de fármacos, geles, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes, materiales similares y combinaciones de los mismos, como es conocido por un experto en la técnica en vista de la presente divulgación. Excepto en la medida en que cualquier portador convencional sea incompatible con un ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

Los productos farmacéuticos de la presente divulgación pueden comprender diferentes tipos de portadores dependiendo de si se administrarán en forma sólida, líquida o de aerosol, y si necesita ser estéril para duchas rutas

- de administración como inyección. Los polipéptidos o péptidos de neuregulina de la divulgación se pueden administrar por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea, intravaginal, intrarrectal, intratumoral, intramuscular, perineural, subcutánea, subconjuntival, intravesicular, mucosal, intrapericárdico, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local y por inhalación (por ejemplo, aerosol). Más aún, los polipéptidos o péptidos de neuregulina de la divulgación se pueden administrar mediante inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada que baña las células diana directamente, mediante un catéter, mediante un lavado, o mediante otro método o cualquier combinación de los anteriores, como lo sabe un experto en la técnica.
- La cantidad de dosificación real de una composición administrada a un sujeto se puede determinar mediante factores físicos y fisiológicos tales como el peso corporal, gravedad de la afección, tipo de enfermedad que se está tratando, intervenciones terapéuticas previas o concurrentes, idiopatía del paciente, y ruta de administración. El médico responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la concentración de ingredientes activos en una composición y la dosis apropiada para el sujeto individual.
- En ciertas realizaciones de las composiciones y métodos divulgados, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, al menos aproximadamente 0.1 % de compuesto activo. En otras realizaciones, un compuesto activo puede comprender entre aproximadamente 2 % a aproximadamente 75 % del peso de la unidad, o entre aproximadamente 25 % a aproximadamente 60 %, por ejemplo, y cualquier rango derivable en la misma. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender desde aproximadamente 1 microgramo (μg)/kg de peso corporal, aproximadamente 5 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 10 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 50 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 100 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 200 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 350 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 500 μg /kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 350 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, a aproximadamente 1000 mg/kg mg/kg o más por administración, y cualquier rango derivable en la misma. En ejemplos no limitantes de un rango derivable de los números que se indican en el presente documento, se puede administrar un rango de aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 5 μg /kg de peso corporal a aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, etc., en base a los números descritos anteriormente.
- En cualquier caso, la composición puede comprender varios antioxidantes para retardar la oxidación de uno o más componentes. Adicionalmente, la prevención de la acción de los microorganismos se puede lograr mediante conservantes tales como diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, que incluyen, pero no se limitan a, parabenos (por ejemplo, metilparabenos, propilparabenos), clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal o combinaciones de los mismos.
- Los productos farmacéuticos se pueden formular en una composición en forma de base libre, neutra o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido, por ejemplo, aquellas formadas con los grupos amino libres de una composición peptídica, o que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico o ácido mandélico. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también se pueden derivar de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico; o bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina o procaína.
- En las realizaciones en las que la composición está en forma líquida, un portador puede ser un solvente o medio de dispersión que comprende, pero no se limita a, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, etc.), lípidos (por ejemplo, triglicéridos, aceites vegetales, liposomas) y combinaciones de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina; mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido mediante la dispersión en portadores tales como, por ejemplo, poliol líquido o lípidos; mediante el uso de tensioactivos tales como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa; o combinaciones de dichos métodos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos como, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio o combinaciones de los mismos.
- En ciertas realizaciones, las composiciones se preparan para administración mediante rutas tales como la ingestión oral. En estas realizaciones, la composición sólida puede comprender, por ejemplo, soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina de cubierta dura o blanda), formulaciones de liberación sostenida, composiciones bucales, pastillas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas o combinaciones de los mismos. Las composiciones orales se pueden incorporar directamente con el alimento de la dieta. Los portadores preferidos para la administración oral comprenden diluyentes inertes, portadores comestibles asimilables o combinaciones de los mismos. La composición oral se puede preparar como un jarabe o elixir. Un jarabe o elixir y puede comprender, por ejemplo, al menos un agente activo, un agente edulcorante, un conservante, un agente aromatizante, un tinte, un conservante o combinaciones de los mismos.
- En ciertas realizaciones preferidas, una composición oral puede comprender uno o más aglutinantes, excipientes, agentes desintegrantes, lubricantes, agentes aromatizantes y combinaciones de los mismos. En ciertas

realizaciones, una composición puede comprender uno o más de los siguientes: un aglutinante, tal como, por ejemplo, goma de tragacanto, goma arábica, almidón de maíz, gelatina o combinaciones de los mismos; un excipiente, tal como, por ejemplo, fosfato de dicalcio, manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio o combinaciones de los mismos; un agente desintegrante, tal como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de papa, ácido algínico o combinaciones de los mismos; un lubricante, tal como por ejemplo, estearato de magnesio; un agente edulcorante tal como, por ejemplo, sacarosa, lactosa, sacarina o combinaciones de los mismos; un agente aromatizante, tal como, por ejemplo, menta, aceite de gaulteria, aroma de cereza, aroma de naranja, etc.; o combinaciones de los anteriores. Cuando la forma de unidad de dosificación es una cápsula, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, portadores tales como un portador líquido. Pueden estar presentes varios otros materiales como recubrimientos para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, los comprimidos, píldoras o cápsulas se pueden recubrir con goma laca, azúcar o ambos.

Se pueden preparar soluciones inyectables estériles al incorporar compuestos activos en la cantidad requerida en el solvente apropiado, opcionalmente con varios de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan al incorporar los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los otros ingredientes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones, suspensiones o emulsiones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son técnicas de secado al vacío o de liofilización que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de un medio líquido previamente esterilizado por filtrado del mismo. El medio líquido se debe tamponar adecuadamente si es necesario y el diluyente líquido debe hacerse isotónico antes de la inyección con suficiente solución salina o glucosa. También se contempla la preparación de composiciones altamente concentradas para inyección directa, donde se prevé que el uso de DMSO como solvente dé como resultado una penetración extremadamente rápida, liberando altas concentraciones de los agentes activos a un área pequeña.

Preferiblemente, una composición de la divulgación es estable bajo condiciones estándar de fabricación y almacenamiento, y se conserva contra la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. Se apreciará que la contaminación por endotoxinas se debe mantener mínimamente a un nivel seguro, por ejemplo, menos de 0.5 ng/mg de proteína.

En realizaciones particulares, la absorción prolongada de una composición inyectable se puede producir mediante composiciones de la divulgación que comprenden agentes que retrasan la absorción, tales como, por ejemplo, monoestearato de aluminio, gelatina o combinaciones de los mismos.

Nervios periféricos: nervio ciático

Con respecto al nervio ciático, las composiciones de la invención aumentan la masa muscular, mejoran la fuerza muscular y reducen la atrofia muscular. En particular, la administración de GGF2 aumenta el tamaño de las miofibras y reduce la fibrosis en un tejido que rodea el nervio periférico. Por ejemplo, la administración de GGF2 aumenta el tamaño de las miofibras y reduce la fibrosis en el músculo esquelético. En el presente documento se divulgan composiciones y métodos para prevenir la desminización y/o inducir la remielinización de nervios periféricos dañados. En ciertas realizaciones de las composiciones y métodos divulgados en el presente documento, las composiciones y métodos se utilizan para prevenir la desminización y/o inducir la remielinización de un nervio ciático dañado, que incluye un nervio ciático dañado en un músculo. Un músculo de ejemplo de los métodos divulgados incluye, pero no se limita a, músculo esquelético.

En una realización, la divulgación proporciona composiciones que comprenden una cantidad efectiva de una neuregulina para mejorar la función muscular en un sujeto con riesgo de sufrir una lesión del nervio periférico o de tener una lesión del nervio periférico existente. Las mejoras de la función muscular incluyen, a modo de ejemplo, y no como limitación, la función del músculo esquelético. Los ejemplos de función muscular mejorada incluyen, pero no se limitan a, aumento de la masa muscular (por ejemplo, aumento del tamaño de miofibras), fuerza muscular, reducción de la atrofia muscular y/o reducción de la fibrosis muscular. En un aspecto preferido, la neuregulina es GGF2.

Nervios periféricos: nervio cavernoso

El modelo de disfunción eréctil de rata es un modelo estándar, aceptado y bien publicitado de lesión del nervio periférico. En este abordaje específico, el nervio cavernoso se lesiona mediante compresión con fórceps. La misma lesión por compresión o aplastamiento se puede utilizar como modelo en cualquier otro nervio periférico. En el modelo de lesión del nervio cavernoso, el déficit funcional está en la función eréctil. En vista de la fisiopatología común y constante de la lesión traumática del nervio, dicha lesión del nervio cavernoso es un modelo excelente para la lesión inducida por prostatectomía, así como un modelo general para todas las lesiones traumáticas del nervio periférico.

Las lesiones de los nervios periféricos inducen cambios dentro de los cuerpos celulares de las neuronas sensoriales ubicadas en el ganglio de la raíz dorsal (DRG); estos cambios promueven la supervivencia y la regeneración axonal. Bajo condiciones favorables, por ejemplo, después de una lesión por aplastamiento, la mayoría de las fibras

nerviosas se regeneran con éxito. Sin embargo, en muchas circunstancias clínicamente relevantes, la lesión nerviosa traumática o inducida por una enfermedad tiene un resultado desfavorable con sólo un retorno limitado de la función y, a menudo, con un retraso considerable. En dichos casos, se pueden desarrollar estados de dolor neuropático o crónico.

- 5 El dolor se asocia normalmente con una lesión o daño del nervio sensorial y da como resultado la protección e inmovilización del área afectada. Por lo tanto, la nocicepción (la señalización neuronal subyacente a la sensación de dolor) es concomitante con los mecanismos y la promoción de la curación rápida, aunque desencadena una experiencia sensorial y emocional desagradable. Sin embargo, en muchas situaciones patológicas, las entradas nociceptivas pueden resultar en cambios funcionales que son activamente perjudiciales para el organismo.
- 10 La lesión nerviosa da como resultado la alteración de muchas de las propiedades de las neuronas aferentes primarias y sus conexiones centrales en la médula espinal, lo que lleva a la alodinia (la percepción del dolor de un estímulo normalmente inocuo), hiperalgesia (una respuesta exagerada a cualquier estímulo doloroso) y una expansión del campo receptivo (es decir, el área que es "dolorosa" cuando se aplica un estímulo). La mayoría de las condiciones de dolor crónico surgen como resultado de daños en el tejido nervioso central o periférico.
- 15 La impotencia, o también denominada disfunción eréctil (ED), es un problema común que afecta a 20 millones de hombres solo en los Estados Unidos. La erección del pene es un fenómeno neurovascular que depende tanto de la integridad neuronal como de los vasos sanguíneos funcionales. Tras la estimulación sexual, los neurotransmisores (especialmente el óxido nítrico) se liberan de las terminales nerviosas cavernosas y las células endoteliales. La relajación resultante de los músculos lisos arteriales y arteriulares aumenta el flujo arterial. La sangre atrapada dentro de los cuerpos cavernosos lleva al pene a un estado erecto.

20 La lesión del nervio cavernoso por cirugías pélvicas radicales, tales como cáncer de próstata, vejiga o recto, es una de las causas más comunes de ED iatrogénica en este país. La ED es una fuente importante de morbilidad después de la prostatectomía radical. Por ejemplo, a pesar de la introducción de técnicas quirúrgicas para preservar los nervios, las tasas de potencia posoperatoria varían entre el 30 % y el 80 % para los hombres que se han sometido a procedimientos bilaterales de preservación del nervio cavernoso para el cáncer de próstata confinado al órgano (Wang, J Sex Med, 4: 1085 -97, 2007).

25 Se han investigado hasta la fecha varias estrategias neuromoduladoras; sin embargo, no hay tratamientos disponibles para la neuroprotección de los nervios cavernosos antes o en el momento de la lesión, o tratamientos después de la lesión para provocar la regeneración nerviosa (Michl et al., J Urol 176:227-31, 2006; Burnett and Lue, J Urol 176:882-7, 2006). A pesar de las modificaciones actuales que conservan los nervios de las terapias quirúrgicas y de radiación para las neoplasias malignas pélvicas, subsiste la necesidad de nuevos medios para preservar y restaurar la función eréctil después del tratamiento.

30 Se observa un patrón bien definido de cambios celulares distales al sitio de daño, que progresa desde degeneración axonal y de la cubierta de mielina, invasión de macrófagos, fagocitosis y desdiferenciación de células de Schwann hasta la formación de bandas de Bungner. Estos cambios modifican el entorno del nervio lesionado y su potencial para la regeneración de axones. La supervivencia neuronal se ve facilitada por factores tróficos cuando los axones cambian de un modo de 'transmisión' a un modo de crecimiento, expresando proteínas (GAP-43, tubulina, actina), nuevos neuropéptidos y citocinas. Se requieren nuevas estrategias que mejoren el potencial de crecimiento como soporte del muñón del nervio distal y la capacidad neuronal para regenerarse no es indefinida (Fu and Gordon, Mol Neurobiol. 14: 67-116, 1997).

Ejemplos

Ejemplo 1: Uso de GGF2 para tratar la atrofia muscular después de lesión del nervio periférico

El diseño general del estudio descrito en el presente documento se ilustra en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Diseño de estudio

Grupo	No. de animales	Lesión	Vehículo de artículo de prueba	Nivel de dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mg/kg)	Ruta	Marco de tiempo en vida
1	18	Aplastamiento	GGF2/Tampón	2.6	1	IV	6 animales en 2 S 6 animales en 4 S 6 animales en 6 S
2	18	Aplastamiento	Tampón de formulación	0	1	IV	6 animales en 2 S 6 animales en 4 S

							sem. 6 animales en 6 sem.
3	9	Simulado	NA	0	0	IV	3 animales en 2 sem. 3 animales en 4 sem. 3 animales en 6 sem.

