



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101997900599552
Data Deposito	28/05/1997
Data Pubblicazione	28/11/1998

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

PROTEINA STIMOLANTE I MACROFAGI COME AGENTE PROTETTIVO DELLA TOSSICITA' RENALE INDOTTA DA FARMACI
--

5221 M Descrizione dell'invenzione industriale avente per titolo:

FM/rt "PROTEINA STIMOLANTE I MACROFAGI COME AGENTE PROTETTIVO DELLA
TOSSICITA' RENALE INDOTTA DA FARMACI"

a nome : DOMPE' S.p.A.

MI 97 A 1248

con sede in: L'Aquila

28 MAG.1997

* * *

La presente invenzione ha per oggetto l'uso della proteina stimolante i macrofagi per la preparazione di medicinali utili per prevenire o contrastare la tossicità renale indotta da farmaci.

La proteina stimolante i macrofagi o MSP è un fattore di crescita eterodimerico appartenente alla famiglia del fattore di crescita degli epatociti (HGF). Il recettore di MSP è codificato dal gene RON (EMBO J. 13:3524, 1994). Nei topi, il recettore è espresso in fegato, rene ed intestino sia durante la vita embrionale sia durante la adulta. Questi dati suggeriscono che, nonostante il suo nome, un bersaglio principale della proteina stimolante i macrofagi siano le cellule epiteliali.

Numerosi studi sul ruolo del fattore di crescita nella biologia del rene hanno dimostrato che un numero di mediatori sono potenzialmente coinvolti nel controllo della crescita, differenziazione e rigenerazione delle cellule renali, quali il fattore di crescita epidermica (EGF) e il fattore di crescita insulinico. Recentemente, è stata descritta l'attività del fattore di crescita degli epatociti nel prevenire in animali da esperimento l'insufficienza renale acuta e per accelerare la rigenerazione renale in seguito a somministrazione di agenti tossici.

Si è ora trovato che la MSP è un importante mediatore della

risposta delle cellule tubulari ad agenti nefrotossici e può essere impiegata come agente terapeutico per contrastare il danno renale iatrogeno. L'attività di MSP è risultata essere più selettiva di quella descritta in precedenza per HGF. Per i previsti impieghi terapeutici, la MSP, preferibilmente di origine umana e ottenuta attraverso tecniche di DNA ricombinante, è somministrata per via parenterale, in particolare per via sottocutanea o endovenosa. La somministrazione può avvenire prima, contemporaneamente o dopo la somministrazione di un farmaco dotato di tossicità renale, ad esempio un chemioterapico o un antibiotico. Sono noti in particolare gli effetti tossici dei complessi del platino ad attività antitumorale, quali il cis-platino e il carboplatino, la cui attività nefrotossica si esplica inducendo apoptosi nelle cellule tubulari.

L'invenzione fornisce pertanto composizioni farmaceutiche in forma di preparazioni associate per l'uso separato, simultaneo o sequenziale contenenti MSP e un agente chemioterapico potenzialmente nefrotossico.

In accordo all'invenzione, si può utilizzare MSP estrattiva o ricombinante, suoi frammenti o precursori attivi o loro forme ingegnerizzate.

Allo scopo, la MSP sarà formulata ricorrendo a tecniche ed eccipienti convenzionali adatti alla somministrazione parenterale. In particolare, la MSP potrà essere somministrata sotto forma di sospensioni o soluzioni acquose sterili, a un dosaggio giornaliero che potrà essere compreso tra 10 µg a circa 1 mg. Il dosaggio effettivo sarà comunque determinato a seconda di diversi parametri quali potenziale

nefrotossico del farmaco da utilizzare in associazione a MSP, condizioni, peso, sesso ed età del paziente e simili.

L'attività protettiva di MSP è stata messa in evidenza utilizzando culture primarie di cellule tubulari umane che venivano incubate con cis-platino.

