

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 556 765**

51 Int. Cl.:

A61K 31/195 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.09.2009 PCT/US2009/056584**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.03.2010 WO10033425**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2009 E 09792438 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **08.05.2024 EP 2344148**

54 Título: **Soporte nutricional para prevenir o moderar la parálisis de la médula ósea durante el tratamiento anticáncer**

30 Prioridad:

19.09.2008 US 98258 P

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

12.11.2024

73 Titular/es:

**SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)
Entre-deux-Villes
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**SCHIFFRIN, EDUARDO;
MILLER, KEVIN BURKE y
BRASSART, DOMINIQUE**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 556 765 T5

DESCRIPCIÓN

Soporte nutricional para prevenir o moderar la parálisis de la médula ósea durante el tratamiento anticáncer

5 Ámbito técnico de la presente invención

La presente invención se refiere a métodos y composiciones inmuno-nutricionales para mitigar el efecto tóxico en la médula ósea causado por el tratamiento anticáncer.

10 Antecedentes de la presente invención

La apoptosis es un tipo de mecanismo de muerte celular programada que ocurre en los organismos multicelulares promoviendo la homeostasis celular mediante la eliminación de células innecesarias o disfuncionales. Las anomalías en el mecanismo apoptótico pueden contribuir a la tumorigénesis, es decir, a que las células eludan las señales apoptóticas, así como a la resistencia a terapias anticáncer como la radiación y la quimioterapia.

15 Las células tumorales evaden las respuestas inmunes innatas y adaptativas (inmunovigilancia) por inmunoselección (selección de variantes no inmunogénicas de células tumorales, también conocida como inmunoedición en el modelo murino) o inmunosubversión (supresión activa de la respuesta inmunitaria). Zitvogel, L., *J. Clin. Invest.*, 118:1991-2001, 2008; Koebel, C.M., *Nature*, 450:903-907, 2007; Zitvogel, L. y otros, *Nat. Rev. Immunol.*, 6:715-727, 2006. No obstante las células tumorales pueden escapar al control inmunitario mediante otros mecanismos, en los cuales intervienen factores derivados de los tumores que pueden interferir en la respuesta inmunitaria antitumoral.

20 La inflamación crónica y latente aumenta el riesgo de neoplasia. Se estima que los agentes infecciosos intervienen en más del 15% de los tumores malignos a escala mundial. Balkwill, F. y otros, *Cancer Cell*, 7:211-217, 2005. Un entorno de tejido inflamado puede favorecer el desarrollo de células cancerosas y la inmunosupresión puede ser un factor necesario para contrarrestar la "inmunovigilancia" que protege el huésped contra el desarrollo tumoral (Koebel, C.M. y otros, antes citado). Además, una vez desarrollados, los tumores pueden mantener un estado inflamatorio e incorporar células inmunosupresoras derivadas de la línea mieloide, tales como los monocitos. La acumulación de células procedentes de la médula ósea y de otros compartimentos inmunes de células mieloides en pacientes de cáncer, llamadas "células mieloides supresoras (MSC)", está relacionada con una acción supresora de la activación de células T (Galina, G. y otros, *J. Clin. Invest.*, 116:2777-2790, 2006).

25 Como se expuesto arriba, la capacidad de la defensa antitumoral, es decir del sistema inmunitario, para controlar la presencia y el sobrecrecimiento de células tumorales transformadas está a menudo disminuida. Además también sufre otros trastornos funcionales debido a la toxicidad de las terapias anticáncer.

30 El éxito de terapias anticáncer tales como la radioterapia y la quimioterapia no depende solamente de sus efectos citotóxicos sobre las células tumorales, sino también de la inmunocompetencia simultánea durante el tratamiento. La necesaria fortaleza de la función inmunológica durante el tratamiento anticáncer implica el trabajo conjunto de las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas con los fármacos anticancerosos o la radioterapia. Apetoh, L. y otros, *Nature Med.*, 13:1050-1059, 2007.

35 Recientes estudios han revelado que las células tumorales sometidas a la apoptosis inducida por quimio- o radioterapia son capaces de incitar una potente respuesta inmunológica, debido a un aumento transitorio de la actividad inmunogénica. Al inducir determinantes inmunogénicos, las células tumorales pueden expresar temporalmente "señales de peligro" en sus superficies, que promueven su fagocitosis por células dendríticas (DC), inducen la maduración de DC y la estimulación de la respuesta inmunológica. Los ejemplos de determinantes inmunogénicos inducidos en células tumorales moribundas incluyen, sin limitarse a ellos, proteínas de choque térmico (HSP70 y HSP90), ligandos para receptores de células asesinas naturales (p.ej. para el receptor NKG2D), la proteína de alta movilidad del grupo de caja 1 (HMGB1), todos los cuales son "señales de peligro" que activan el sistema inmunitario. Por ejemplo, la HMGB1 puede activar células inmunitarias por reacción con TL4R (TLR-4). Sin embargo existen otras señales de peligro que no llegan a potenciar una respuesta inmunológica. Por ejemplo, la calreticulina, que se expresa en la superficie de las células tumorales tras la inducción de la muerte celular inmediatamente después del tratamiento anticáncer, puede favorecer la fagocitosis por DC. Sin embargo la señalización de DC por calreticulina es insuficiente para activar una respuesta inmunológica antitumoral. Se requieren otras vías de señalización activadas por ligandos de receptores tipo Toll (TLRs) (probablemente también por otros receptores). Gardai, S.J. y otros, *Cell*, 123:321-334, 2005.

40 Los receptores de tipo Toll (TLRs) juegan un papel principal en la regulación del sistema inmunitario. Son capaces de reconocer microbios e inician directamente vías de transducción de señales específicas que alertan las defensas del huésped. Los ligandos de TLR implican tanto motivos bacterianos ajenos como "señales de peligro" endógenas. Ejemplo de una señal de peligro endógena es la proteína de alta movilidad del grupo de caja 1 (HMGB1), que al reaccionar con TLR4 es capaz de activar DC y generar una respuesta inmunológica contra las células tumorales moribundas, complementando la eficacia del tratamiento anticáncer, es decir de la quimio- y radioterapia (Apetoh, L. y otros, *Nature Med.*, 13:1050-1059, 2007). Como la HMGB1 es liberada de las células tumorales irradiadas parece

ser una de las principales “señales de peligro” que contribuye a la inmunogenicidad de las células tumorales moribundas.

5 Otros ligandos de TLR4 con capacidad potencial de inducir la activación de las células son los hialuronanos (matriz extracelular), las proteínas de choque térmico (HSP) y la fibronectina. La HSP 70 y la HSP 90 son determinantes principales de la inmunogenicidad de las células moribundas estresadas (Tesniere, A. y otros, *Cell Death & Differentiation [Muerte y diferenciación celular]*, 15:3-12, 2008).

10 Otras señales de peligro liberadas de células apoptóticas/necróticas, tales como ácido úrico, ARN, ADN, potasio (K), nucleótidos, son capaces de activar la respuesta inmunológica innata y por lo tanto una respuesta inmunológica adaptativa.

15 El deterioro del ADN hace que las células sobreexijan la expresión de ligandos para los receptores NKG2D expresados en células NK y en células T CD8 activadas, lo cual puede producir una respuesta citotóxica (Gasser, S. y otros, *Cancer Res.*, 66:3959-3962, 2006). Las células tumorales tienden a disminuir los ligandos para NKG2D y por lo tanto a eludir la detección inmunológica. No obstante, durante el estrés genotóxico inducido por el tratamiento anticáncer las células cancerosas regulan al alza los ligandos para NKG2D y se convierten en una diana “visible” para los linfocitos NK o CD8 citotóxicos.

20 Otras señales de peligro expresadas o liberadas por células cancerosas estresadas se pueden unir a un grupo de proteínas citosólicas llamadas NODs/NACHT-LRHs (NLRs) o inflamasoma que activa la caspasa-1 contribuyendo a la liberación de citocinas proinflamatorias tales como IL-1 β and IL-18 (Martinon, F., *Trends in Immunol.*, 26(8):447-454, 2005).

25 Asimismo se ha reportado que una combinación de señales de peligro tal como HMGB1 con ADN (CpG) puede inducir la producción de una señalización por interferón- α a través de TLR4 y TLR9 (Ivanov, S. y otros, *Bloc*, 110:1970-1981, 2007).