5 Para este estudio, se utilizaron ratas Sprague Dawley (CD) macho de 8-10 semanas de edad. Los animales se asignaron al azar en varios grupos quirúrgicos en base a sus pesos corporales y posteriormente se sometieron a una lesión por aplastamiento del nervio ciático 8 – 10 mm proximal a la trifurcación del nervio ciático (Figura 1) o se
 10 se sometieron a una cirugía simulada en la extremidad posterior derecha. Los animales con lesión por aplastamiento del nervio ciático se trataron con una única dosis en bolo de GGF2 (2.6 mg/kg, por vía intravenosa) o vehículo veinticuatro horas después de la lesión y luego dos veces por semana durante la duración del estudio. Se sacrificaron cohortes de animales que representaban a todos los grupos de tratamiento a las 2, 4 o 6 semanas después de la lesión. Los animales se anestesiaron profundamente con ketamina/xilazina y se sacrificaron mediante perfusión transcardial de solución salina tamponada con fosfato seguida de perfusión de paraformaldehído al 4 %. El músculo gastrocnemio lateral y el nervio ciático distal fueron recolectados, incorporados y seccionados en el lado lesionado. Las secciones laterales del músculo gastrocnemio (3 – 5 µm) se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E), tricromo de Masson y azul de toluidina para la evaluación morfológica de la fibrosis muscular y la distribución del área transversal de las miofibras (Figura 2). Se observó un aumento significativo de la fibrosis después de la lesión por aplastamiento en comparación con los animales controles con operación simulada. Se observó una reducción significativa de la fibrosis en los animales tratados con GGF2 en comparación con los animales tratados con vehículo a las 4 y 6 semanas después de la lesión. A las 6 semanas, GGF2 redujo la fibrosis inducida por lesiones a niveles casi normales en comparación con el tratamiento con vehículo.

20 Adicionalmente, los nervios ciáticos distales se incorporaron en plástico y se seccionaron. Se tiñeron secciones separadas con H&E, luxol fast y azul de toluidina para evaluar el grado de desmielinización después de una lesión por aplastamiento. Específicamente, la Figura 3 muestra una serie de microfotografías (Tricromo 100X) de secciones musculares representativas de animales controles con operación simulada [A], tratados con vehículo [B], y tratados con GGF2 [C] 2 y 6 semanas después de la lesión. En los animales controles con operación simulada, las miofibras estaban dentro de los límites normales a las 2 y 6 semanas después de la lesión. Después de la lesión por aplastamiento, hubo un aumento de la fibrosis y una reducción del tamaño de las miofibras. El tratamiento con GGF2 redujo significativamente la fibrosis muscular a las 4 y 6 semanas después de la lesión. Adicionalmente, hubo alguna mejora en el tamaño de miofibra en los animales tratados con GGF2 en comparación con el vehículo.

30 Después de la lesión por aplastamiento del nervio, la fibrosis del músculo diana aumentó con el tiempo. Adicionalmente, la distribución del tamaño de las miofibras dentro del músculo diana se inclina hacia áreas de sección transversal más pequeñas en animales lesionados por aplastamiento en comparación con los controles simulados. El tratamiento con GGF2 redujo significativamente la fibrosis muscular a las 4 y 6 semanas después de la lesión.

35 Además de sus efectos sobre la fibrosis, el tratamiento con GGF2 promovió un cambio en el área de miofibras hacia un tamaño aumentado (es decir, más como controles simulados) a las 4 y 6 semanas después de la lesión (Figuras 4A-4C). Específicamente, la Figura 4 muestra la distribución de las áreas de miofibras en el músculo gastrocnemio lateral a las 2, 4 y 6 semanas después de la lesión. A las 2 semanas después de la lesión, la distribución de ambos grupos con lesiones por aplastamiento (mediana = 1501 - 2000 µm²) fue claramente diferente del grupo simulado (mediana = 3001 - 3500 µm²). A las 4 y 6 semanas, el grupo simulado mostró un desplazamiento hacia la derecha hasta que las secciones superaron los 5000 µm² de área. La mediana del grupo tratado con vehículo permaneció desplazada a áreas más pequeñas (2001 - 2500 µm²). El tratamiento con GGF2 mejoró significativamente el tamaño de las miofibras a las 4 semanas (2501 - 3000 µm²) y a las 6 semanas (3001 - 3500 µm²), respectivamente.

Ejemplo 2: El GGF2 mejora la remielinización del nervio ciático después de una lesión

45 El análisis preliminar de los muñones nerviosos distales lesionados mostró que la lesión por aplastamiento producía desmielinización axonal 2, 4 y 6 semanas después de la lesión. Además, después de la lesión se produjo hinchazón axonal, degeneración walleriana, inflamación leve y fibrosis entre los axones. Se observó daño axonal en más de la mitad del paquete de nervios en sección transversal. El GGF2 mejora la remielinización a las 4 y 6 semanas en el nervio ciático distal lesionado en comparación con los controles tratados con vehículo.

Específicamente, la Figura 5 muestra una evaluación semicuantitativa de la mielinización en la tinción de proteína proteolípida del nervio ciático (PLP). A las 2, 4 y 6 semanas, las secciones transversales del nervio ciático estaban dentro de los límites normales en los animales controles con operación simulada. Hubo una amplia variedad de lesiones con diversa gravedad en los grupos tratados con vehículo y GGF2; sin embargo, pareció que GGF2 redujo cualitativamente el grado de desmielinización en comparación con los animales tratados con vehículo.

Ejemplo 3: El modelo de rata de lesión del nervio cavernoso

El modelo de rata de lesión del nervio cavernoso normalmente utiliza la siguiente metodología. Las ratas se anestesian con isoflurano. Los animales se colocan sobre una almohadilla térmica para mantener la temperatura corporal a 37 °C. Se afeita el abdomen y se frota con una solución antiséptica de Clindina (povidona yodada). Se realiza una abertura en la línea media del abdomen inferior de la cavidad peritoneal, exponiendo tanto los nervios cavernosos como el ganglio pélvico mayor (MPG). La lesión del nervio cavernoso se induce al aplastar el nervio cavernoso con una pinza hemostática durante dos minutos por lado. En los estudios relacionados con la neuregulina, dos grupos de neuregulina fueron tratados 48 horas antes de la lesión.

El modelo de aplastamiento de ratas proporciona una disminución simple, reproducible y extremadamente confiable de la función eréctil. Esta técnica se utiliza ampliamente y se han publicado varios estudios utilizando esta técnica. No hay necesidad de evaluar la función eréctil después de una lesión por aplastamiento, la disminución de la función eréctil es predecible y, normalmente, las pruebas funcionales se realizan aproximadamente 5 semanas después de la lesión por aplastamiento.

Después de la lesión del nervio cavernoso, la cavidad abdominal se cierra en dos capas con reproximación de los músculos abdominales y la fascia (sutura absorbible) mediante 2 - 3 suturas interrumpidas. La piel se cierra utilizando una sutura continua subcuticular (enterrada) para la piel con un material de sutura que no absorbe la mecha (PDS o recubierto con vicrilo). El analgésico de buprenorfina se administró de forma preventiva (10 minutos antes de finalizar el procedimiento) y cada 6-12 horas después de la operación durante 48 horas para controlar el dolor.

Aproximadamente 5 semanas después de la operación, las ratas se anestesiaron con ketamina (100 mg/kg IP) y xilazina (5 mg/kg). Los pilares cavernosos se exponen a través de la misma incisión y se realizan estudios funcionales con una aguja de 23 G insertada en el pilar izquierdo y conectada a un programa de software diseñado específicamente para medir las presiones intracavernosas. Antes de la medición, los nervios cavernosos se estimulan con un electrodo a 1.5 mA. La duración del procedimiento de medición es de aproximadamente 15 minutos. Las ratas se sacrificaron con eutanil-intercardíaco antes de la recuperación anestésica y se recogieron tejidos (nervios cavernosos, MPG, pene, próstata) para microscopía óptica y evaluaciones moleculares e histológicas.

Como se presenta en los datos de presiones intracavernosas (ICP) mostrados en la Fig. 6, la electroestimulación de los nervios cavernosos 5 semanas después de la lesión demostró una preservación significativa de la función del nervio y del órgano terminal en ambos grupos tratados con neuroregulación y esto fue incluso más significativo en dosis más altas. Los datos se analizaron primero mediante ANOVA de medidas no repetidas con la prueba t de Bonferroni y la significancia se consideró a p < 0.05. Todos los resultados se expresan como la media ± EEM. Los cambios también mejoraron significativamente cuando se normalizaron a las Presiones Aórticas como se muestra en la Fig. 7.

Desde un punto de vista histológico, los datos indican que el tratamiento con NRG aumentó el número de fibras nerviosas intactas en base al marcado transportado retrógradamente con oro flúor en el MPG, y mejoró la preservación de la sintasa de óxido nítrico neuronal y VaChT de los tejidos del músculo liso y del nervio del pene. Esto indica que existen mecanismos de acción neuroprotectores y/o neuroregenerativos. La apoptosis del músculo liso también se reduce en comparación con los animales con lesiones por aplastamiento que no reciben ninguna neuregulina.

Ejemplo 4: Métodos de histología de fluoro-oro

Para realizar este protocolo, se realizó una inyección intracorporal de fluoro-oro al 4 % y, en la semana uno, se recolectaron los tejidos de los Ganglios Pélvicos Mayores (MPG) y se fijaron en paraformaldehído al 4 %, tampón fosfato 0.1 M, se fijaron durante la noche y luego se colocaron en sacarosa al 20 %. El seccionamiento criogénico fue de 20 pm de grosor. Las imágenes se tomaron utilizando una cámara Infinity y un sistema de formación de imágenes, seguidas de análisis ciegos para conteos celulares mejorados con fluoro-oro. Posteriormente, se seleccionaron al azar portaobjetos de muestras de MPG (10 por animal) y se realizaron recuentos de células para determinar el número de neuronas intactas. (Véase, por ejemplo, Dail, W. G., Trujillo, D., de la Rosa, D. and Walton, G.: Autonomic innervation of reproductive organs: analysis of the neurons whose axons project in the main penile nerve in the pelvic plexus of the rat. Anat Rec, 224: 94, 1989; Laurikainen A, Hiltunen J O, Vanhatalo S, Klinge E, Saarma M: Glial cell line-derived neurotrophic factor is expressed in penis of adult rat and retrogradely transported in penile parasympathetic and sensory nerves. (Cell Tissue Res 2000, 302:321-9.) [0081] Por lo tanto, este fue un protocolo de rastreo retrógrado que utiliza fluoro-oro. Los resultados de este protocolo proporcionaron información

que indica que el tratamiento con neuregulina ayudó a la regeneración y la reproyección a su diana (los cuerpos cavernosos del pene) y/o la neuroprotección de los nervios cavernosos.

De acuerdo con lo anterior, se inyectó fluoro-oro en un órgano diana, en este caso los cuerpos del pene. A partir de entonces, se produjo la captación de las terminales nerviosas de los órganos terminales. Esta captación indicó que las fibras nerviosas se conservaron y/o volvieron a crecer en el área inyectada. Una vez que hay captación de fluoruro de oro, el fluoruro de oro se transporta de forma retrógrada en el axón del nervio y la marca se acumula en las neuronas originales del MPG (ganglio pélvico principal).

La Fig. 8 muestra el marcado representativo de fluoro-oro de los ganglios pélvicos principales (MPG) de 3 animales por grupo de tratamiento ((panel A) normal, (panel B) aplastamiento, (panel C) aplastamiento+GGF2). Los animales normales (panel A) demuestran la cantidad de marcado retrógrado observado en ausencia de lesión nerviosa. Los animales aplastados (panel B) demuestran la drástica reducción de las fibras nerviosas intactas de la lesión, ya que la etiqueta de fluoro-oro no se puede transportar de nuevo hasta el MPG. Los animales con aplastamiento+GGF2 (panel C) muestran un mayor número de células MPG marcadas con fluoro-oro, lo que indica que hay más fibras nerviosas conservadas presentes después de la lesión como resultado del tratamiento con GGF2.

La Fig. 9 proporciona una cuantificación del marcado con fluoro-oro en la MPG. Los animales normales tienen un gran número de cuerpos celulares marcados en el MPG. Después de una lesión por aplastamiento, el número de células marcadas se reduce drásticamente, como consecuencia del daño de las fibras nerviosas y la incapacidad resultante de transportar de forma retrógrada la marca de vuelta al MPG. El tratamiento con GGF2 mejoró el número de fibras nerviosas intactas disponibles para transportar el fluoro-oro desde el tejido del pene hasta el MPG de manera retrógrada, lo que resultó en un mayor número de células marcadas.

Ejemplo 5: Inmunohistoquímica

Se tiñeron criosecciones longitudinales de la porción proximal de los cuerpos para nNos, VaChT. Todos los lavados se realizaron con tampón Tris que contenía triton-X al 1 %. El tejido se bloqueó durante 1 hora con suero de cabra normal al 5 % y luego se incubó durante la noche a 4 °C con, respectivamente:

- 25 a) nNOs (Sigma; 1/1000) o
- b) VaChT (Abcam; 1/150) o
- c) TH (Millipore; 1/5000).

Después de varios enjuagues, las secciones se incubaron durante 1 hora en HRP de cabra-anti-conejo y anti-cabra de burro (1/1000) luego en una solución DAB que contenía sulfato de amonio y níquel al 0.2 % y peróxido de hidrógeno al 0.03 % durante 10 min. Después del último lavado, las secciones se deshidrataron, se aclararon con xileno y se cubrieron con un cubreobjetos en Permout (Fisher Scientific).