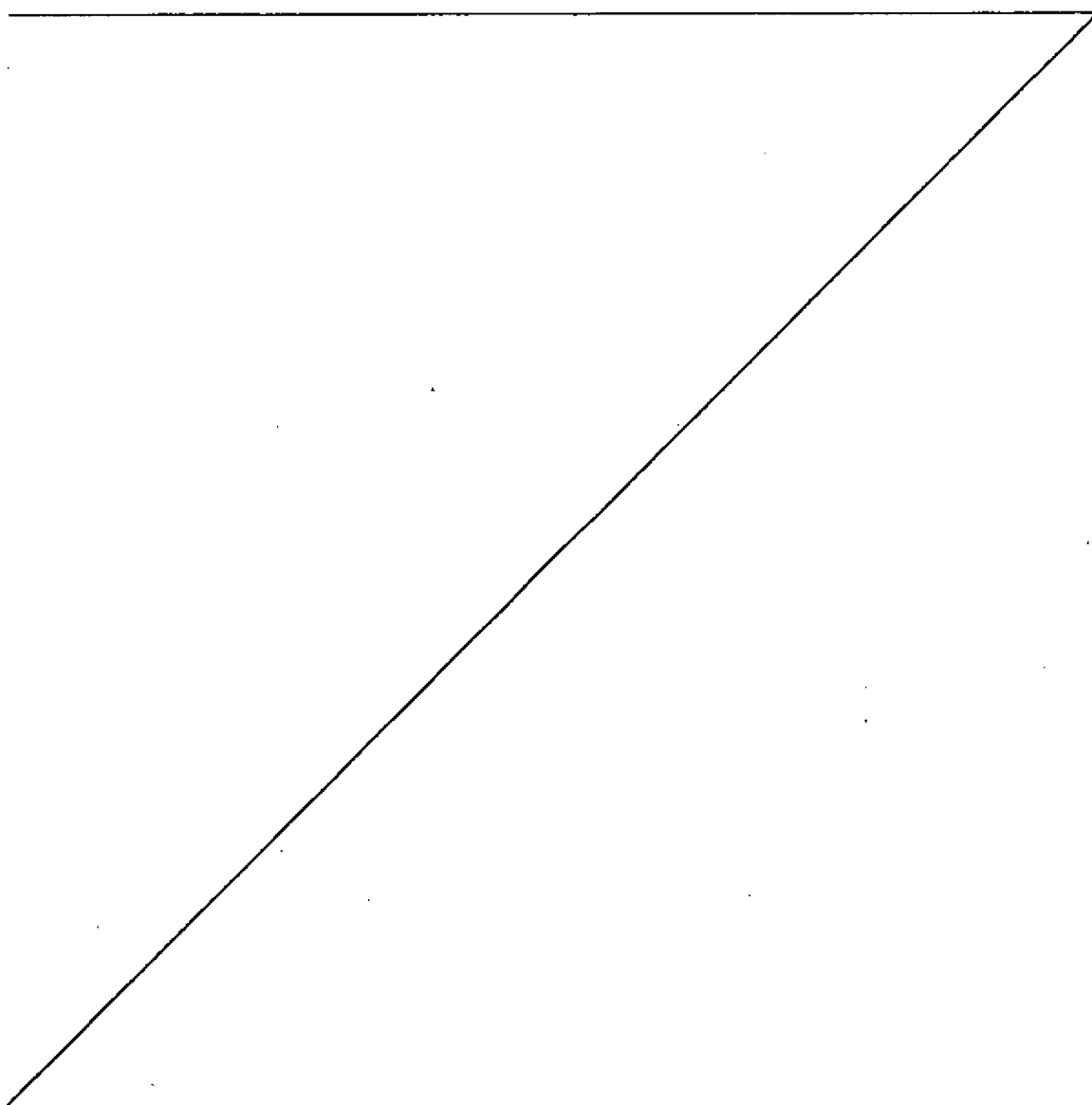
Il seguente esempio illustra l'invenzione in maggiore dettaglio.

Esempio

Culture di cellule tubulari primarie furono ottenute dal tessuto renale di 8 diversi donatori sottoposti a chirurgia per neoplasia renale. Si utilizzò tessuto non-neoplastico per la preparazione delle culture. La capsula fibrosa fu rimossa e porzioni di tessuto furono sezionate dalla corteccia esterna, sminuzzate e forzate attraverso una serie di reti per rimuovere frammenti interstiziali e glomeruli. Le cellule tubulari primarie furono piastrate in RPM 1640 addizionato di siero fetale di vitello inattivato al calore al 17%, 50 µ/ml di penicillina, e 50 mg/ml di streptomicina. Le culture cellulari così ottenute, incubate in presenza di cis-platino (10 µg/ml) presentavano, dopo colorazione con ioduro di propidio (25-30%), marcati segni di apoptosi, consistenti in un tipico aspetto raggrinzito, condensato e frammentato. Quando le cellule venivano trattate con 10 µg/ml di cis-platino in presenza di 50 ng/ml di MSP, si osservava una riduzione marcata nel numero di cellule apoptiche con indici di sopravvivenza del 90, 80, 90% contro indici di sopravvivenza dei controlli (senza MSP) del 90, 48 e 40% rispettivamente a 12, 24 e 36 ore. L'effetto protettivo di MSP appare dose-dipendente ed è riscontrabile anche per concentrazioni

di cis-platino fino a 50 $\mu\text{g/ml}$. L'effetto protettivo di MSP è riportato in Figure 1a e 1b. La Figura 1a mostra la protezione dall'apoptosi indotta da cis-platino su cellule tubulari primarie in presenza di 50 mg/ml di MSP. La sopravvivenza cellulare è espressa come rapporto percentuale di nuclei non-apoptici su una conta totale di 1.000 nuclei, e riportata in grafico come media $\pm$ errore standard di tre esperimenti.

La Figura 1b mostra la protezione dall'apoptosi indotta da cis-platino su cellule primarie tubulari da concentrazioni crescenti di MSP. La sopravvivenza cellulare è stata valutata come in Figura 1a.



RIVENDICAZIONI

1. Uso di proteina stimolante i macrofagi (MSP) per la preparazione di medicinali nefroprotettivi.
2. Uso secondo la rivendicazione 1 per la protezione dalla tossicità renale iatrogena.
3. Uso secondo la rivendicazione 2 per la protezione dalla tossicità renale da chemioterapici o antibiotici.
4. Uso secondo la rivendicazione 3 per la protezione dalla tossicità renale da complessi del platino.
5. Composizioni farmaceutiche in forma di preparazioni associate per l'uso separato, contemporaneo o sequenziale contenenti come principio attivo un complesso del platino ad attività antitumorale e MSP.

Milano, 28 maggio 1997

Il Mandatario
(Minoja Fabrizio)
dello Studio Consulenza Brevettuale s.r.l.