30 Muchas de las moléculas arriba mencionadas que representan “señales de peligro” se pueden liberar a partir de células y tejidos tumorales como consecuencia del tratamiento anticáncer, a diferencia del crecimiento silencioso de los tumores durante largos periodos de tiempo. Como consecuencia de la inducción de la muerte de las células tumorales por el tratamiento anticáncer, dichas células se vuelven transitoriamente más inmunógenas. Sin embargo este aumento transitorio de la inmunogenicidad de las células tumorales no supone ninguna ventaja para el huésped si al mismo tiempo la función inmunológica celular sufre la toxicidad producida por los tratamientos anticáncer. Ello es debido a que las terapias anticancerosas inducen con frecuencia mielosupresión y/o timolisis, que a su vez hacen que el sistema inmunitario omita el aumento transitorio de antigenicidad y la capacidad de estimulación inmunológica de las células tumorales moribundas durante el tratamiento. Además las terapias anticancerosas tienen como diana las células tumorales, los linfocitos que se están dividiendo activamente y las células inmunitarias innatas. Con el fin de superar este dilema se ha propuesto la inmunoterapia para contrarrestar la inmunosupresión inducida por las terapias anticancerosas. Por esta misma razón las terapias anticancerosas y la inmunoterapia han sido percibidas como antagonistas. Van der Most, R.G. y otros, *Cell Death Differentiation*, 15:13-20, 2008. Desafortunadamente la inmunoterapia por sí sola no es suficiente para proteger las células no tumorales en proceso de división contra los efectos citotóxicos de la terapia anticancerosa. Los tratamientos anticáncer inducen muchos tipos de toxicidad en los diferentes subgrupos celulares del sistema inmunitario, tal como apoptosis, autofagia y capacidad de activación mermada. Como las células inmunitarias sufren los efectos secundarios de la terapia anticancerosa, la oportunidad de aprovechar este margen de mayor inmunogenicidad es muy reducida. En el curso de la experimentación de la apoptosis inducida por los efectos secundarios de la terapia anticancerosa también se ven afectadas en el huésped la función celular presentadora de antígenos, el poder innato de eliminación de células y la eliminación de células tumorales antígeno-específicas. El periodo de aumento transitorio de la inmunogenicidad durante la muerte celular inducida por la terapia anticancerosa supone para el sistema inmunitario una oportunidad de recuperar el control de las células transformadas y mantener el de las restantes células tumorales viables. Para aprovechar este margen de mayor expresión antigénica o inmunógena, la presente invención proporciona métodos y composiciones inmunonutricionales que, aplicadas y administradas a un paciente sometido a terapia anticancerosa de apoptosis inducida por estrés, potenciarían su respuesta inmunológica innata y su respuesta inmunológica antitumoral. Por lo tanto la toxicidad inmunológica aguda inducida por el tratamiento basado en ciclos de quimio- y radioterapia, que coincide paradójicamente con el momento de mayor inmunogenicidad de las células tumorales, se puede corregir mediante el acondicionamiento nutricional del sistema inmunitario (por inmunonutrición).

60 Las células tumorales que sufren estrés celular y expresan “señales de peligro” y muerte inducida por el tratamiento anticáncer pueden llegar a ser una diana más “visible” para la respuesta innata y por tanto más fáciles de atacar por células efectoras innatas tales como las células asesinas naturales (NK), las células asesinas naturales T (NKT), las células gamma-delta ($\gamma\delta$) T y las células dendríticas asesinas (KDC). Pillarisetty, V.G. y otros, *J. Immunol.*, 174: 2612-2618, 2005. Asimismo, las DC activadas pueden estimular una respuesta citolítica de células T antígeno-específicas del tumor. La activación de las respuestas inmunológicas innatas se puede potenciar administrando agentes o adyuvantes exógenos, ligandos para proteínas coestimulantes, citocinas o fármacos. Por ejemplo, el reconocimiento de ácidos nucleicos (p.ej. ARN de doble hebra, nucleótidos) por DC mediante TLRs (TLR3, TLR9)

5 localizados en el endosoma puede favorecer la activación de las DC y por consiguiente una respuesta inmunológica antitumoral antígeno-específica. Blattman, J.N. y otros, Science, 305:200-205, 2004. Otro ejemplo, el CpG es un oligonucleótido que puede potenciar la capacidad de alcanzar una actividad como la de las NK mediante las DC y aumentar el estado de activación de las DC, evitando así las señales tolerogénicas generadas por el tumor y por las células inmunitarias condicionadas por el tumor, como los macrófagos activados alternativamente.

10 Hay muchos otros nutrientes que han actuado aumentando la función inmunitaria innata (inmunonutrientes). Por ejemplo, algunas bacterias probióticas no patógenas tienen la capacidad de activar macrófagos, células dendríticas y células asesinas naturales (NK), lo cual mejoraría la presentación de antígenos y la destrucción innata de células tumorales. Como se ha mencionado arriba, los nucleótidos pueden activar el sistema inmunitario actuando como señal alternativa de peligro. La estimulación de la reactividad inmunológica por ADN, ARN y CpG ha sido confirmada por varios estudios.

15 La arginina y la citrulina, así como los aminoácidos de cadena ramificada, pueden estimular la síntesis proteica mediante la señalización a través de mTOR, la cual a su vez previene el proceso autofágico que el estrés de los tratamientos anticáncer pueda inducir en las células inmunitarias. La glutamina puede aumentar la acción citolítica innata de las NK; los macrófagos y las células dendríticas asesinas pueden contribuir a la acción citolítica antígeno-específica de las células T CD8⁺ contra las células tumorales. Algunos modelos moleculares de bacterias o de levaduras pueden estimular la actividad de las poblaciones de linfocitos innatos - p.ej. de células NK, NKT y células gamma-delta T - con actividades citotóxicas contra las células tumorales y promover una mayor activación de células presentadoras de antígenos para procesar y presentar antígenos tumorales a las células T CD4⁺ y CD8⁺.

20 Se han desarrollado varias fórmulas nutricionales suplementadas con uno o más de estos inmunonutrientes, que tienen propiedades inmunomoduladoras.

25 La patente U.S. nº 6,210,700 describe en general una terapia inmunomoduladora perfeccionada para reforzar los mecanismos de defensa deprimidos en el huésped y para mejorar los índices de supervivencia a los trasplantes alogénicos, la cual incluye el uso de ácidos grasos insaturados omega-9 para alterar la respuesta inmunológica relacionada con el trasplante de órganos. Se administra opcionalmente junto con una dieta inmunomoduladora que comprende arginina y sus sales o precursores metabólicos de arginina, más un tratamiento inmunosupresor que consiste en administrar ciclosporina u otros inmunosupresores y opcionalmente con o sin una transfusión específica del donante. Una fuente especialmente preferida de ácidos grasos insaturados omega-9 es el aceite de colza.

30 La patente U.S. nº 5,330,972 expone en general que la apoptosis de las células CD4 en una persona infectada con el virus de la inmunodeficiencia humana se puede impedir alimentando por vía enteral la persona infectada con un producto nutricional que contiene hidrolizado de proteína de soja con un grado de hidrólisis comprendido en el intervalo de 14 a 17 aproximadamente y una distribución de pesos moleculares, determinada por cromatografía de exclusión de tamaños, en la cual el 30%-60% de las partículas tiene un peso molecular comprendido en el intervalo de 1.500-5.000 daltons. El producto nutricional también contiene una fuente de proteína intacta y fibra dietética. El producto nutricional tiene una relación ponderal de ácidos grasos n-6 a n-3 de 1,3:1 hasta 2,5:1 aproximadamente.

35 La patente U.S. nº 5,576,351 se refiere al tratamiento de una respuesta inmunitaria humana deficiente o a la reducción del grado de degradación de la respuesta inmunitaria humana mediante la administración de arginina u ornitina, o de un análogo funcional de arginina u ornitina o sus mezclas, a humanos que sufren una respuesta inmunitaria deficiente o están en riesgo de padecerla. Este tratamiento tiene lugar mediante la administración por vía enteral de composiciones suplementadas con arginina u ornitina o análogos funcionales de arginina u ornitina, o mediante la administración por vía parenteral de soluciones de aminoácidos suplementadas con arginina u ornitina o análogos funcionales de arginina u ornitina, al paciente.

40 La publicación de patente U.S. nº 2008/0231525 describe una composición nutriente que se administra por vía parenteral a un paciente críticamente enfermo, a fin de mejorar su función mitocondrial. La composición nutriente incluye una combinación de una molécula precursora de glutamina y un antioxidante, p.ej. selenio, vitamina C, zinc, vitamina E y beta-caroteno.

45 La publicación de patente U.S. nº 2005/0090451 describe en general un método de proteger tejido no mucoso contra el daño causado por la terapia de radiación, el cual consiste en administrar una composición que lleva una cantidad terapéuticamente efectiva de glutamina o de una sal farmacéuticamente aceptable.

50 La publicación de patente U.S. nº 2005/0238660 A1 se refiere a métodos y composiciones con un ácido nucleico inmunoestimulante en combinación con otras formulaciones terapéuticas tales como emulsiones aceite-en-agua. La combinación de productos terapéuticos se administra a sujetos no humanos en varias dosis o siguiendo distintas planificaciones horarias, para el tratamiento de trastornos tales como enfermedades y cáncer.