Tinción nNos:

El óxido nítrico (NO) liberado de las placas terminales axonales de los nervios cavernosos dentro de los cuerpos cavernosos, junto con el NO endotelial, provoca la relajación del músculo liso, iniciando los cambios hemodinámicos de la erección del pene y así como la contribución a mantener la tumescencia. Actualmente se entiende que un retorno a la potencia después de una lesión de los nervios cavernosos depende, al menos en parte, de la regeneración axonal en los tejidos neurales restantes y de la reinervación funcional exitosa del órgano terminal (lo que permite la activación neuronal del NO). Se observan cambios patobiológicos bien definidos en estudios de modelos animales del pene después de un compromiso del nervio cavernoso. Estos cambios patobiológicos pueden variar desde neuropraxia hasta daño axonal letal, y pueden incluir apoptosis del músculo liso, apoptosis del endotelio, reducción de la densidad nerviosa de óxido nítrico sintasa (NOS), regulación al alza de citocinas fibroproliferativas tal como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- (3), fibrosis o pérdida del músculo liso, o respuestas de señalización patobiológicas tal como la proteína erizo sónica alterada.

Adicionalmente, se considera que una ausencia crónica de erección secundaria a neuropraxia del nervio cavernoso durante la fase de recuperación prolongada exacerba el potencial de un mayor deterioro estructural del músculo liso cavernoso debido a una falla del ciclo cavernoso normal entre los estados flácido y erecto (Bella A J, Lin G, Fandel T M, Hickling D R, Morash C, Lue T F. Nerve growth factor modulation of the cavernous nerve response to injury. J Sex Med 6 Suppl 3: 347-352, 2009)

La nNOS cavernosa es un marcador bien establecido de conservación del nervio cavernoso. (Véase, por ejemplo, onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2010.09364.x/full). Los resultados de este protocolo indicaron un efecto neuroprotector y/o regenerador de nervios después de una lesión del nervio cavernoso bilateral en la rata producida de acuerdo con el protocolo del Ejemplo 3.

La densidad de los resultados de la tinción (secciones corporales proximales representativas, 5 portaobjetos seleccionados al azar, observador ciego basado en 5 animales por grupo) indicó la conservación de la tinción de nNOS para sujetos tratados con neuregulina.

5 La Fig. 10 proporciona una tinción representativa para los niveles de nNos. La densidad de tinción indica la presencia de nNOS. Los resultados de este trabajo incluyen tinción de tejido normal (panel A). En comparación, hay una pérdida significativa de tinción de nNOS después de una lesión por aplastamiento del nervio cavernoso (panel B). La tinción con nNOS conservada de las terminaciones nerviosas cavernosas en los cuerpos del pene demuestra un aumento de las tasas de supervivencia y/o regeneración de los nervios cavernosos después de una lesión por aplastamiento con el tratamiento con GGF2 (panel C). La densidad de la tinción indica la conservación de la tinción de nNOS con el tratamiento con GGF2.

Tinción con Transportador de Acetilcolina Vesicular (VaChT):

15 Las neuronas del ganglio pélvico que inervan el pene expresan nNOS y marcadores colinérgicos, mientras que la inervación noradrenérgica simpática del pene surge en gran medida a través de la cadena simpática y no atraviesa los nervios del pene ni el ganglio pélvico. Los resultados de este protocolo proporcionaron información que indica que el tratamiento con neuregulina ayudó a la regeneración y la reproyección a su diana (los cuerpos cavernosos del pene) y/o la neuroprotección de los nervios cavernosos en base a la tinción intracorporal para el transportador vesicular de acetilcolina (VaChT). Aunque la etiología primaria de la ED posquirúrgica es neurogénica, los estudios en roedores han revelado que también se producen cambios morfológicos y funcionales dentro del tejido cavernoso después de la lesión del nervio del pene. (Véase, por ejemplo, Keast J R. Plasticity of pelvic autonomic ganglia and urogenital innervation. *Int Rev Cytol* 2006; 248: 141-208; Andersson K E, Hedlund P, Aim P. Sympathetic pathways and adrenergic innervation of the penis. *Int J Impot Res* 2000; 12:55-12; Mulhall JM, Bella A J, Briganti A, McCullough A, Brock G. Erectile Function Rehabilitation in the Radical Prostatectomy Patient. *J Sex Med* 7(4), 1687-1698, 2010).

25 La densidad de los resultados de la tinción (secciones corporales proximales representativas, 5 portaobjetos seleccionados al azar, observador ciego basado en 5 animales por grupo) indicó la conservación de la tinción de VaChT en las ratas que recibieron el GGF2.

30 La Fig. 12 proporciona una tinción inmunohistoquímica representativa del transportador de acetilcolina vesicular (VaChT). La densidad de tinción indica la presencia de VaChT. Los resultados incluyen tinción de tejido normal (panel A) y una pérdida significativa de tinción de VaChT después de una lesión por aplastamiento del nervio cavernoso (panel B). Por el contrario, la tinción con VaChT conservada de las terminaciones nerviosas cavernosas en los cuerpos del pene mostrados en el Panel C demostró un aumento de las tasas de supervivencia y/o regeneración de los nervios cavernosos después de una lesión por aplastamiento tratada con tratamiento con GGF2 (panel C). La densidad de las muestras de tinción indica la conservación de la tinción de VaChT con el tratamiento con GGF2.

35 Tinción TH:

La TH es un marcador de fibras nerviosas adrenérgicas y se utiliza para apoyar la preservación del nervio en los cuerpos. La porción proximal de los cuerpos fue crioseccionada longitudinalmente y teñida con anticuerpos primarios producidos contra el marcador de síntesis de catecolaminas, tirosina hidroxilasa (Impaired Cavernous Reinnervation after Penile Nerve Injury in Rats with Features of the Metabolic Syndrome Matthew R Nangle, BSc, PhD, Joseph Proietto, MBBS, PhD, and Janet R. Keast, BSc, PhD *J Sex Med* 2009; 6:3032-3044).

45 La densidad de los resultados de la tinción indica la presencia de TH. La densidad de los resultados de tinción realmente logrados (secciones corporales proximales representativas, 5 portaobjetos seleccionados al azar, observador ciego basado en 5 animales por grupo) indicó la conservación de la tinción de TH en los animales tratados con GGF2. La Fig. 11 proporciona una tinción representativa de los niveles de tirosina hidroxilasa (TH). Los resultados incluyen tinción de tejido normal (panel A) y una pérdida significativa de tinción TH después de una lesión por aplastamiento del nervio cavernoso (panel B). El panel C muestra la tinción de TH conservada de las terminaciones nerviosas cavernosas en los cuerpos del pene que corresponde mejor a un aumento general en la preservación de la inervación del pene después de una lesión por aplastamiento con el tratamiento con GGF2 (panel C). La densidad de la tinción muestra tendencias hacia la conservación de la tinción TH con el tratamiento con GGF2.

Ejemplo 6: GGF2 es neuroprotector en un modelo de rata de disfunción eréctil inducida por lesión del nervio cavernoso.

55 La disfunción eréctil (ED) es una complicación común después de la prostatectomía radical. Se reconoce que se debe a la neuropatía del pene; sin embargo, no existe un tratamiento eficaz. El factor de crecimiento glial 2 (GGF2) es un miembro de la familia de factores de crecimiento de las neuregulinas que se ha demostrado que protege a las neuronas de lesiones y estimula su crecimiento en un rango de modelos animales de neuropatía. Nuestros datos anteriores sugieren que GGF2 administrado por vía subcutánea (sc) puede ser una terapia viable para la lesión del

nervio cavernoso (NC). En este estudio, se analizó un rango de dosis eficaz de GGF2 para recuperar la función eréctil (EF) y se examinó su efecto sobre la supervivencia del CN.

5 Las ratas macho adultas (en promedio, con un peso de aproximadamente 325 - 350 gramos) se sometieron a una lesión por aplastamiento (BCI) del nervio cavernoso (CN) bilateral o una cirugía simulada (control) y se dividieron en los siguientes grupos (n = 10 - 12/grupo, tratamiento farmacológico ciego): Control+vehículo (Grupo A); Control+GGF2 (15 mg/kg) (Grupo B); BCI+Vehículo (Grupo E); BCI+GGF2 (5 mg/kg) (Grupo C); BCI+GGF2 (15 mg/kg) (Grupo D). El GGF2 se administró por vía subcutánea (sc) 24 horas antes de la cirugía (1ª dosis), 24 horas después de la cirugía (2ª dosis) y una vez a la semana hasta el final del estudio 5 semanas después de BCI o cirugía simulada (3ª a 7ª dosis). Al final del tratamiento, se examinó la función eréctil (EF) al monitorizar las respuestas de la presión intracavernosa (ICP) a la estimulación eléctrica de CN a 0.3, 1 y 4 voltios. Los CN se procesaron para análisis microscópico electrónico y cuantificación de fibras nerviosas amielínicas.

La Figura 13 demuestra el aumento de peso corporal de cada grupo experimental desde la primera hasta la última dosis de GGF2 o vehículo.

15 La EF disminuyó significativamente en los grupos BCI+vehículo y BCI+GGF2 (15 mg/kg) ($p < 0.05$) pero no en el grupo BCI+GGF2 (5 mg/kg) ($p > 0.05$) en comparación con el control+vehículo a 0.3 y 1 voltio (Figura 14A y B). A 4 voltios, la EF aumentó significativamente en ambos grupos BCI+GGF2 (5 y 15 mg/kg) en comparación con BCI+vehículo ($p > 0.05$) y no difirió del Control+vehículo ($p > 0.05$) (Figura 14A y B). En el grupo BCI+GGF2 (5 mg/kg), el número de células de Schwann desnervadas sin fibras amielínicas fue significativamente menor que en el grupo BCI+vehículo ($p < 0.05$), y el histograma de fibras nerviosas amielínicas demostró un desplazamiento hacia la derecha, lo que indica un aumento en el número de axones amielínicos por célula de Schwann (Figura 15).

El tratamiento con GGF2 a 5 mg/kg, sc conservó eficazmente la EF en ratas después de una lesión por aplastamiento de CN con un aumento en el número de fibras nerviosas amielínicas supervivientes. Estos resultados indican que GGF2 es un potente agente neuroprotector en la inervación del pene y proporciona un nuevo enfoque terapéutico para tratar o prevenir la ED después de la cirugía de próstata.

25 **Ejemplo 7: Realizaciones alternativas**

La lesión del nervio periférico puede ocurrir en casi cualquier contexto quirúrgico. La probabilidad de lesión nerviosa se correlaciona con la ubicación y extensión de la disección de tejido en cualquier cirugía. Por ejemplo, la cirugía de mastectomía tiene complicaciones frecuentes como resultado de una lesión del nervio periférico, que incluye el entumecimiento de la axila y el brazo (por ejemplo, lesión a lesión del nervio intercostobraquial), escápula alada (lesión a lesión del nervio torácico largo), parálisis del dorsal ancho (lesión a lesión del nervio toracodorsal). (Véase Watt-Boolsen et al., 1988; Aitken and Minton, 1983).

35 De acuerdo con lo anterior, la neuregulina se utiliza antes, después o antes y después de la mastectomía para limitar la lesión de los nervios y/o mejorar la recuperación de la función del nervio periférico. Los pacientes programados para someterse a una mastectomía se tratan aproximadamente 24 horas antes de la cirugía con una cantidad adecuada de neuregulina. Opcionalmente, los pacientes también se tratan durante un período de hasta aproximadamente 6 semanas o más después de la cirugía para mejorar la recuperación neural. En realizaciones alternativas, los pacientes solo se tratan antes o solo se tratan después de la cirugía. Como se indica en el presente documento, la neuregulina se utiliza para prevenir lesiones nerviosas como consecuencia de cirugías de resección de tumores (prostatectomía, mastectomía, tiroidectomía, etc.). Se observa que las neuregulinas se han implicado como promotoras y supresoras de la formación y el crecimiento de células tumorales (Atlas et al., 2003; Chua et al., 2009). El tratamiento con neuregulina puede estar o no contraindicado en pacientes con ciertos tumores. Las neuregulinas se utilizan en pacientes con tumores positivos para erbB solo cuando suficientes estudios de seguridad demuestran que las neuregulinas no mejoran el crecimiento de dicho tumor.

45 Más aún, el tratamiento de la lesión nerviosa por cirugía no se limita a mastectomía y prostatectomía. La lesión nerviosa ocurre con frecuencia en cualquier cirugía que involucre disección y/o resección significativas. Estas cirugías pueden incluir, entre otras, cirugía de miembros superiores, cirugía de mano, cirugía/reemplazo de rodilla, cirugía/reemplazo de cadera, cirugía/reemplazo de codo, disección de cuello para cirugía arterial y venosa, cirugía de tiroides, amigdalectomía, cirugía de mano y pie. La lesión del nervio periférico es común en la cirugía pélvica, abdominal y colorrectal. La lesión de los nervios también ocurre con las cirugías orales y faciales.

50 Además de la lesión directa de los nervios a través de la disección y resección en cirugía, la lesión de los nervios con frecuencia resulta de la compresión o estiramiento de los nervios durante la cirugía debido al posicionamiento del paciente, compresión sobre los puntos de contacto o de cortinas, retenedores, clips, cinta o cualquier otro objeto que pueda comprimir el tejido. Estos pueden ser resultados inevitables de la cirugía o el resultado de una técnica incorrecta. No importa cuál sea el entorno o la etiología de la lesión del nervio periférico, se ha encontrado que las neuregulinas previenen y/o tratan dicha lesión.

En humanos, los ensayos clínicos demuestran la eficacia de NRG para la prevención y el tratamiento de la lesión del nervio periférico con datos de la evaluación de la función sensorial y/o motora de regiones nerviosas frecuentemente afectadas en pacientes que son tratados con neuregulina o con un control placebo. Por ejemplo, el entumecimiento

de la axila se puede probar mediante métodos neurológicos estándar de función sensorial que incluyen pruebas de alodinia, hiperalgesia, umbral sensorial o agudeza (discriminación de dos puntos). Estos métodos son estándar en el campo. Los pacientes son seguidos durante un período de varios meses después de la cirugía y se realizan comparaciones estadísticas entre los grupos de pacientes tratados con neuregulina y aquellos tratados con un control. De acuerdo con estas pruebas, se encuentra que el tratamiento con NRG antes y/o después de un evento quirúrgico previene y/o trata la lesión del nervio periférico evaluado.