55 Sin embargo ninguno de dichos estados técnicos anteriores describe o sugiere la adición de inmunonutrientes a pacientes que experimenten apoptosis y/o necrosis inducida por terapia anticancerosa, cuando las células tumorales moribundas están pasando por el momento de mayor expresión antigénica o inmunogénica. Después de todo, el

objetivo de la inmunonutrición debe ser compensar la tolerancia inmunitaria inducida por el tumor durante la muerte o el daño celular debidos a las terapias anticáncer, inclinando el equilibrio huésped-tumor hacia el refuerzo de las defensas del huésped. Al mismo tiempo la inmunonutrición suministrada a pacientes de cáncer puede potenciar la función celular presentadora de antígenos y la destrucción celular innata de células transformadas y de células tumorales antígeno-específicas. Al final, tal como se propone aquí, el mayor objetivo de la inmunonutrición deben ser las células no tumorales transitoriamente debilitadas por la terapia anticáncer.

Visto lo anterior hacen falta métodos y composiciones inmunonutricionales que se puedan formular para prevenir el deterioro de la función inmunológica de los pacientes de cáncer durante el tratamiento anticáncer, a fin de mejorar la eficacia de los tratamientos. También se necesitan métodos y composiciones inmunonutricionales que, aplicadas y administradas en combinación con terapias anticáncer, produzcan unos efectos secundarios menos adversos a los pacientes de cáncer. Más importante aún, desde hace mucho tiempo hay necesidad de métodos y composiciones inmunonutricionales que puedan emplearse durante el margen de tiempo en que las células tumorales moribundas experimentan una inmunogenecidad que actúa de acuerdo con la terapia anticáncer prescrita y además refuerza los procesos inmunológicos innatos y adaptativos del huésped para intensificar la eliminación de las células tumorales. También hacen falta urgentemente métodos y composiciones inmunonutricionales capaces de preservar la fisiología normal de las células inmunitarias y de otras células hemopoyéticas (es decir, de las médula ósea) y recuperar su inmunocompetencia dañada por la terapia anticáncer.

Los métodos y composiciones, y los medios para cumplir cada una de dichas necesidades y otras, se comprenderán a partir de la siguiente descripción detallada.

Resumen de la presente invención

La presente invención ofrece una composición inmunonutricional que comprende al menos un agente reforzante de la inmunidad, que incluye arginina, y un soporte farmacéuticamente aceptable, para reducir transitoriamente el efecto tóxico en la médula ósea provocado por el tratamiento anticáncer, en donde el efecto tóxico en la médula ósea es la parálisis de la médula ósea, de manera que dicha composición inmunonutricional se usa como parte de un tratamiento neoadyuvante y se administra por vía enteral.

Se han descrito métodos y composiciones inmunonutricionales para evitar el deterioro de la función inmunológica de los pacientes sometidos a terapia anticáncer, de modo que el tratamiento sea más eficaz y se minimicen sus efectos secundarios no deseados, permitiendo al paciente seguir con la terapia (observancia del tratamiento) y tener una mejor calidad de vida.

En una forma de ejecución de la presente invención las composiciones inmunonutricionales se pueden administrar al paciente entre diez a tres días antes de un ciclo de terapia anticáncer y diez a siete días después del ciclo.

En otra forma de ejecución de la presente invención las composiciones inmunonutricionales se pueden administrar al paciente entre diez a tres días antes de un ciclo de terapia anticáncer y diez a siete días después de la extirpación quirúrgica de todo el tumor o de una parte del mismo.

En otra forma de ejecución de la presente invención las composiciones inmunonutricionales se pueden administrar al paciente entre diez a tres días antes de un ciclo de terapia anticáncer y diez días hasta justo antes de la extirpación quirúrgica de todo el tumor o de una parte del mismo.

En otra forma de ejecución al menos un agente reforzante de la inmunidad puede incluir un probiótico, una biomasa probiótica, un organismo no replicante, una fuente proteica, un ácido graso, un aminoácido, un ácido nucleico, potasio, ácido úrico, un oligonucleótido de cadena sencilla, un patrón molecular asociado a patógenos/microbios (PAMP/MAMP), un compuesto correlacionado de hexosa activa, carotenoides, vitamina D (incluyendo precursores de vitamina D, formas activas, agonistas o análogos sintéticos de vitamina D y varios estados de hidroxilación de la misma (25-OH D o 1,25-OH D)), un receptor de vitamina D, aminoácidos de cadena ramificada, teanina, vitamina E, ácidos grasos esenciales como EPA y DHA o EPA/DHA, y proteínas de lactoferrina, incluyendo cualquier estado de enriquecimiento con hierro (p.ej. apo-lactoferrina, holo-lactoferrina y lactoferrina saturada con hierro).

En otra forma adicional de ejecución, el probiótico puede ser un microorganismo tal como *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuterii* o mezclas de ellos. La fuente proteica puede ser suero de leche, caseína o proteína de soja.

La fuente proteica de suero de leche proviene de suero de leche natural, suero de leche intacto no hidrolizado, concentrado de proteína de suero de leche, suero de leche aislado, o hidrolizado de proteína de suero de leche. Las proteínas de caseína y de soja pueden estar en forma de hidrolizados de proteína de caseína y de soja.

En una forma adicional de ejecución de la presente invención, el agente reforzante de la inmunidad puede incluir además aminoácido, p.ej. un aminoácido de cadena ramificada tal como leucina, isoleucina y valina; glutamina, citrulina, cisteína y treonina. El agente reforzante de la inmunidad puede incluir un ácido ribonucleico (ARN), un

ácido desoxirribonucleico (ADN) o al menos un oligodesoxinucleótido, p.ej. un oligodesoxinucleótido de CpG.

En una forma de ejecución de la presente invención, al menos un determinante inmunógeno se elige del grupo formado por proteína de choque térmico 70 (hsp70), proteína de choque térmico 90 (hsp90), ligandos para los receptores de células asesinas naturales (p.ej. ligandos para NKG2D), calreticulina y proteína de alta movilidad del grupo de caja 1 (HMGB1).

Se contempla que cualquier composición aquí descrita se pueda implementar respecto a cualquier otro método o composición aquí descrita. Asimismo se contempla claramente que las formas de ejecución se puedan combinar entre sí, en la medida en que sean compatibles.

Otras características y ventajas de la presente invención resultan evidentes en la siguiente descripción detallada. No obstante debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos concretos, aunque representan formas de ejecución de la presente invención, solo tienen valor ilustrativo, no limitativo. Partiendo de la descripción detallada hay varios cambios y modificaciones dentro del alcance de la presente invención que resultarán evidentes para los especialistas en la materia.

Descripción breve de las figuras

La siguiente figura forma parte de la presente exposición y se incluye para demostrar mejor ciertos aspectos de la presente invención. La presente invención se puede entender mejor haciendo referencia a la figura, junto con la descripción detallada de las formas de ejecución aquí expuestas.

La figura 1 muestra una mayor respuesta a los LPS por proliferación de células esplénicas y células B en los animales libres de tumores que en los animales que tienen tumores.

Descripción detallada de las formas de ejecución preferidas

Antes de describir los presentes métodos y composiciones debe entenderse que la presente invención no queda limitada a los métodos, composiciones y condiciones experimentales descritas en concreto, ya que dichos métodos y compuestos pueden variar. También debe entenderse que la terminología aquí empleada solo tiene el propósito de describir formas de ejecución concretas y no pretende ser excluyente, pues el alcance de la presente invención solo está limitado por las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones aquí citadas se incorporan en su totalidad como referencia para revelar y describir los métodos y/o materiales relacionados con dichas publicaciones.

Antes de describir la presente invención se definen los siguientes términos para facilitar un mejor entendimiento de la misma.

Tal como se usan aquí, los términos "cáncer" y "tumor" son indistintos y revelan o describen el estado fisiológico de aquellos mamíferos en los cuales hay una población de células caracterizadas por un crecimiento irregular. Como ejemplos de cáncer cabe citar, sin limitarse a ellos, el carcinoma, el linfoma, el blastoma, el sarcoma y la leucemia. Los ejemplos más concretos de estos cánceres incluyen el cáncer de células escamosas, el cáncer pulmonar de células pequeñas, el cáncer pulmonar de células no pequeñas, el adenocarcinoma pulmonar, el adenocarcinoma escamoso pulmonar, el cáncer peritoneal, el cáncer hepatocelular, el cáncer gastrointestinal, el cáncer pancreático, el glioblastoma, el cáncer cervical, el cáncer ovárico, el cáncer de hígado, el cáncer de vejiga, el hepatoma, el cáncer de colon, el cáncer colorrectal, el carcinoma endometrial o uterino, el carcinoma de las glándulas salivales, el cáncer renal, el cáncer de próstata, el cáncer de vulva, el cáncer tiroideo, el carcinoma hepático y varios tipos de cáncer de cabeza y cuello.

Tal como se usa aquí, el término animales comprende, sin limitarse a ellos, los mamíferos, incluyendo de manera no excluyente roedores, mamíferos acuáticos, animales domésticos tales como perros y gatos, animales de granja tales como ovejas, cerdos, vacas y caballos, y humanos. Cuando se usan los términos animal o mamífero o sus plurales, también se consideran aplicados a cualquier animal capaz del efecto manifestado o pretendido en el contexto del pasaje.

Tal como se usa aquí, la expresión "parálisis de la médula ósea" incluye la supresión o el cese de las actividades de la médula ósea, incluyendo, sin limitarse a él, su papel en la función inmunológica y en la hemopoyesis.