Los ensayos análogos a los anteriores también evalúan de manera similar la fuerza motora, el rango de movimiento y la coordinación. De acuerdo con estos ensayos, se ha descubierto que el tratamiento con NRG antes y/o después de un evento quirúrgico previene y/o trata la lesión del nervio periférico que da como resultado el deterioro de una o más de la fuerza motora, rango de movimiento o coordinación.

Ejemplo 8: uso de GGF2 para disminuir el dolor neuropático y/o mejorar la función sensorial después de una lesión del nervio periférico

El diseño general del estudio descrito en el presente documento se ilustra en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Diseño de estudio

Grupo	No. de animales	Lesión de nervio ciático	Tratamiento	Nivel de dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mg/kg)	Ruta/Régimen	Marco de tiempo en vida
1	12	Aplastamiento	GGF2/Tampón	2.6	1	IV Dos veces a la semana	6 animales en 2 sem. 6 animales en 6 sem.
2	12	Aplastamiento	Tampón de formulación	0	1	IV Dos veces a la semana	6 animales en 2 sem. 6 animales en 6 sem.
3	12	Transección	GGF2/Tampón	2.6	1	IV Dos veces a la semana	6 animales en 2 sem. 6 animales en 6 sem.
4	12	Transección	Tampón de formulación	0	1	IV Dos veces a la semana	6 animales en 2 sem. 6 animales en 6 sem.
5	6	Simulado	NA	0	0	NA	3 animales en 2 sem. 3 animales en 6 sem.

Para este estudio, se utilizaron ratas Sprague Dawley (CD) macho de 8-10 semanas de edad. Los animales se asignaron al azar en grupos quirúrgicos en base a su peso corporal y posteriormente se sometieron a una lesión del nervio ciático izquierdo (aplastamiento o transección) 8 - 10 mm proximal a la trifurcación del nervio ciático (Figura 1) o recibieron una cirugía simulada en la extremidad posterior izquierda. Los animales con lesión del nervio ciático se trataron con una única dosis en bolo de GGF2 (2,6 mg/kg, por vía intravenosa) o vehículo veinticuatro horas después de la lesión y luego dos veces por semana durante la duración del estudio. Se evaluaron cohortes de animales que representaban a todos los grupos de tratamiento para determinar las respuestas conductuales provocadas al inicio inmediatamente antes de la cirugía y luego cada dos semanas hasta que fueron sacrificados a las 2 o 6 semanas después de la lesión. La sensibilidad mecánica de la pata ipsilateral (nervio lesionado) se evaluó utilizando filamentos de von Frey en los que se aplicaron una serie de estímulos táctiles graduados a la parte inferior de la pata utilizando filamentos calibrados para doblarse a fuerzas específicas. El umbral de respuesta táctil (mecánico) se midió al registrar la fuerza que hace que la pata afectada se retire abruptamente. Los umbrales mecánicos posteriores a lesión obtenidos a las 2, 4 y 6 semanas se promediaron por grupo y se compararon entre tratamientos.

También se evaluó la sensibilidad al frío de la pata ipsilateral antes y cada dos semanas después de la lesión nerviosa o la cirugía simulada. Para el enfriamiento selectivo de una sola extremidad posterior, las ratas se colocaron individualmente en cámaras sobre una superficie de suelo perforada elevada y se aplicó acetona (100 µl) a la pata posterior. Los sujetos sensibles a este enfriamiento por evaporación exhibieron un rápido levantamiento/lamido de la pata posterior. El porcentaje de respuestas positivas provocadas por cinco aplicaciones secuenciales de acetona, separadas entre sí por al menos 10 minutos, se tomó como una medida de sensibilidad al frío. Las sensibilidades al frío posteriores a lesión obtenidas a las 2, 4 y 6 semanas se promediaron por grupo y se compararon entre los tratamientos.

Las ratas sometidas a una lesión parcial del nervio ciático, como aplastamiento ciático, a menudo desarrollan síntomas de dolor neuropático. Esto fue ejemplificado en el estudio actual por la dramática reducción en los umbrales mecánicos observados en las ratas lesionadas por aplastamiento (Fig. 16A). Nótese que las ratas sometidas a cirugía simulada mantuvieron un umbral mecánico de 15 g o más, mientras que las ratas lesionadas por aplastamiento tratadas con vehículo exhibieron sensibilidades mecánicas consideradas en el rango alodínico. Se observó que el tratamiento de ratas lesionadas por aplastamiento con GGF2 mitiga ligeramente la gravedad de la alodinia mecánica. Se observó un patrón similar en la evaluación de la sensibilidad al frío después de una lesión por aplastamiento en la que las ratas tratadas con GGF2 exhibieron un porcentaje de respuesta reducido al enfriamiento por evaporación con acetona en comparación con las ratas tratadas con vehículo (Fig. 17A).

Las ratas sometidas a una lesión completa del nervio ciático, como en la sección transversal, exhiben síntomas de desaferenciación tales como una falta completa de sensibilidad mecánica y al frío. Además, la falta de sensación aferente junto con aparentes disestesias en ocasiones engendra conductas de automutilación (autotomía o autofagia) dirigidas hacia la extremidad denervada. En ratas de transección ciática, se observó que el tratamiento con GGF2, en contraste con el tratamiento con vehículo, promovía fácilmente el restablecimiento de la sensación mecánica, sin producir alodinia (Fig. 16B). Las sensibilidades al frío de la pata mejoraron de forma similar mediante el tratamiento con GGF2 después de la transección ciática (Fig. 17B) en comparación con el tratamiento con vehículo. Finalmente, pocas ratas exhibieron autotomía de desaferenciación inducida por transección cuando se les siguió durante 6 semanas de tratamiento con GGF2 (1 de 6 ratas) en comparación con 6 semanas de tratamiento con vehículo (2 de 6 ratas).

Lista de secuencias

- <110> Acorda Therapeutics, Inc. Caggiano, Anthony Bella, Anthony Iaci, Jennifer Ganguly, Anindita Parry, Thomas Colburn, Ray
- <120> Uso de neuregulina para tratar lesión del nervio periférico
- <130> 43509-525001WO
- <150> 61/618,381
- <151> 2012-03-30
- <150> 61/674,060
- <151> 2012-07-20
- <150> 61/693,589
- <151> 2012-08-27
- <150> 61/693,585
- <151> 2012-08-27
- <150> 61/785,419
- <151> 2013-03-14
- <160> 1
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 422
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

ES 2 857 810 T3

<400> 1

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
1 5 10 15

Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu
20 25 30

Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala
35 40 45

Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser
50 55 60

Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala
65 70 75 80

Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala
85 90 95

ES 2 857 810 T3

Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly
 100 105 110

Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro
 115 120 125

Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro
 130 135 140

Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr
 145 150 155 160

Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys
 165 170 175

Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala
 180 185 190

Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe
 195 200 205

Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg
 210 215 220

Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val
 225 230 235 240

Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Gln Leu Lys Glu
 245 250 255

Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys
 260 265 270

Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn
 275 280 285

Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln
 290 295 300

Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala
 305 310 315 320

Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp
 325 330 335

Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350

ES 2 857 810 T3

Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
355 360 365

Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
370 375 380

Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
385 390 395 400

Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro
405 410 415

Phe Leu Ser Leu Pro Glu
420

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una cantidad efectiva de un GGF2 para uso en un método para reducir dolor neuropático en un sujeto en riesgo de sufrir una lesión del nervio periférico debido a un procedimiento quirúrgico.
- 5 2. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el nervio periférico es un nervio ciático o un nervio cavernoso, o en la que la lesión del nervio periférico resulta en disfunción eréctil.
3. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el procedimiento quirúrgico es una disección de tejido o una resección de tumor, opcionalmente en el que el tejido o tumor es un cáncer, preferiblemente en el que el cáncer es un cáncer sólido o en el que el cáncer es un cáncer de próstata o de mama.
- 10 4. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el procedimiento quirúrgico es una cirugía pélvica, abdominal o colorrectal.
5. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que la lesión del nervio periférico es una transección nerviosa, un aplastamiento de nervios, o una desmielinización nerviosa.
6. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que en el método la composición se administra de acuerdo con un régimen de dosificación discontinuo.
- 15 7. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 6 en la que el régimen de dosificación discontinuo comprende administrar la composición a intervalos especificados, opcionalmente en la que
 - a) los intervalos especificados se seleccionan del grupo que consiste en cada 24 horas, cada 48 horas, y cada 72 horas, o el grupo que consiste en al menos cada 24 horas, al menos cada 48 horas, y al menos cada 72 horas, y preferiblemente en el que el régimen de dosificación discontinuo continúa durante un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 semana, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 7 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 9 semanas, aproximadamente 10 semanas, aproximadamente 11 semanas, y aproximadamente 12 semanas, o
 - 20 b) el intervalo especificado es al menos una vez por semana, y preferiblemente en el que el régimen de dosificación discontinuo continúa durante un período de tiempo seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente 1 mes, aproximadamente 2 meses, o aproximadamente 3 meses.
- 25 8. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que la cantidad efectiva de un GGF2 está entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal.
- 30 9. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la cantidad efectiva de un GGF2 está entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal.
10. Una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la cantidad efectiva de un GGF2 se selecciona de
 - a) desde aproximadamente 0.06 mg/kg hasta aproximadamente 0.1 mg/kg,
 - b) desde aproximadamente 0.1 mg/kg hasta aproximadamente 0.3 mg/kg,
 - 35 c) desde aproximadamente 0.3 mg/kg hasta aproximadamente 0.5 mg/kg,
 - d) desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 0.7 mg/kg,
 - e) desde aproximadamente 0.7 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg,
 - f) desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 1.0 mg/kg, o
 - g) desde aproximadamente 1.0 mg/kg hasta aproximadamente 1.5 mg/kg.