Tal como se usa aquí, "nutrición completa" se refiere preferentemente a productos nutricionales que contienen tipos y niveles suficientes de macronutrientes (proteínas, grasas e hidratos de carbono) y micronutrientes para constituir una única fuente de nutrición del animal al cual se administran.

Tal como se usa aquí, "nutrición incompleta" se refiere preferentemente a productos nutricionales que no contienen niveles suficientes de macronutrientes (proteínas, grasas e hidratos de carbono) o micronutrientes para constituir una única fuente de nutrición del animal al cual se administran.

Tal como se usa aquí, “administraciones prolongadas” son preferiblemente administraciones continuas durante más de 6 semanas.

5 Tal como se usa aquí, “microorganismo” incluye bacterias, levaduras y/u hongos, un medio de cultivo celular con el microorganismo o un medio de cultivo celular en el cual ha crecido el microorganismo.

10 Tal como se usa aquí, un “prebiótico” es preferentemente una sustancia alimenticia que promueve el crecimiento selectivo de bacterias beneficiosas o que inhibe el crecimiento de bacterias patógenas en los intestinos. No se inactivan en el estómago y/o en el intestino delgado ni se absorben en el tracto gastrointestinal de la persona que los ingiere, pero son fermentados por la microflora gastrointestinal y/o por probióticos. Los prebióticos están definidos, por ejemplo, en Glenn R. Gibson y Marcel B. Roberfroid, *Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics* [*Modulación dietética de la microbiota colónica humana: introducción del concepto de prebióticos*], *J. Nutr.* 1995 125: 1401-1412.

15 Tal como se usan aquí, los microorganismos probióticos (de aquí en adelante “probióticos”) son preferentemente microorganismos (vivientes, semi-viables o atenuados y/o no replicantes), metabolitos, preparaciones de células microbianas o componentes de células microbianas que pueden beneficiar la salud del huésped cuando se administran en cantidades adecuadas, en particular, que afectan beneficiosamente a un huésped mejorando su balance microbiano intestinal y produciendo efectos en la salud o bienestar del huésped (Salminen S, Ouwehand A. Benno Y. y otros, “Probiotics: how should they be defined” [*Probióticos: cómo deberían definirse*] *Trends Food Sci. Technol.* 1999:10 107-10). En general se cree que estos microorganismos inhiben el crecimiento y/o el metabolismo de las bacterias patógenas en el tracto intestinal o influyen en él. Los probióticos también pueden activar la función inmunológica del huésped. Por esta razón ha habido muchos planteamientos distintos para incluir probióticos en productos alimenticios.

25 Tal como se usa aquí, “administraciones temporales” son preferiblemente administraciones continuas de menos de 6 semanas de duración.

30 Tal como se usa aquí, “alimentación enteral” se refiere preferentemente a productos nutricionales completos o incompletos que se administran al sistema gastrointestinal de un animal por una vía distinta de la administración oral, incluyendo sin exclusión la sonda nasogástrica, la sonda orogástrica, la sonda gástrica, la sonda yeyunostómica (sonda J), la gastrostomía endoscópica percutánea (GEP), puntos de acceso tales como un puerto torácico, que proporciona acceso al estómago, al yeyuno, y otros puertos de acceso adecuados.

35 Todos los intervalos de dosificación mencionados en esta solicitud de patente incluyen todos los números, enteros o fracciones, contenidos en dicho intervalo.

40 Tal como se usa aquí, el término “sujeto” se refiere a cualquier animal (p.ej. un mamífero), incluyendo, sin limitarse a ellos, humanos, primates no humanos, roedores y similares, destinado a ser el receptor de un tratamiento concreto. Refiriéndose a un sujeto humano, los términos “sujeto” y “paciente” son normalmente intercambiables. “Sujeto” también puede designar un paciente de cáncer que está experimentando apoptosis inducida por terapia anticáncer, ya sea durante o después de dicho tratamiento.

45 Tal como se usan aquí, los términos “tratamiento”, “tratar” y “aliviar” se refieren preferiblemente al tratamiento tanto profiláctico o preventivo (que evita y/o frena el desarrollo de un estado o trastorno patológico al cual va dirigido el tratamiento) como curativo, terapéutico o modificador de la enfermedad, incluyendo medidas que curan, ralentizan, reducen síntomas y/o detienen el avance de un estado o trastorno patológico diagnosticado, y al tratamiento de pacientes que tienen el riesgo de contraer una enfermedad o que supuestamente la han contraído, y de pacientes que están enfermos o que han sido diagnosticados de padecer una enfermedad o estado médico. Los términos “tratamiento”, “tratar” y “aliviar” también se refieren al mantenimiento y/o a la promoción de la salud en un individuo que no padece ninguna enfermedad, pero puede ser susceptible de desarrollar un problema de salud tal como un desequilibrio de nitrógeno o una pérdida muscular. Los términos “tratamiento”, “tratar” y “aliviar” también incluyen la potenciación o la intensificación de una o más medidas profilácticas o terapéuticas primarias.

55 En las reivindicaciones se usa “o” para significar “y/o”, a no ser que se indique explícitamente para referirse solo a alternativas o a las alternativas mutuamente excluyentes, aunque la revelación respalda una definición referida solamente a alternativas y a “y/o”.

60 A lo largo de esta solicitud de patente el término “aproximadamente” se usa para indicar que un valor comprende la desviación estándar del error del aparato o método empelado para determinar dicho valor.

Se contempla específicamente que cualquier forma de ejecución descrita en los ejemplos está incluida como forma de ejecución de la presente invención.

65 Los términos “uno” y “una”, utilizados junto la locución “que comprende” en las reivindicaciones o en la descripción, significan uno o más, a no ser que se mencione específicamente.

Los agentes inmunonutricionales o inmunonutrientes son componentes dietéticos que surten efectos específicos en el sistema inmunitario o pueden aportar beneficios adicionales a los pacientes que sufren las secuelas adversas de la inanición, enfermedad o cirugía y de la apoptosis inducida por la terapia anticáncer. Es sabido que estos agentes estimulan la función inmunológica cuando se administran a los pacientes por vía enteral o parenteral y que pueden ser eficaces para mejorar los resultados durante el periodo preoperatorio o anterior al tratamiento anticáncer y para disminuir la posibilidad de infecciones postoperatorias y la estancia hospitalaria. Como ejemplos comercialmente disponibles de regímenes inmunonutricionales de administración enteral con efectos potenciadores de la inmunidad cabe mencionar: Impact® (Novartis Nutrition, Minneapolis) e Immune-Aid® (McGaw, Inc, Irvine CA), Immunex-Plex® (Victus, Inc., Miami, FL) y AlitraQ® (Laboratorios Ross, Columbus OH). Estos regímenes contienen nutrientes clave como glutamina, ácidos grasos ω -3, arginina y/o ácido ribonucleico en formulaciones comercialmente disponibles con diversas composiciones cuantitativas. Los efectos de estos nutrientes principales están resumidos en la tabla 1 de Heys, S.D. y otros, *Nutr. Hosp.* 19:325-332, 2004. Los inmunonutrientes se pueden incorporar a formulaciones nutricionales corrientes para pacientes que han sido intervenidos de cáncer, p.ej. cirugía de cáncer gastrointestinal y cirugía de cáncer pancreático, o que han sido sometidos a terapia anticáncer o están en curso de someterse a dicha cirugía o tratamiento. Braga, M. y otros, *Nutritional Therapy & Metabolism*, 24:115-119, 2006; McCowen, K.C. y otros, *Am. J. Clin. Nutr.* 77:764-770, 2003; Slotwinski, R. y otros, *Centr. Eur. J. Immunol.*, 32(3):147-154, 2007. Las formulaciones se administran a los pacientes de cáncer preferentemente por vía enteral. Se pueden dar antes, durante y después de la intervención o antes, durante y después del tratamiento terapéutico anticáncer, aunque los estudios han indicado que las suplementaciones preoperatorias y perioperatorias de inmunonutrientes son más efectivas que el tratamiento postoperatorio para mejorar el resultado clínico de pacientes con cáncer gastrointestinal. Cuando la inmunonutrición se facilitó en el postoperatorio los resultados fueron opuestos, probablemente porque la cantidad de substratos proporcionados a los pacientes de cáncer en los cinco primeros días tras la intervención no llegaba a alcanzar con suficiente rapidez la concentración adecuada en el tejido y en el plasma para ser activa. De hecho los inmunonutrientes tardan unos 5 días en incorporarse a los tejidos del huésped y por tanto en modular los mediadores inflamatorios y los perfiles de ácido graso. Braga, M. y otros, arriba citado; McCowen, K.C. y otros, arriba citado. Sin embargo, hasta la fecha aún no hay respuesta a las preguntas sobre los efectos inmunomoduladores de la inmunonutrición en un paciente de cáncer, administrada durante el periodo pre-, peri- o postoperatorio.