40

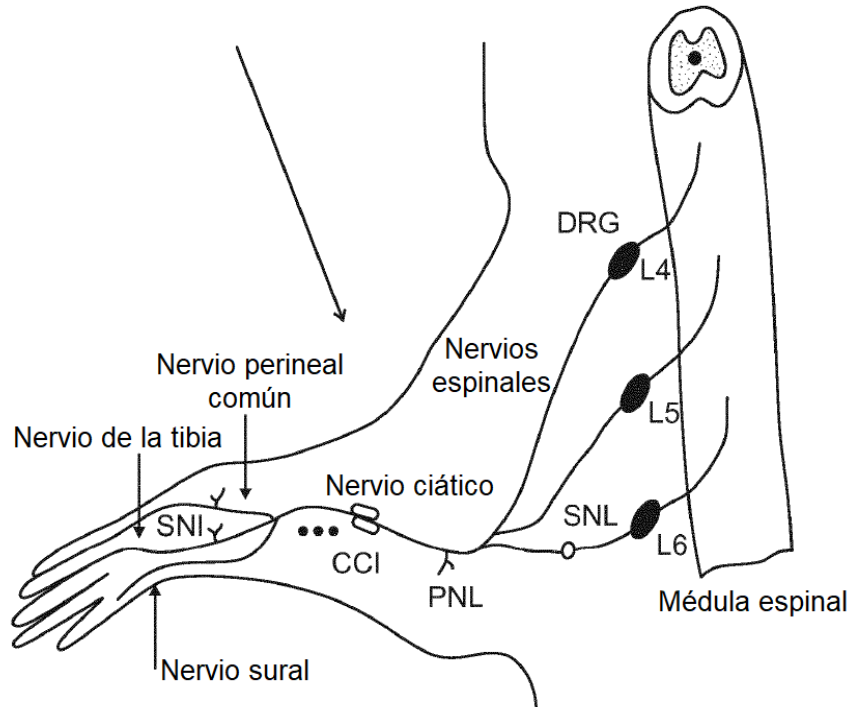


FIG. 1

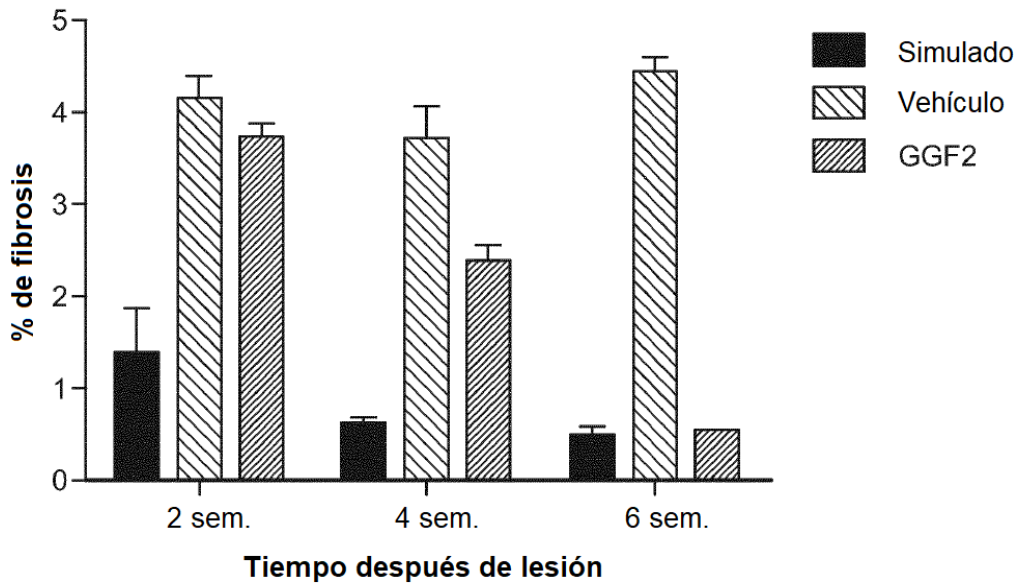


FIG. 2

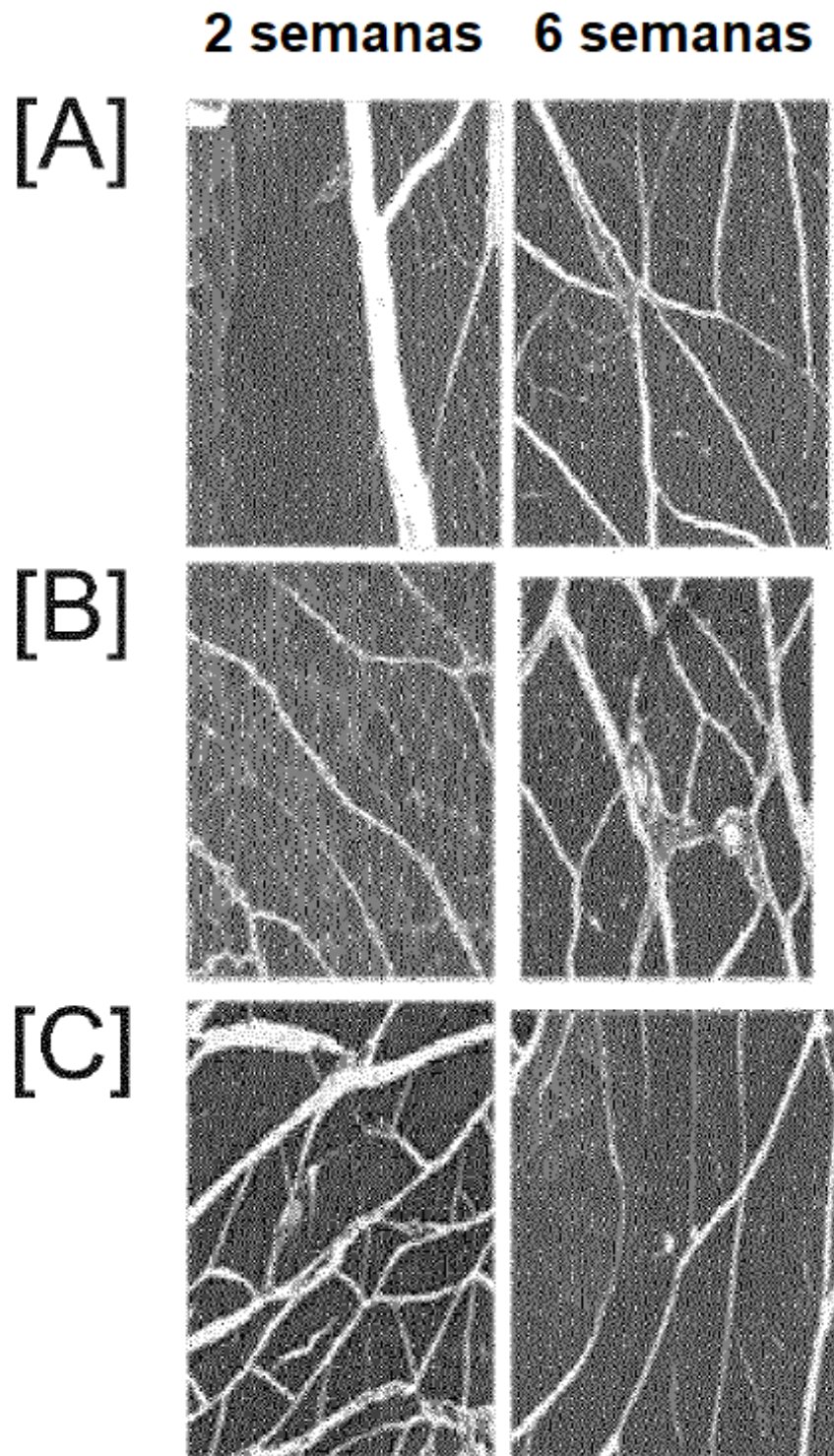


FIG. 3

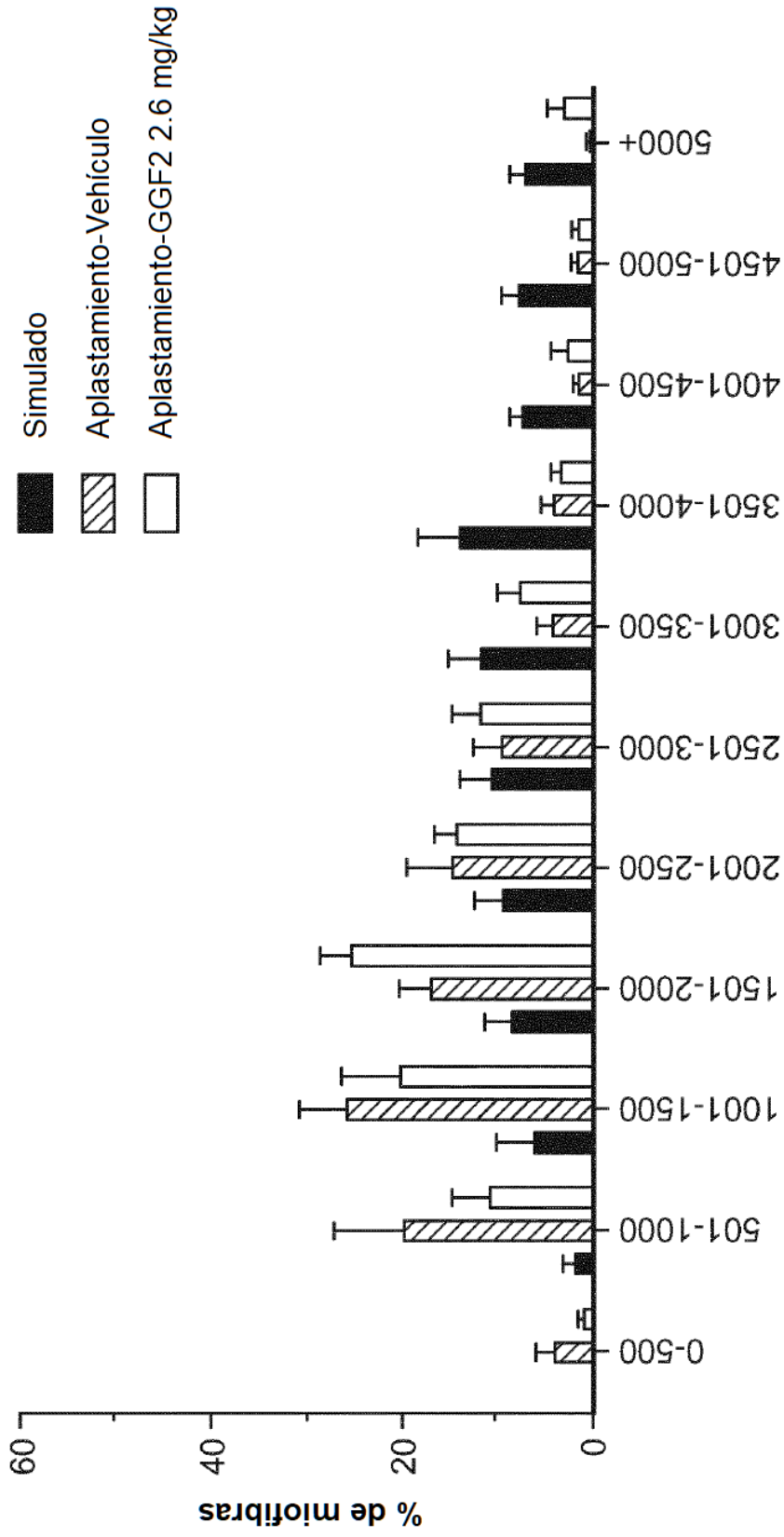


FIG. 4A

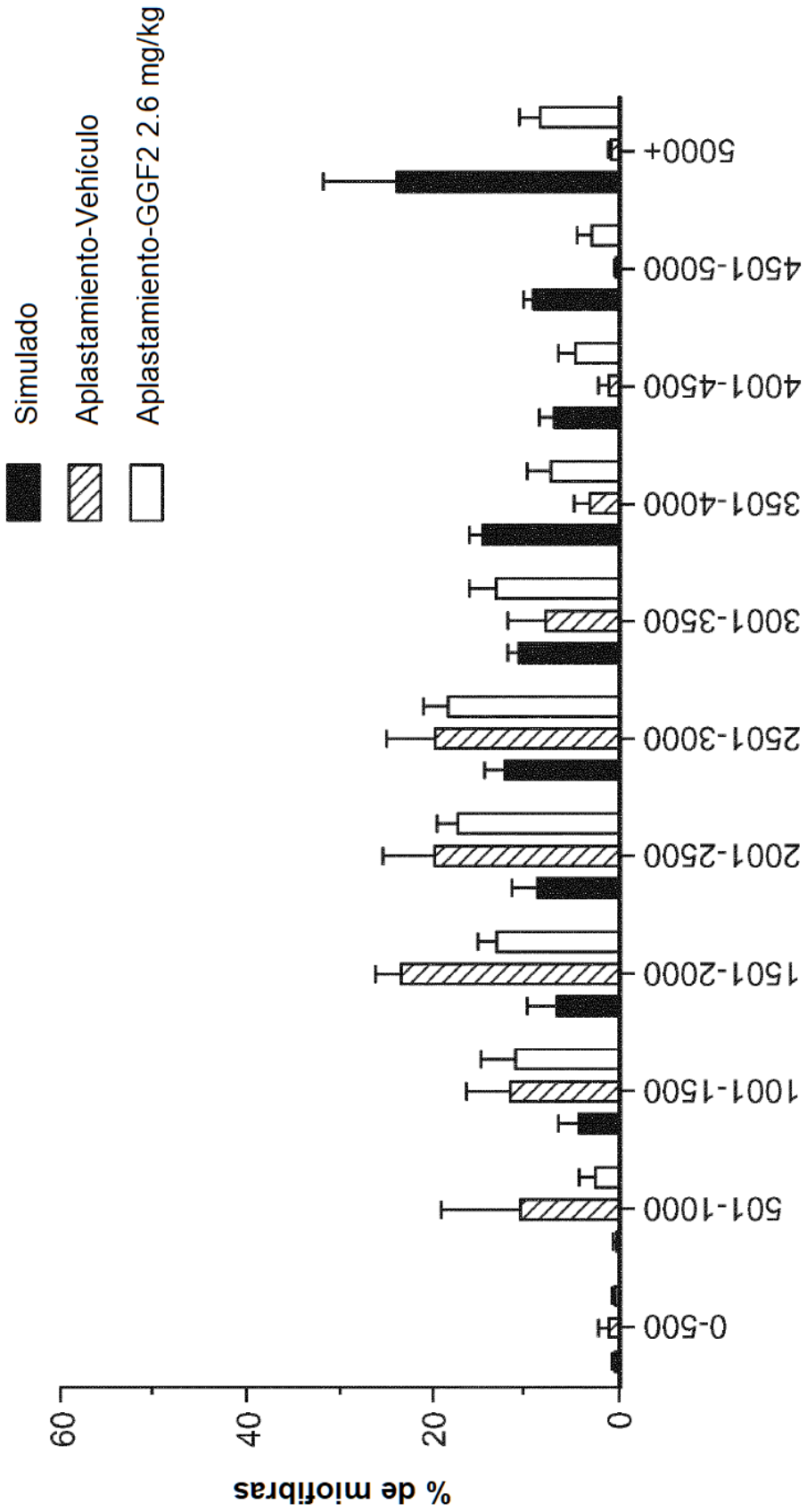


FIG. 4B

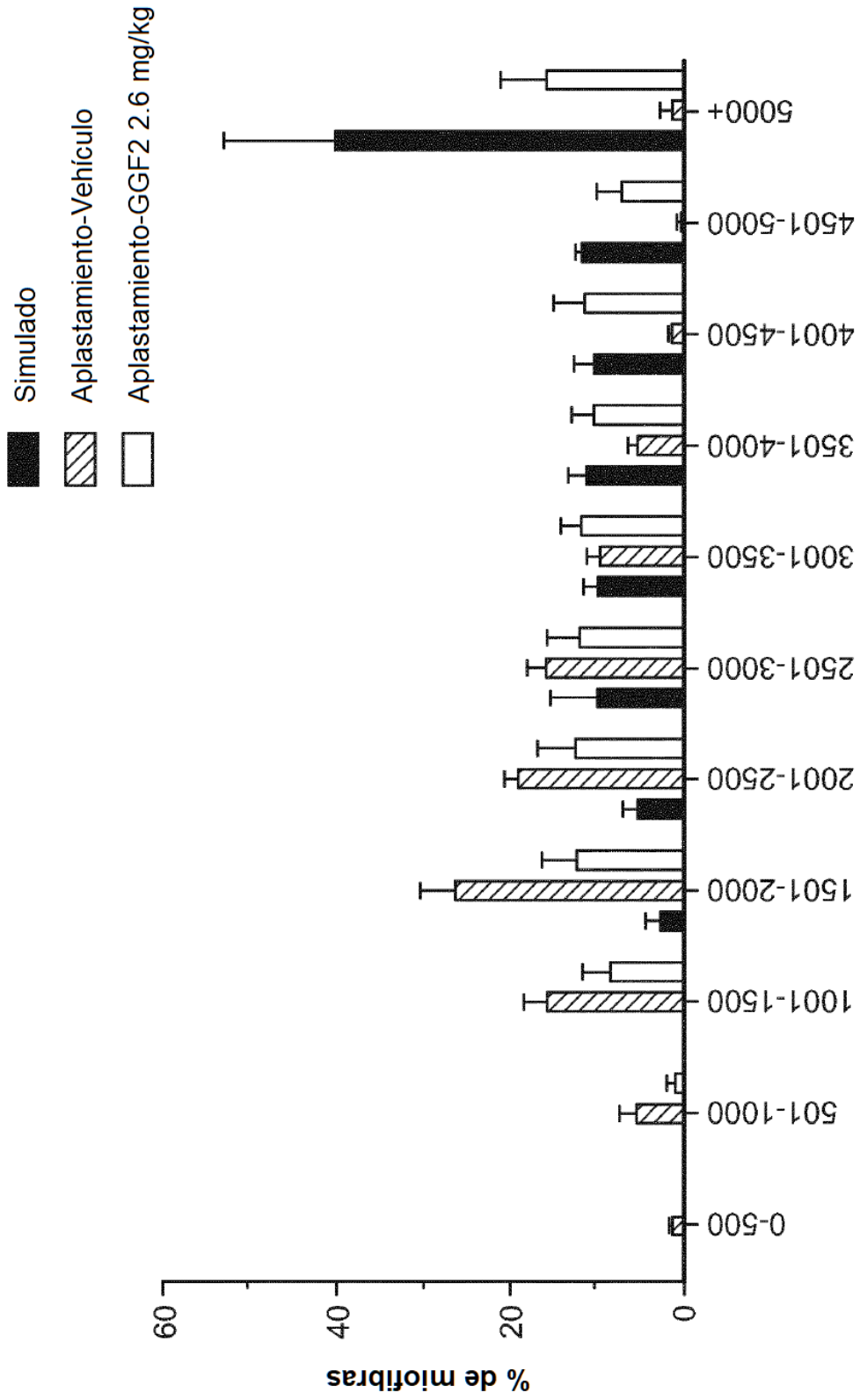