El término "agente potenciador de la inmunidad" o "inmunonutricional" conlleva la administración de compuestos nutricionales específicos que tienen propiedades cualitativas intensificadoras, potenciadoras o aumentativas del sistema inmunitario general de los pacientes sometidos a terapia anticáncer o antitumoral o de los pacientes cuya función inmunológica está deteriorada, con el fin de alterar los efectos citotóxicos inducidos por el tumor, mejorar los resultados clínicos y además preservar e intensificar los procesos inmunológicos innatos y adaptativos del sistema inmunitario del huésped para activar la eliminación de las células tumorales como respuesta a la inducción de los determinantes inmunogénicos, tal como se ha ejemplificado arriba. Como ejemplos de compuestos nutricionales potenciadores de la inmunidad cabe mencionar aminoácidos tales como L-arginina, citrulina, cisteína, glutamina, treonina, ácidos grasos omega-3 y nucleótidos. Otros ejemplos de agentes potenciadores de la inmunidad incluyen un probiótico, una biomasa probiótica, un organismo no replicante, una fuente de proteínas, un ácido graso, un aminoácido, un ácido nucleico, potasio, ácido úrico, un oligonucleótido de cadena sencilla, un patrón molecular asociado a patógenos/microbios (PAMP/MAMP), un compuesto correlacionado de hexosa activa, carotenoides, un receptor de vitamina D, aminoácidos de cadena ramificada, teanina, vitamina E, ácidos grasos esenciales como EPA y DHA o EPA/DHA.

Las composiciones nutricionales potenciadoras de la inmunidad pueden administrarse por alimentación intragástrica.

Tal como se usa aquí, el término "periodo peri-operatorio" se refiere al tiempo correspondiente a un procedimiento quirúrgico de un paciente, que normalmente incluye la admisión, la anestesia, la cirugía y la recuperación. Peri-operatorio se refiere en general a las tres fases de la intervención: preoperatorio, intraoperatorio y postoperatorio. El objetivo del cuidado peri-operatorio consiste en proporcionar mejores condiciones para los pacientes antes, durante y después de la operación, incluyendo el tratamiento neoadyuvante. Análogamente el pre-, peri- y postratamiento terapéutico anticáncer se refiere al periodo de tiempo antes, durante y después de la quimioterapia o radioterapia anticáncer.

Tal como se usa aquí, el término "neoadyuvante" o "tratamiento neoadyuvante" se refiere a un intento para que una neoplasia / tumor sea más sensible a un tratamiento más agresivo, por ejemplo centralizando el tumor (proyectos de reducción) y/o contrayéndolo, y reducir el riesgo de siembra de células cancerosas durante la eliminación quirúrgica.

Tal como se usa aquí, el término "tratamiento agresivo" hace referencia a los tratamientos quirúrgicos, incluyendo la cirugía tradicional y la radiocirugía, y a los tratamientos quimioterapéuticos, hormonales y radioterapéuticos.

De acuerdo con la presente invención el mecanismo de muerte celular o apoptosis es inducido por quimioterapia o radioterapia. La muerte celular por apoptosis inducida mediante estos tratamientos es de tipo inmunogénico porque todas las células del tumor están expuestas a estrés celular antes de morir.

El incremento transitorio de antigenicidad o inmunogenicidad tiene lugar en las células tumorales expuestas a la muerte celular inducida por terapia anticáncer. Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención

actúan con mayor preferencia sobre todas las células inmunitarias del sujeto para preservar su inmunocompetencia durante el estrés causado por el tratamiento, sin excluir la posibilidad de que nutrientes tales como la glutamina intensifiquen la expresión de HSP en las células tumorales estresadas, aumentando aún más su inmunogenicidad. En general la apoptosis es un tipo de muerte celular que no es eficiente para provocar una respuesta inmunológica adaptativa innata. Sin embargo en algunos casos la muerte celular apoptótica se puede comunicar con la expresión de "señales de peligro" y tener por consiguiente una capacidad estimulante del sistema inmunitario. Además la respuesta inmunológica potencialmente generada durante este momento específico puede contrarrestar la respuesta tolerogénica que el tumor induce en su propio beneficio para eludir la respuesta inmunológica.

Por lo tanto una estrategia que se emplea en inmunoterapia consiste en evitar la inmunotolerancia que puede ser iniciada por el procesamiento y presentación de antígenos tumorales por células presentadoras de antígenos no activadas, p.ej. células dendríticas. Algunos estudios han demostrado que con agonistas tales como los oligodesoxinucleótidos de CpG (ODNs) y otros nucleótidos, ARN, ADN y otras señales de peligro se puede estimular mejor la reacción inmunológica anticáncer.

Los ODNs de CpG estimulan células que expresan el receptor 9 de tipo Toll, el cual inicia una cascada de inmunomodulación que lleva a la activación de linfocitos B y T, células asesinas naturales, monocitos, macrófagos y células dendríticas. Los ODNs de CpG mejoran la capacidad de resistencia del huésped a las infecciones y la inducción de las respuestas inmunológicas innatas y adaptativas. Klinman, D.M. y otros, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 4(6):937-946, 2004.

Además las células dendríticas (DC) pueden ejercer una función celular inmunitaria más primitiva, es decir la capacidad de destruir células transformadas (cáncer). Esta función ha sido adscrita a un tipo de célula dendrítica mencionada por otros como célula dendrítica asesina (KDC). La KDC tiene la capacidad de matar células tumorales mediante diversos mecanismos que evitan el escape de células tumorales "resistentes" a un solo mecanismo de muerte.

La disfunción de la doble función de las DC durante el tratamiento, es decir la presentación de antígenos y la eliminación de células tumorales, se puede evitar activando la población de DC mediante intervenciones inmunonutritivas. El método combinado de un tratamiento anticáncer tal como la quimioterapia y/o la radioterapia con la inmunonutrición puede preservar una competencia inmunitaria que proporcione un beneficio potencial para hacer los ciclos más eficientes, mejorar la tolerancia a la toxicidad inmunológica de los tratamientos que pueden dañar la mucosas (mucositis) y producir una mayor incidencia de infecciones.

Las células asesinas naturales y las células asesinas naturales T también están implicadas en la destrucción celular innata de células tumorales. Su capacidad funcional se ve muy mermada durante el tratamiento anticáncer. Pero para cumplir su función estas células tienen que mantener su capacidad de ser activadas y pasar por el ciclo celular a fin de expandir su población.

Los probióticos seleccionados y otros patrones moleculares asociados a microbios (MAMPs) tienen la capacidad de estimular esta población celular y por tanto producir la eliminación de células tumorales.

Los linfocitos citotóxicos CD8⁺ (CTL) que reconocen antígenos específicos en la diana celular se agotan durante la presentación de antígenos para iniciar la reacción inmunológica y además el tratamiento reprime su capacidad de actuación citotóxica. Los aminoácidos como la glutamina, la arginina y la citrulina son capaces de potenciar las vías metabólicas que generan las moléculas citotóxicas producidas por las CTL, contribuyendo a la eliminación de las células tumorales cuando los antígenos tumorales quedan más directamente expuestos debido a la inducción de la muerte celular durante el tratamiento.

Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención comprenden preferiblemente al menos un probiótico o una combinación de probióticos. Los probióticos son microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas benefician la salud del huésped. Los probióticos se pueden obtener comercialmente o se pueden producir en general mediante un proceso de fermentación y opcionalmente secado. Las cepas específicas suelen preferir medios o substratos particulares, que la persona experimentada ya conoce. Los microorganismos pueden estar secos o por ejemplo en forma de esporas, en el caso de los microorganismos formadores de esporas. El secado de microorganismos después de producirlos por fermentación es conocido del especialista. Véase p.ej. la patente EP 0 818 529 (Société Des Produits Nestlé), en la cual se describe un proceso de secado por pulverización, o la patente WO 0144440 (INRA). Usualmente los microorganismos bacterianos se concentran a partir de un medio y se secan por atomización, en lecho fluido, por liofilización (secado por congelación) u otro proceso apropiado de secado. Por ejemplo, los microorganismos se mezclan con un material soporte como un carbohidrato, por ejemplo sacarosa, lactosa o maltodextrina, un lípido o una proteína, por ejemplo leche en polvo, durante o antes del secado. Sin embargo no es necesario que los microorganismos estén en forma seca. También puede ser idóneo mezclarlos directamente tras la fermentación con una composición nutricional en polvo, por ejemplo, y luego opcionalmente realizar un proceso de secado, preferiblemente a temperaturas bajas (inferiores a 70°C). Un método de este tipo se revela en la patente WO 02065840 (Société Des Produits Nestlé).

Un probiótico seleccionado puede ser una cepa de *Bifidobacterium* o de *Lactobacillus*. Preferentemente es un *Bifidobacterium lactis* (colección alemana de cultivos: DSM20215), un *Bifidobacterium longum* (CNCM I-2170), un *Lactobacillus paracasei* (CNCM I-2116, CNCM I-1292), un *Lactobacillus johnsonii* (CNCM I-1225), un *Lactobacillus salivarius*, un *Lactobacillus reuteri* o mezclas de ellos.

5 El término "probiótico" también incluye bacterias probióticas no replicadas (muertas), substrato de fermentación y/o material derivado de probióticos. Las composiciones inmunonutricionales de la presente invención pueden contener probióticos muertos o matados por calor para el caso de pacientes gravemente inmunodeprimidos.

10 En general se supone que la activación de respuestas inmunológicas protectoras mediante células T CD8⁺ solo se consigue con vacunas vivas. Sin embargo se introdujeron antígenos procedentes de bacterias muertas en la vía del complejo principal de histocompatibilidad clase 1 y así fueron reconocidos por las células T CD8⁺. Estimulación de linfocitos protectores T CD8⁺ por vacunación con bacterias no vivientes. Szalay, G. y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92(26):12389-12392, 1995.

15 Se ha demostrado que lactobacilos tales como el *Lactobacillus casei* evitan infecciones intestinales y estimulan la IgA en animales malnutridos. Durante los distintos periodos de alimentación también aumentaron en el intestino grueso las células productoras de IgA y los linfocitos T (LT). El aumento de IgA indicaría que los mecanismos por los cuales los probióticos inhiben el desarrollo tumoral pueden consistir en la disminución de la respuesta inflamatoria. Por otra parte el yogurt, en forma de masa probiótica, no solo lleva los tipos de bacteria *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, sino también bífido-bacterias y algunas veces *Lactobacillus casei*. El yogurt puede inhibir el crecimiento del carcinoma intestinal por incremento de la actividad de la IgA, de las células T y de los macrófagos. Perdigon, G. y otros, J. Dairy Sci., 78(7):1597-1606, 1995.

25 La dosis diaria de probióticos añadidos a las composiciones inmunonutricionales de la presente invención puede variar en el intervalo de 10⁷ hasta 10¹⁰ UFC (unidades formadoras de colonias).

30 La expresión "compuesto correlacionado de hexosa activa (AHCC)" se refiere a una mezcla de polisacáridos, aminoácidos, lípidos y minerales derivada de micelios cocultivados de varias especies de hongos basidiomicetos. El AHCC ha sido relacionado con la inmunomodulación y la protección contra infecciones. El AHCC puede incrementar la vigilancia inmunitaria antitumoral regulando la respuesta inmunológica tanto innata como adaptativa (Gao, Y. y otros, Cancer Immunol. Immunother., 55(10):1258-1266, 2006; Ritz, B.W. y otros, J. Nutr. 136:2868-2873, 2006). El AHCC es suministrado comercialmente por Amino Up Chemical Co. Ltd, Japón. El AHCC puede aumentar la activación de la presentación de antígenos por los macrófagos y la inhibición de factores inmunosupresores derivados de tumores, potenciar la proliferación y activación de macrófagos, promover la diferenciación de las células Th1; incrementar la producción de IL-12 por macrófagos, aumentar la actividad de las células NK; promover la apoptosis de las células cancerosas. Se ha indicado que el AHCC incrementa el TNF- α , el interferón- γ y la interleucina-12 y disminuye la proteína ácida inmunosupresora (IAP) y el factor de crecimiento tumoral (TGF)- α . Vistos sus posibles efectos en el sistema inmunitario, el AHCC se puede usar como apoyo en el tratamiento del cáncer para mejorar algunos de los efectos secundarios negativos de la quimioterapia.

40 Tal como se usa aquí, el término "proteína intacta" se refiere a una proteína que preferiblemente no ha sido sometida a hidrólisis química o enzimática y se halla en una forma sustancialmente similar o idéntica a su estado natural. De acuerdo con la presente invención la "proteína intacta" se puede elegir al menos entre caseína, proteína de suero de leche, proteína de soja, colágeno o proteína de trigo.

45 En el contexto de la presente invención el término "fuente proteica" incluye cualquier materia proteinogénica basada en aminoácidos, tal como proteína dietética intacta o hidrolizada, así como péptidos añadidos o aminoácidos libres y mezclas de ellos, por ejemplo.

50 La fuente proteica puede incluir hidrolizados de proteína de alto grado de hidrólisis preparados a partir de proteínas animales y vegetales tratadas con ácido o enzimas, tales como los hidrolizados de caseína, suero de leche, caseína/suero de leche, soja y mezclas de ellos. Por hidrolizados de proteína de "alto grado de hidrólisis" se entiende que la proteína intacta está hidrolizada en fragmentos peptídicos, la mayoría de los cuales tiene un peso molecular menor de 1000 Daltons. Preferentemente, al menos un 75% (con mayor preferencia al menos un 95%) de los fragmentos peptídicos tienen un peso molecular inferior a unos 1000 Daltons. Los aminoácidos libres y las cadenas peptídicas cortas sintéticas también pueden reemplazar los hidrolizados proteicos o añadirse a ellos como fuente de nitrógeno, siempre que la composición nutricional tenga un perfil de aminoácidos adecuado a la población a la cual va dirigida, como es conocido del especialista en el campo de las formulaciones nutricionales.

60 En una forma de ejecución preferida de las composiciones inmunonutricionales según la presente invención, la fuente proteica puede ser de origen animal o vegetal. Por lo tanto la fuente proteica puede incluir una combinación de proteína de suero de leche, de caseína o de soja y sus hidrolizados.

65 La fuente proteica de suero de leche puede proceder de suero de leche natural, suero de leche no hidrolizado intacto, concentrado de suero de leche, proteína aislada de suero de leche o proteína de suero de leche hidrolizada.

La caseína se puede suministrar en forma libre o en forma de sal, por ejemplo de sal sódica. También es posible suministrar la caseína en forma de sal de calcio o potasio.

Tal como se usa aquí, el término "aminoácidos", si no se indica otra cosa, se refiere a aminoácidos en forma libre y/o forma salina escogidos entre al menos uno de los aminoácidos esenciales, p.ej. isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina o histidina; aminoácidos condicionalmente esenciales, p.ej. tirosina, cisteína, arginina o glutamina, o aminoácidos no esenciales, p.ej. glicina, alanina, prolina, serina, ácido glutámico, ácido aspártico, asparaginas, taurina o carnitina. El papel de los aminoácidos en la función inmunitaria está revisado por Peng Li y colegas en *British J. Nutr.*, 98(2):237-252, 2007.

La presente invención también se refiere a composiciones inmunonutricionales que además incluyen aminoácidos de cadena ramificada (AACR), p.ej. valina, leucina, isoleucina o mezclas de ellos, en forma libre y/o en forma salina y/o en forma de proteína intacta. Los AACR pueden encontrarse en sus tres formas, como dipéptidos, tripéptidos, polipéptidos, como proteína rica en AACR y/o como proteína manipulada para enriquecer el contenido de AACR. Los dipéptidos, tripéptidos y polipéptidos pueden incluir dos o más AACR. Los productos nutricionales según la presente invención pueden incluir análogamente precursores y/o metabolitos de AACR.

Las células inmunitarias incorporan AACR a las proteínas y son capaces de oxidar AACR. La función del sistema inmunitario es proteger al huésped de los agentes infecciones patógenos y de otras agresiones perniciosas. Tras la infección hay un marcado aumento de la demanda de substratos por el sistema inmunitario; estos substratos aportan energía y son los precursores de la síntesis de células nuevas, moléculas efectoras y moléculas protectoras. Los estudios han indicado que los AACR son absolutamente esenciales para que los linfocitos sinteticen proteína, ARN y ADN, y se dividan respondiendo a la estimulación. En experimentos con ratones, la restricción de AACR en la dieta perjudica varios aspectos de la función inmunológica e incrementa la susceptibilidad a los agentes patógenos. Los pacientes postquirúrgicos o sépticos que recibieron formas intravenosas de AACR mostraron una mejor inmunidad, es decir mejores resultados. Los AACR son por tanto absolutamente esenciales para la capacidad de respuesta de los linfocitos y son necesarios para respaldar otras funciones celulares inmunológicas.

Los AACR también pueden promover la síntesis de glutamina y estimular la respuesta inmunológica Th1, un tipo de respuesta inmunológica adaptativa. El ejercicio intenso de larga duración se ha relacionado con la inmunosupresión, que a su vez afecta a células asesinas naturales, células asesinas activadas por linfocina y linfocitos. Se ha indicado que la glutamina es un alimento importante para macrófagos y linfocitos, y que posee efectos estimulantes de la inmunidad. Su aporte como suplemento oral tras el ejercicio tiene claros efectos beneficiosos en caso de infecciones subsecuentes en atletas fondistas. No obstante la concentración de glutamina en plasma disminuye tras el esfuerzo, p.ej. después de un periodo de ejercicio. Sin embargo el efecto reductor de la concentración de glutamina quedó neutralizado por la suplementación con AACR, a la cual le siguió una mayor respuesta proliferativa en las células mononucleares de la sangre periférica. La suplementación con AACR estimuló la producción de IL-2 e INF tras el ejercicio y un descenso más pronunciado de la producción de IL-4, lo cual indica una desviación hacia una respuesta inmunológica Th1. La suplementación con AACR también resultó efectiva para mantener constante la concentración de glutamina en plasma. Bassit, R. A. y otros, *Nutrition*, 18(5):376-379, 2002.