FIG. 4C

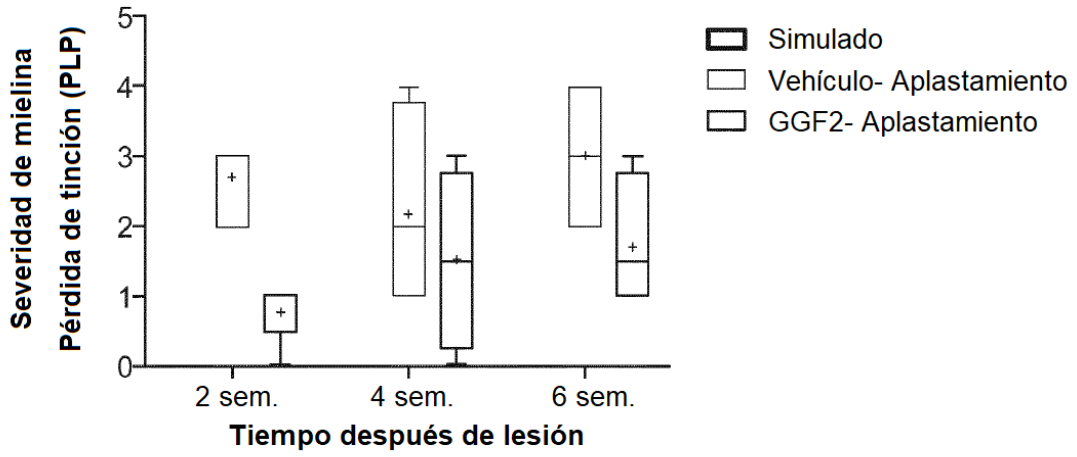


FIG. 5

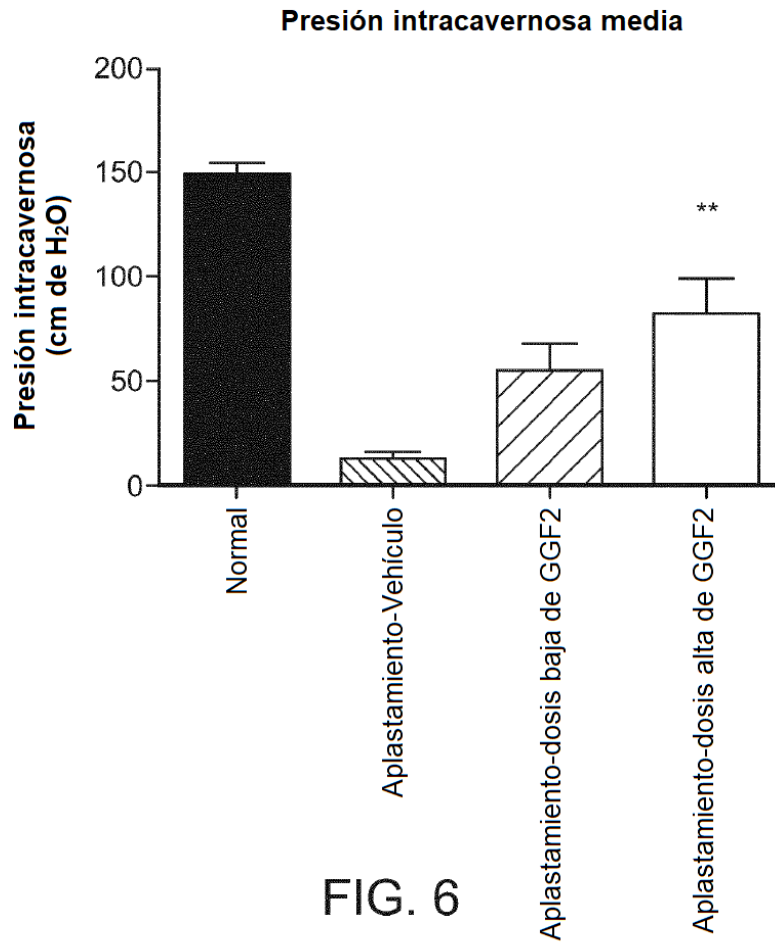
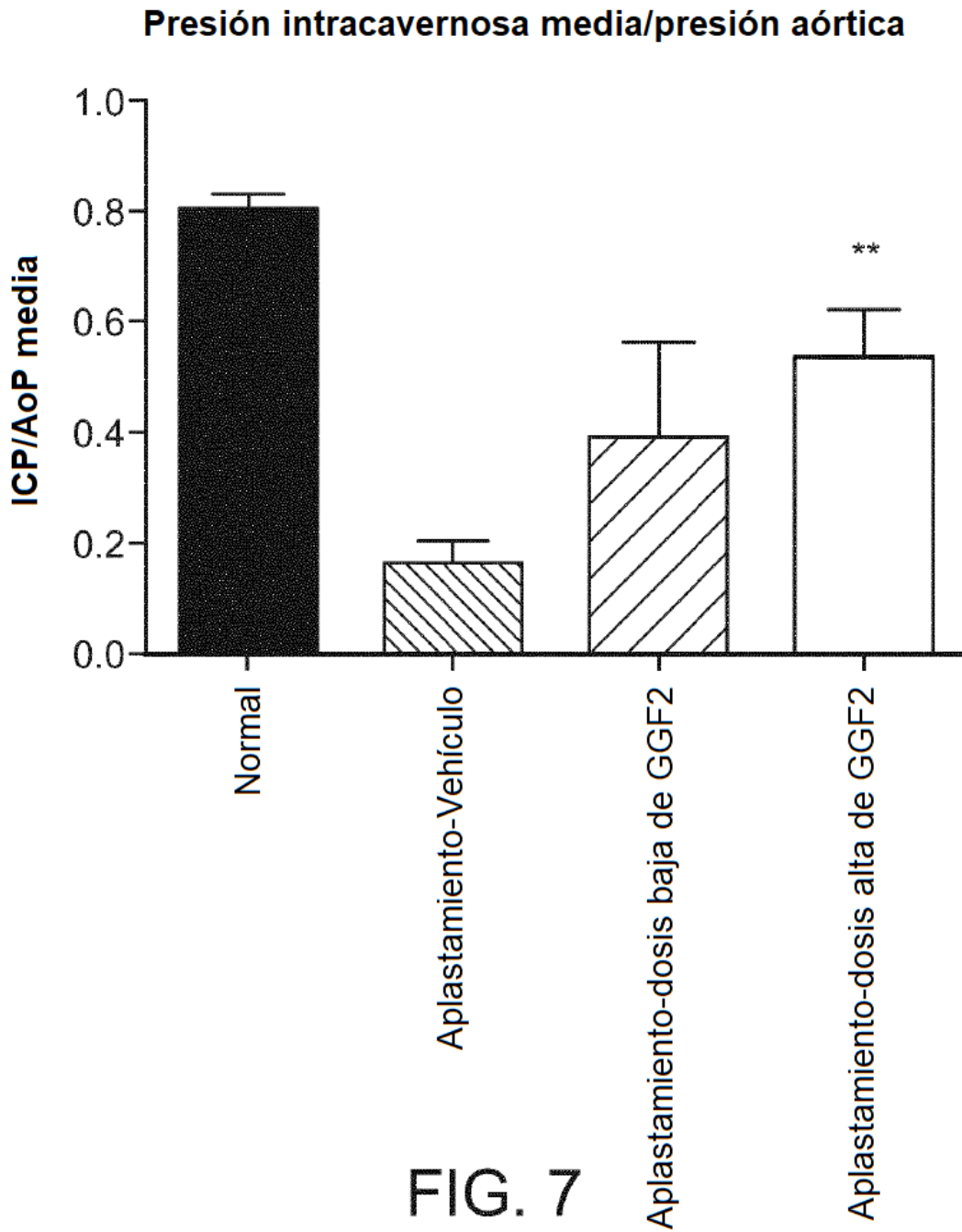


FIG. 6



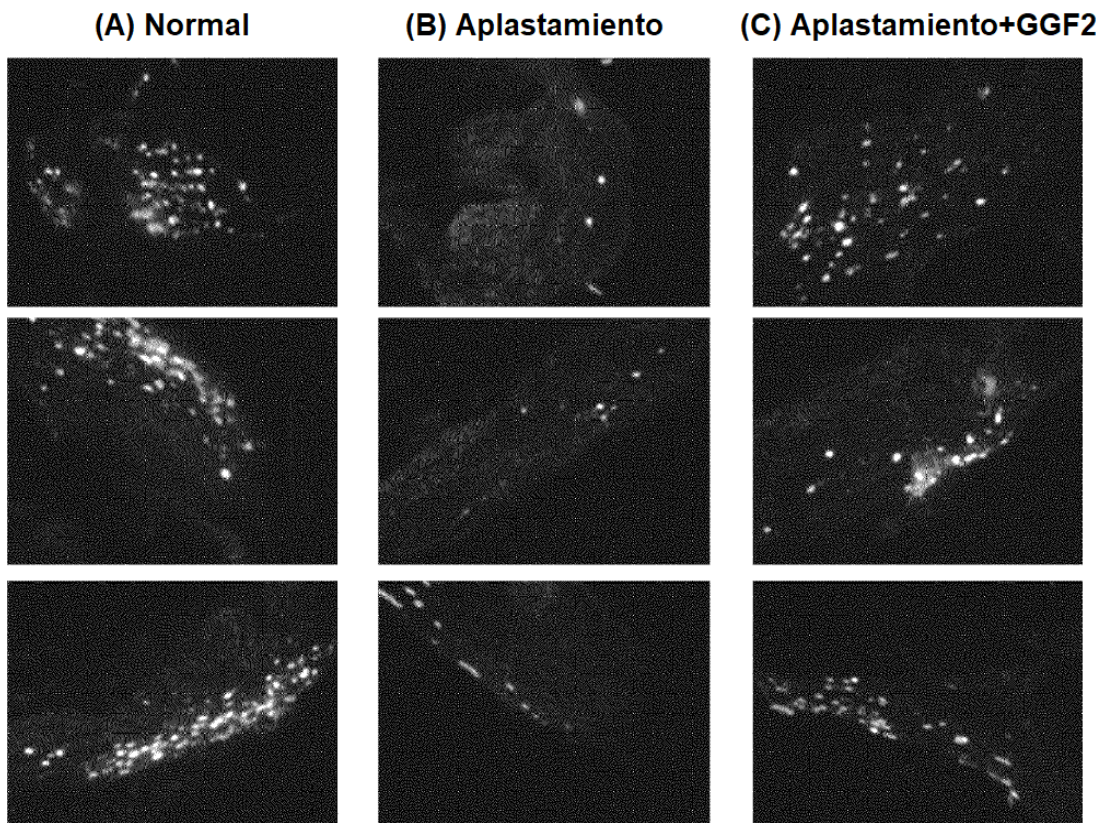


FIG. 8

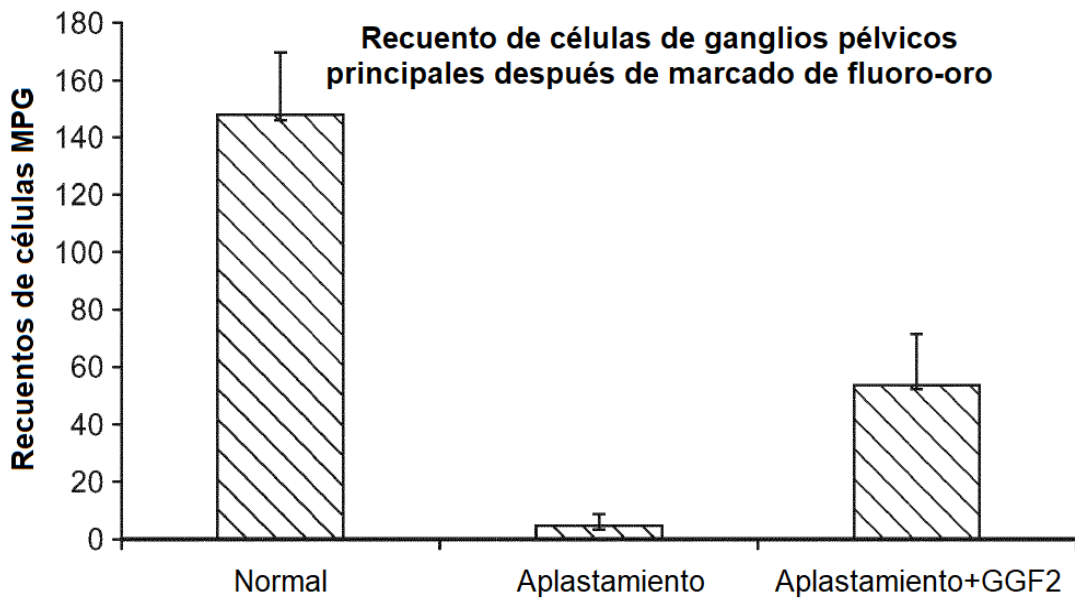
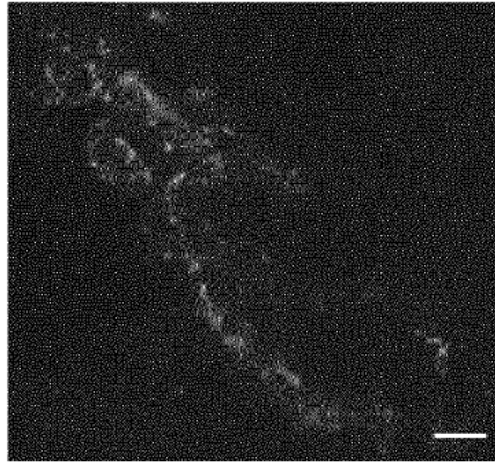