Además de mejorar los parámetros metabólicos, la suplementación oral enriquecida con AACR puede mejorar la morbilidad y la calidad de vida de pacientes sometidos a una resección mayor del hígado y a quimioembolización. Sin embargo el papel de los AACR como apoyo nutricional para pacientes quirúrgicos estresados y pacientes de cáncer todavía no está claramente definido, a pesar de sus propiedades biológicas potencialmente beneficiosas. Choudry, H.A. y otros, *J. Nutr.*, 136(1 Suppl.):314S-8S, 2006.

La respuesta inmunológica requiere mayores cantidades de AACR. De hecho los linfocitos estimulados muestran una mayor absorción de AACR para la expansión celular, incluyendo leucina, isoleucina y valina. Además la leucina es un activador de la vía de señalización mTOR, que regula la síntesis y degradación proteica y también antagoniza el proceso autofágico de las células que sufren estrés o inanición. Los AACR se incorporan a las composiciones nutricionales de la presente invención en unas cantidades comprendidas aproximadamente entre 2 y 30 g diarios, preferiblemente en una cantidad aproximada de 3 g diarios.

Las composiciones nutricionales de la presente invención pueden comprender además glutamina (Gln) y/o arginina y/o citrulina y/o aminoácidos de cadena ramificada (AACR).

La glutamina es un substrato nutriente primordial para las células del sistema inmunitario. Además de ser una fuente fundamental de glutamato, la Gln regula la síntesis de glutatión y es un precursor de los nucleótidos de purina y de pirimidina necesarios para la proliferación de los linfocitos. En su papel de agente anticanceroso la Gln es capaz de incrementar la actividad citolítica innata de las NK, de las células dendríticas asesinas y de los macrófagos. La Gln también contribuye a la acción citolítica antígeno-específica de las células T CD8⁺ contra las células tumorales.

La glutamina puede estar en forma de un aminoácido añadido. En el contexto de la presente invención "aminoácido añadido" se refiere a un aminoácido no ligado a proteína que se incorpora aparte de las típicas fuentes dietéticas de proteína tales como leche, carne y proteínas vegetales. El aminoácido añadido puede estar presente en forma de un

aminoácido libre y/o de un di- y/o tripéptido que comprende el aminoácido. Por ejemplo, la glutamina puede añadirse en forma de un dipéptido tal como L-alanil glutamina. La glutamina libre no es estable en un ambiente líquido; por tanto, si la composición debe venderse en forma líquida, la glutamina tendrá que añadirse como dipéptido u otra forma estable en medio líquido. En caso de tener que suministrar la composición en forma líquida, otra posibilidad sería incluir una cantidad apropiada de glutamina en polvo como módulo para mezclar con el líquido inmediatamente antes del consumo.

La cantidad de glutamina puede variar entre 5 g y 30 g diarios aproximadamente, con mayor preferencia entre 6 g y 9 g diarios aproximadamente.

Además de lo antedicho la Gln puede aumentar la expresión de HSP en células epiteliales normales del intestino. La expresión de HSP en las células tumorales durante el tratamiento anticáncer puede dar como resultado un aumento de inmunogenicidad de las células tumorales. El tratamiento anticáncer induce estrés en las células tumorales, el cual aumenta a su vez la eficacia del sistema inmunitario innato para contribuir al efecto citotóxico sobre las células transformadas y actúa conjuntamente con los fármacos en la eliminación de masa tumoral. La cantidad de Gln es preferiblemente de unos 5 g a 30 g, con mayor preferencia de unos 6 g a 9 g.

La arginina es sintetizada a partir de citrulina como precursor inmediato en muchos tejidos, pero de manera más importante en el riñón. A su vez la citrulina es sintetizada a partir de glutamina, glutamato y prolina a nivel intestinal. Los niveles de citrulina y arginina en el plasma disminuyen marcadamente durante la malnutrición, el ayuno, en distintos tipos de lesiones, cuando hay tumores, durante el tratamiento anticáncer y la sepsis. Se ha pensado que ello contribuye a la inmunodeficiencia existente en cáncer.

Las actividades biológicas de la arginina sobre la función inmunológica se podrían categorizar como directas e indirectas. Por lo tanto se puede asumir que la citrulina también producirá los mismos efectos que la arginina como resultado de su papel en la síntesis de arginina.

Muchas actividades directas sobre el sistema inmunitario están relacionadas con la función de las células T y se explican principalmente por la inducción de la expresión de uno de los componentes del receptor de células T. De hecho los niveles fisiológicos de arginina (150 μ M) modulan la cadena ξ del receptor de células T necesaria para la función de las células T. De modo importante se ha demostrado que la citrulina actúa sinérgicamente con la arginina para expresar la cadena ξ de CD3, prolongando la vida media de su ARNm.

Hay varios tipos de tumores que expresan arginasa o inducen la expresión de arginasa en las células tumorales, dando como resultado uno de los mecanismos fundamentales de la inmunodeficiencia normalmente observada en la interacción huésped-tumor. La inmunodeficiencia afecta a la función citotóxica antígeno-específica de CD8 y también a la citotoxicidad innata de las NK y los macrófagos para las células transformadas. Los macrófagos asociados al tumor tienen una participación directa en el proceso inmunosupresor al producir arginasa y expresar además un fenotipo capaz de inducir células T reguladoras que impiden la acción citotóxica del sistema inmunitario. Todas estas observaciones respaldan la afirmación de que la administración simultánea de citrulina y arginina puede compensar la inmunodeficiencia durante la actividad antitumoral.

El metabolismo de L-arginina en células supresoras mieloides es crítico para inhibir la activación de las células T (Bronte, V. y otros, Nat. Rev. Immunol., 5:641-654, 2005). Se han descrito diferentes vías metabólicas en las MSC que explican el mayor consumo de arginina y la privación de este aminoácido para las células T, un requisito previo para la activación de las células T. Alternativamente los macrófagos activados se caracterizan por un incremento de la expresión de arginasa, un enzima responsable de la disminución de arginina.

La dosis diaria de arginina incluida en las composiciones inmunonutricionales de la presente invención puede variar aproximadamente entre 5 g y 30 g diarios, preferiblemente en un intervalo de concentración aproximado de 10 g hasta 15 g diarios.

La dosis diaria de citrulina incluida en las composiciones inmunonutricionales de la presente invención puede variar aproximadamente entre 1 g y 30 g diarios, preferiblemente en un intervalo de concentración aproximado de 2 g hasta 15 g diarios.

En varias aplicaciones clínicas de suplementación con citrulina se ha demostrado la eficacia de una dosis de tres a cuatro gramos tomados dos veces al día. Tras la administración los resultados suelen producirse durante un periodo de 3 - 5 días. Volviendo ahora a parte del estado técnico anterior, la patente U.S. nº 5,576,351 describe en general el tratamiento de una respuesta inmunológica deficiente mediante la administración de arginina u ornitina o mezclas de las mismas a humanos que padecen o tienen el riesgo de padecer una respuesta inmunológica defectuosa. Sin embargo no hay ninguna revelación de que se obtenga algún beneficio en cuanto a mitigar o aliviar los efectos de dichas condiciones mediante la administración de arginina.

La patente WO/2007/114903 ofrece un método y una formulación para el tratamiento o el mantenimiento de unas condiciones que se beneficiarían del aumento o conservación de los niveles de arginina en la sangre y que tienen

mejores características de sabor que los suplementos actuales de arginina. Además este mantenimiento de los niveles de arginina en la sangre sería beneficioso para enfermedades agudas y crónicas con una tasa deficiente de conversión de arginina a citrulina. La patente proporciona asimismo un método para tratar al menos la saciedad o la dispepsia en un individuo. En una forma de ejecución el método incluye la administración de una cantidad efectiva de L-citrulina a un individuo.

Como se ha mencionado arriba, los dos documentos citados no describen ni sugieren la adición de inmunonutrientes a pacientes cancerosos que experimentan apoptosis inducida por terapia anticáncer, en un momento en que las células tumorales moribundas se hallan en el intervalo de mayor expresión antigénica o inmunogenética, cuando dicha adición de inmunonutrientes aumentaría o potenciaría la inmunocompetencia de las células inmunitarias e incrementaría la inmunogenicidad de las células tumorales de pacientes sometidos a terapia anticáncer durante este breve periodo de tiempo de mayor antigenicidad.