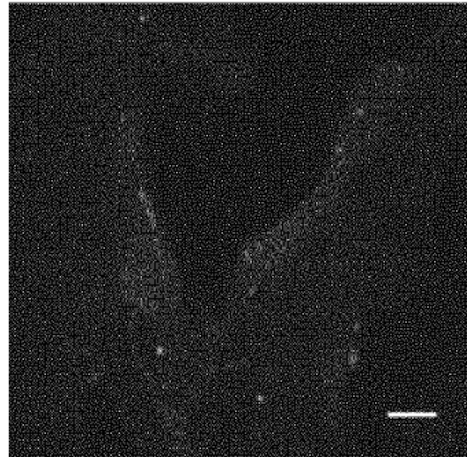
FIG. 9

FIG. 10A



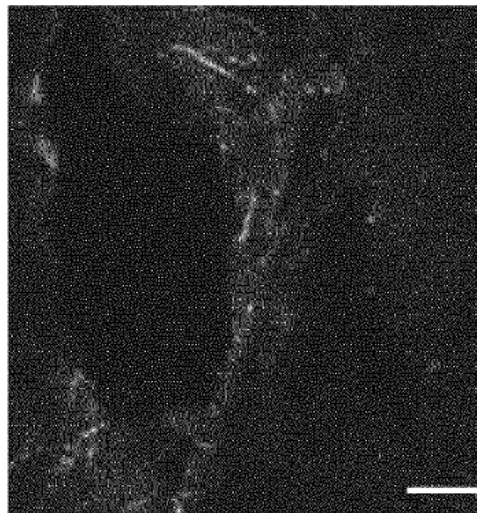
30 μm

FIG. 10B



30 μm

FIG. 10C



30 μm

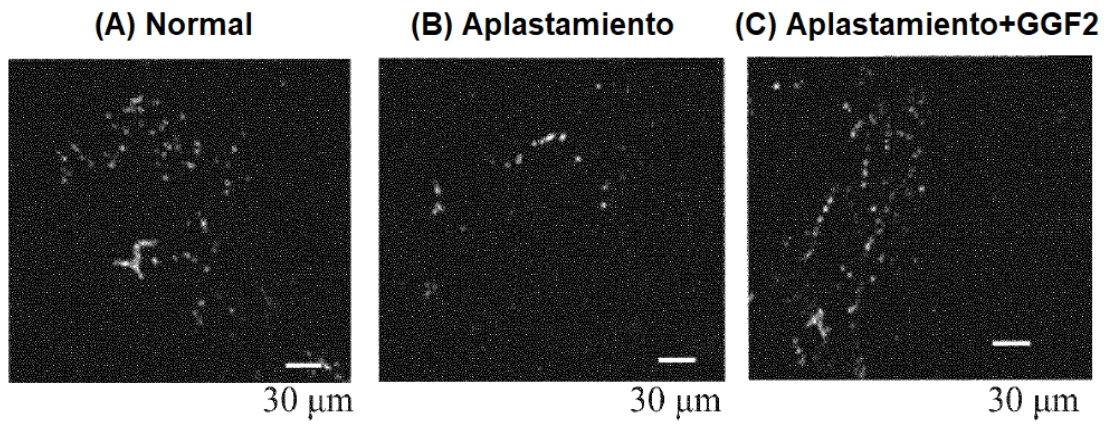
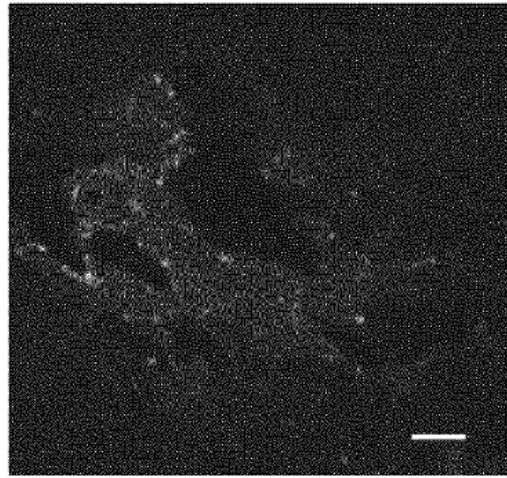


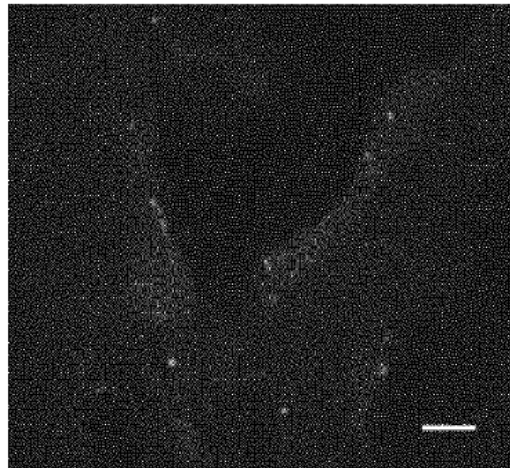
FIG. 11

FIG. 12A



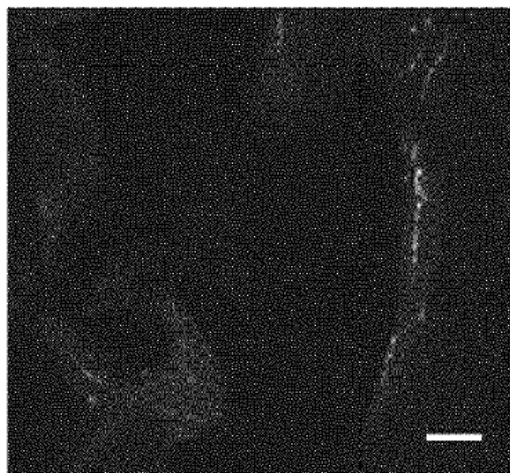
30 μm

FIG. 12B



30 μm

FIG. 12C



30 μm

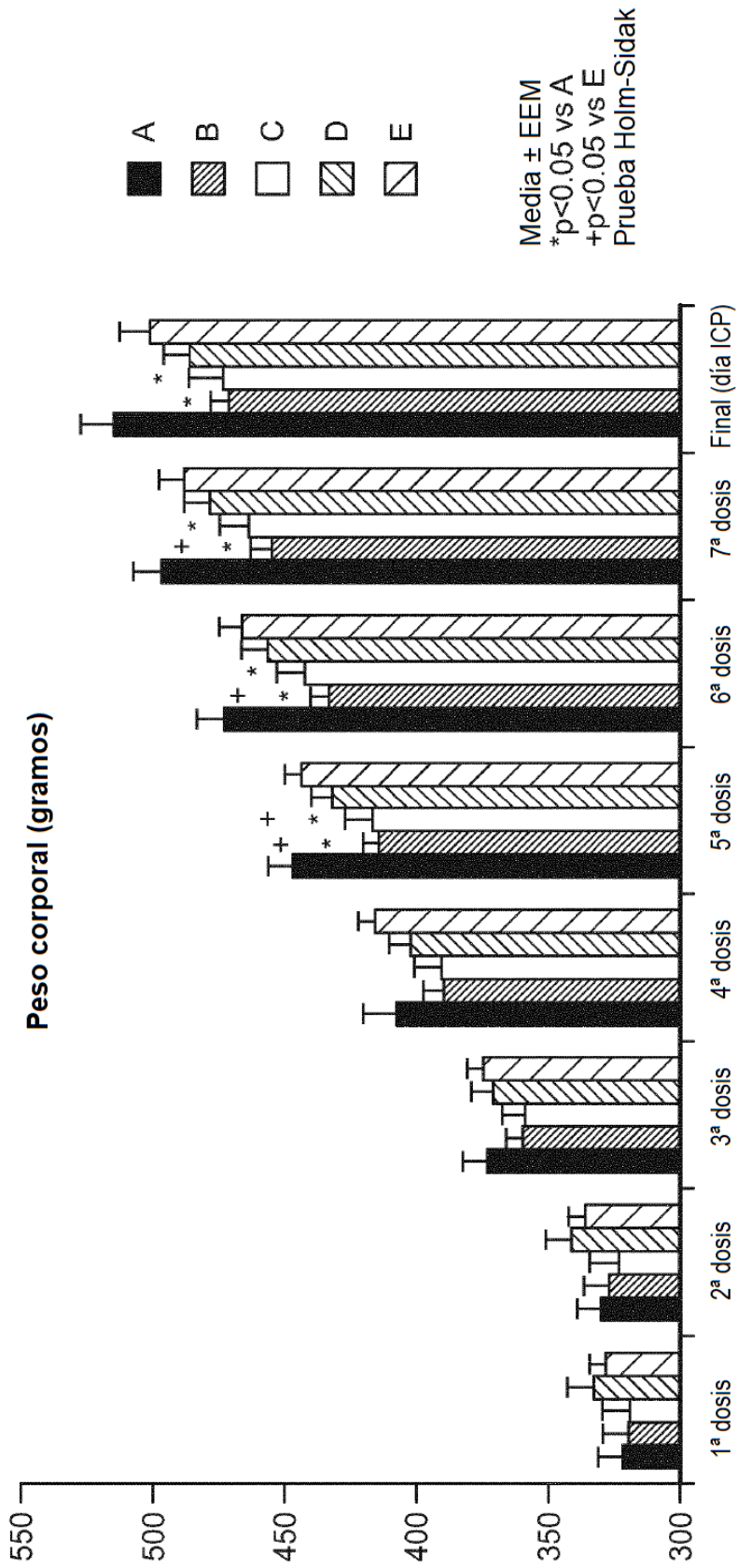


FIG. 13

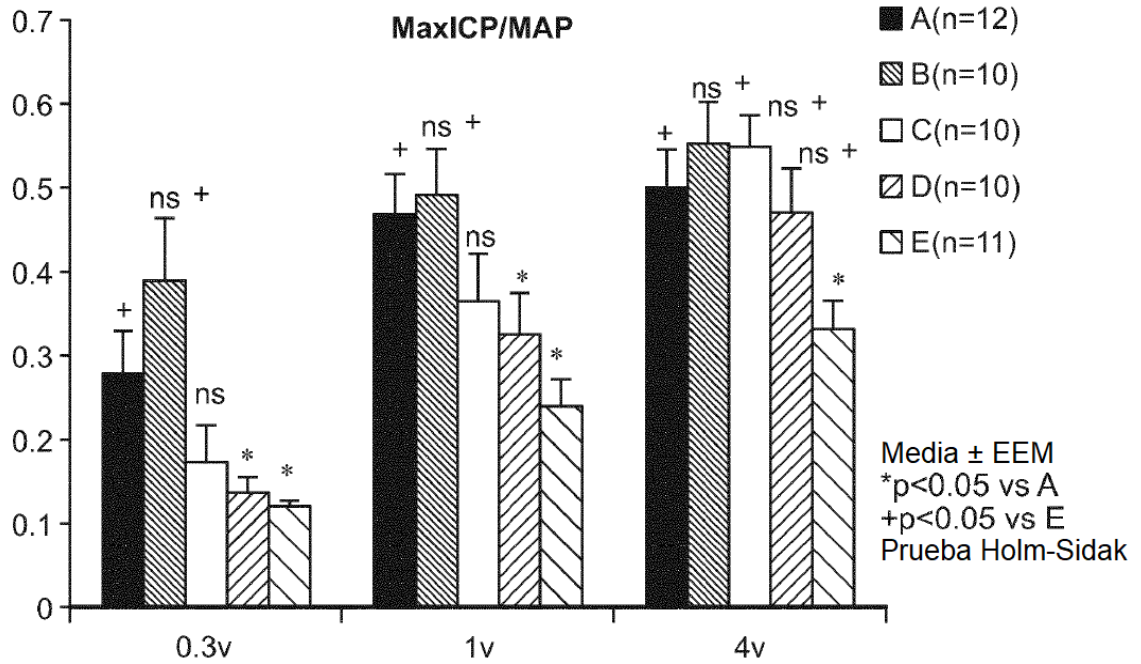


FIG. 14A

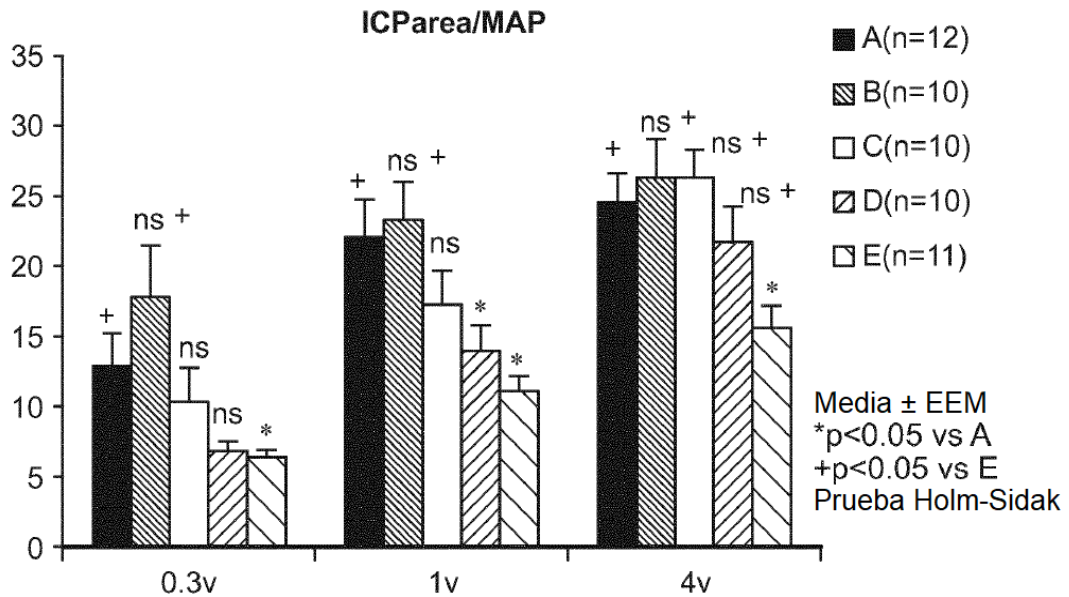


FIG. 14B

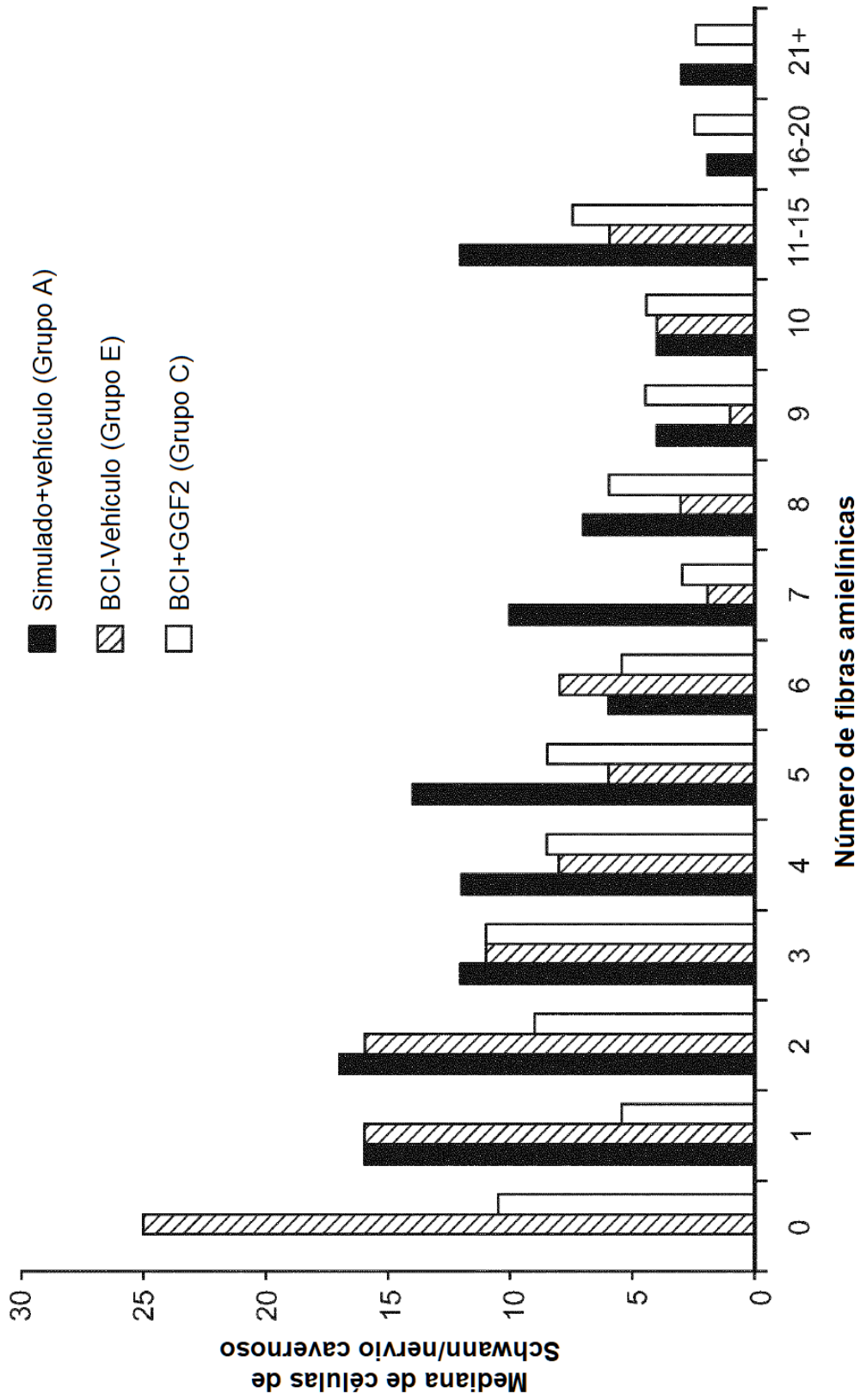


FIG. 15

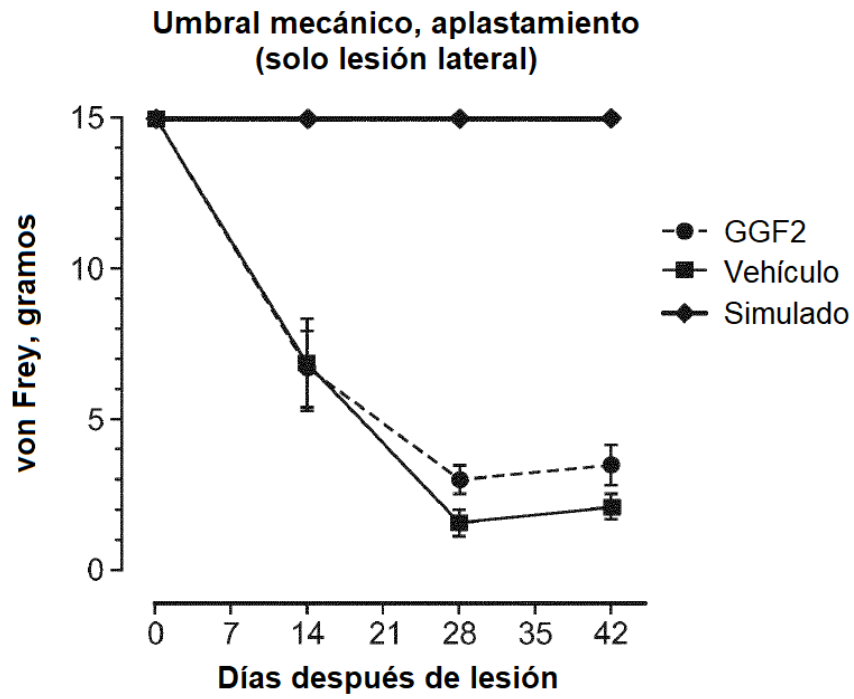


FIG. 16A

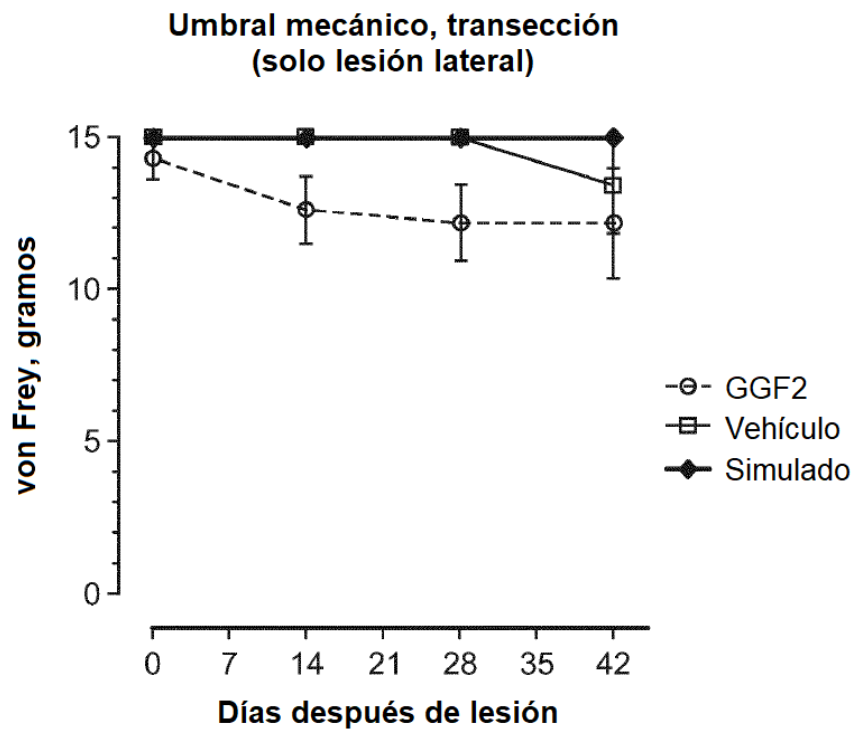


FIG. 16B

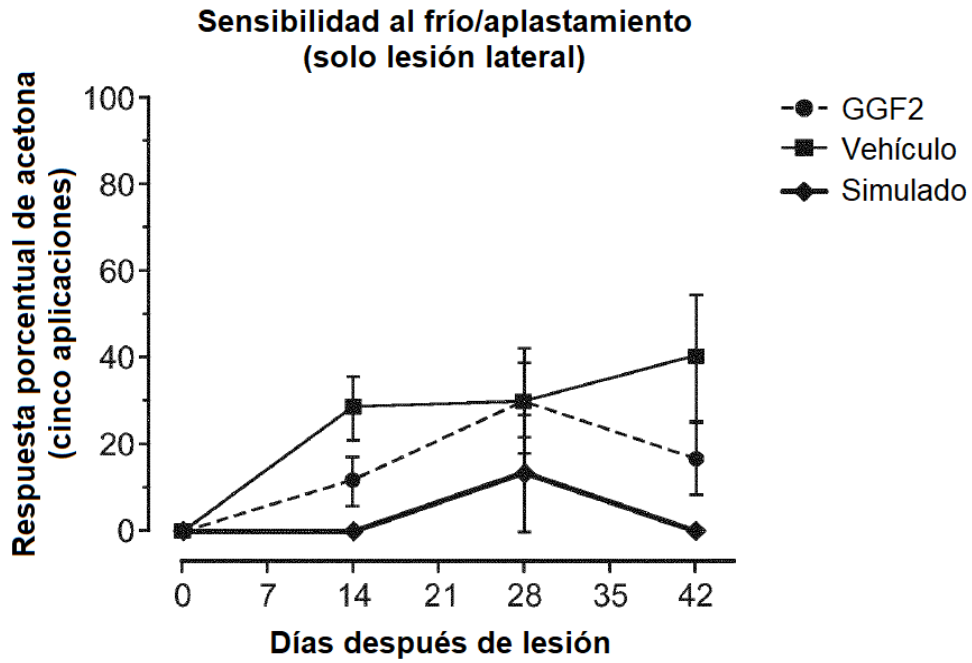


FIG. 17A

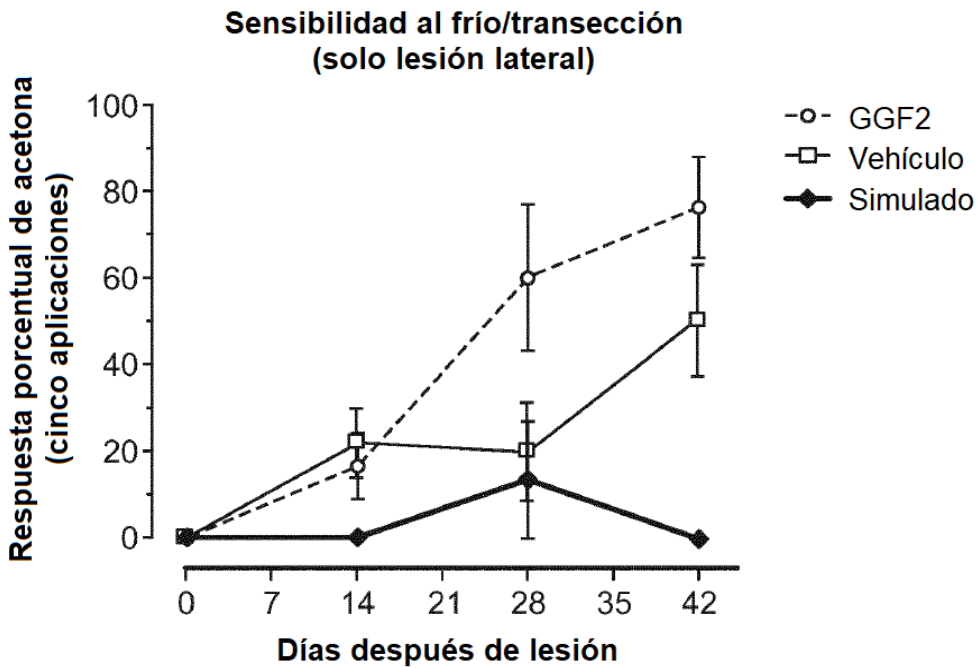


FIG. 17B