La teanina, un aminoácido no proteico exclusivo de las bebidas de té, es la fuente dietética de etilaminas. Los sujetos que tomaron cápsulas con teanina y catequinas manifestaron una menor incidencia de síntomas de resfriado y gripe, con una mayor actividad de células T $\gamma\delta$. Los linfocitos T $\gamma\delta$ humanos son un subgrupo de células T que constituyen una primera línea de defensa contra microbios y tumores. Estas células T $\gamma\delta$ se pueden cebar con bisfosfonatos y ciertas alquilaminas de cadena corta para potenciar su capacidad de proliferar y secretar citocinas tras la exposición *ex vivo* a una amplia variedad de microbios y células tumorales. La etilamina, una alquilamina, es producida por hidrólisis ácida de la L-teanina en el intestino y por hidrólisis enzimática mediada por amidasas en el hígado (Asatoor, A.M., *Nature*, 210(5043):1358-1360, 1966). Una vez diluida en medios, la L-teanina hidrolizada por ácido produjo una expansión de células T $\gamma\delta$ multiplicada por 15 (5%-75%) a partir células mononucleares de sangre periférica. Bukowski, J. F. y otros, *Nutr. Rev.*, 66(2):96-102, 2008.

Por lo tanto las composiciones de la presente invención también se pueden emplear para preparar formulaciones nutricionales, medicamentos u otras formas de terapia de administración oral destinadas al tratamiento, prevención o alivio de los efectos secundarios de la radioterapia y la quimioterapia.

Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención se pueden elaborar de manera convencional, por ejemplo mezclando la fuente proteica, la fuente de hidratos de carbono y la fuente de lípidos. En la mezcla se pueden incluir emulsionantes. En este punto se puede añadir vitaminas y minerales, pero también más tarde para evitar la degradación térmica. Todas las vitaminas, emulsionantes y similares de carácter lipófilo se pueden disolver en la fuente de lípidos antes de realizar la mezcla. Luego se puede incorporar agua previamente sometida a ósmosis inversa para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua es convenientemente de unos 50°C a 80°C para ayudar a dispersar los ingredientes. Para formar la mezcla líquida se pueden usar agentes licuadores disponibles en el comercio.

Se ha documentado que vitaminas tales como la vitamina A y sus derivados o los carotenoides tienen un efecto estimulador del sistema inmunitario, tanto *in vivo* como *in vitro* (Blomhoff, H.K. (1994) en *Vitamin A in Health and Disease [Vitamina A en la salud y en la enfermedad]* (Blomhoff, R., ed.), p. 451-483, Marcel Dekker, Nueva York), pero los mecanismos responsables de tal efecto aún no han sido definidos. Estos efectos pueden ser vehiculados por miembros de los receptores de ácido retinoico (RARs) y retinoide X. Por ejemplo, el receptor- γ de ácido retinoico no es necesario para el desarrollo de las células inmunitarias, pero es imprescindible para la producción de IFN- γ por las células T CD8⁺. Dzhagalov, I. y otros, *J. Immunol.*, 178(4): 2113-2121, 2007. Como ejemplos de carotenoides cabe mencionar, sin limitarse a ellos, β -caroteno, α -caroteno, γ -caroteno, licopeno, zeaxantina, capsantina y luteína. El efecto inmunomodulador del tratamiento con β -caroteno es atribuible a sus propiedades de provitamina A. Esta observación se corresponde con un estudio anterior realizado en humanos, en el cual se registró un mayor número de células colaboradoras y también con ensayos que muestran mayores cantidades de células CD3⁺, CD4⁺ y CD8⁺ (García, A. L. y otros, *Immunology*, 110:180-187, 2003). También se ha demostrado que el β -caroteno aumenta la actividad inmunológica a través de un vía independiente, esto es, el incremento de la expresión de la células CPA en su superficie, p.ej. moléculas de adhesión como la molécula de adhesión intercelular-1 y el antígeno-3 asociado a la función leucocitaria. Otro posible mecanismo en el que interviene la vitamina A y sus derivados puede ser la acción inhibidora del β -caroteno en las actividades de la ciclooxigenasa o de la lipooxigenasa (García, A. L. y otros, arriba citado).

Efectos similares del β -caroteno y de los carotenoides en los órganos y funciones del sistema inmunitario han sido descritos con anterioridad (Bendich, A., *J. Nutr.*, 119:112-115, 1989; Bendich, A., *J. Nutr.*, 134:225S-230S, 2004).

Las vitaminas D y E son otras vitaminas capaces de potenciar la inmunidad. Por ejemplo, se ha demostrado que la vitamina D es un nutriente/hormona que regula las respuestas normales de células T, pero no el desarrollo de las células T. Las células asesinas naturales T (NKT) reactivas con CD1d que tienen un receptor V α 14 de células T reorganizado de forma invariante constituyen un subgrupo único de linfocitos cuya actividad es importante para la regulación inmunológica, la vigilancia tumoral y la defensa del huésped contra los agentes patógenos. Los estudios han demostrado que la expresión del receptor de vitamina D (RVD) es necesaria para el desarrollo y la actividad normal de las células iNKT. (Yu, S. y otros, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(13):5207-5212, 2008).

Por lo que respecta a la vitamina E, se ha indicado que el tratamiento de pacientes de cáncer con altas dosis diarias de vitamina E a corto plazo puede potenciar la acción de las células NK. La cantidad de vitamina E administrada a los pacientes de cáncer fue de unos 750 mg diarios durante dos semanas. Hanson, M.G. y otros, *Cancer Immunol. Immunother.*, 56(7): 973-984, 2007. El tratamiento a corto plazo con vitamina E mejoró significativamente la acción citolítica de las células NK. La mayor actividad de las células NK entre las células mononucleares de la sangre periférica de los pacientes no se debió a un aumento del número de células NK o del porcentaje de la subpoblación de células NK CD56(dim). Asimismo, el tratamiento con vitamina E se relacionó con una inducción pequeña pero constante de la expresión de NKG2D entre todos los pacientes estudiados. La supresión inmunitaria inducida por tumores no está limitada al sistema de células T adaptativas y a los defectos funcionales de las células dendríticas (DC) y NK. La vitamina E tiene la capacidad de aumentar la producción de las citocinas IL-2 e IFN-gamma por Th1 e incrementar la actividad de las NK mediante un mecanismo probablemente muy distinto del de la histamina. Hanson, M.G. y otros, arriba citado.

Las proteínas son proteínas lácteas (suero de leche o proteína de suero de leche en combinación con caseína) y aminoácidos que aportan aproximadamente un 20-40% del contenido energético del producto, preferiblemente cerca de un 30% del contenido energético del producto. Entre las proteínas también se pueden incluir las de soja, caseína y los hidrolizados.

La fuente de lípidos puede comprender ácidos grasos saturados (AGS), ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y/o ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Los AGS pueden hallarse en parte como triglicéridos de cadena media (TCM). Tal como se trata aquí, los TCM hacen referencia a triglicéridos que comprenden ácidos grasos C₆-C₁₂. Todos los ácidos grasos de la fuente de lípidos pueden hallarse en forma de ácidos grasos n-3. El ácido graso n-3 se escoge preferiblemente entre ácido α -linolénico (18:3n-3), ácido eicosapentanoico (AEP, 20:5n-3), ácido docosapentanoico (ADP, 22:5n-3) y ácido docosahexaenoico (ADH, 22:6n-3) y mezclas de ellos.

Los lípidos pueden proporcionar un 25 - 40% del contenido energético del producto, preferiblemente un 30% de la energía total del producto, el 50% del cual está constituido por triglicéridos de cadena media. Los ácidos grasos poliinsaturados (p.ej. ácido eicosapentanoico (AEP) y ácido docosapentanoico (ADP)) son de aceites vegetales o de aceite de pescado, con un intervalo de relación n6:n3 inferior a 6, con preferencia igual a 2-3 aproximadamente.

Se ha visto que los ácidos grasos esenciales (AGE) intervienen en la modulación de la reactividad de los linfocitos y en la destrucción de varias células tumorales in vitro. Purasiri, P. y otros, *Eur. J. Surg. Oncol.*, 21(3):254-260. En la suplementación oral a corto plazo (15 días) con ácidos grasos esenciales (AGE), los AGE no alteraron de manera significativa la actividad citotóxica de las células NK y LAK en pacientes con cáncer localizado. Sin embargo en el grupo con la enfermedad avanzada la reducción de la actividad citotóxica de las células NK y LAK ocurrió el día 15 y disminuyó de manera continua, llegando a niveles mínimos 6 meses después de la suplementación. En el grupo con cáncer avanzado no hubo ningún cambio en la actividad citotóxica de las NK y LAK. No obstante la suplementación a largo plazo puede tener efectos perjudiciales para los mecanismos citotóxicos naturales anticáncer en pacientes con enfermedad maligna. Purasiri, P. y otros, arriba citado.

Como ejemplos de ácidos grasos ω -3 cabe citar AEP y ADH. Tanto el AEP como el ADH dan lugar respectivamente a eicosanoides y docosanoides, que pueden tener propiedades diferentes de los eicosanoides derivados de ácido araquidónico. El AEP y el ADH dan lugar a la formación de resolvinas. Calder, P.C. y otros, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 77(5-6):327-335, 2007. Por otra parte se sabe que las resolvinas reducen la inflamación celular al inhibir la producción y el transporte de células y sustancias químicas inflamatorias a los sitios de inflamación. Las resolvinas tienen un papel inmunológico en los riñones como remedio contra el fallo renal agudo. Serhan, C. N. y otros, *J. Exp. Med.*, 196(8):1025-37, 2002.

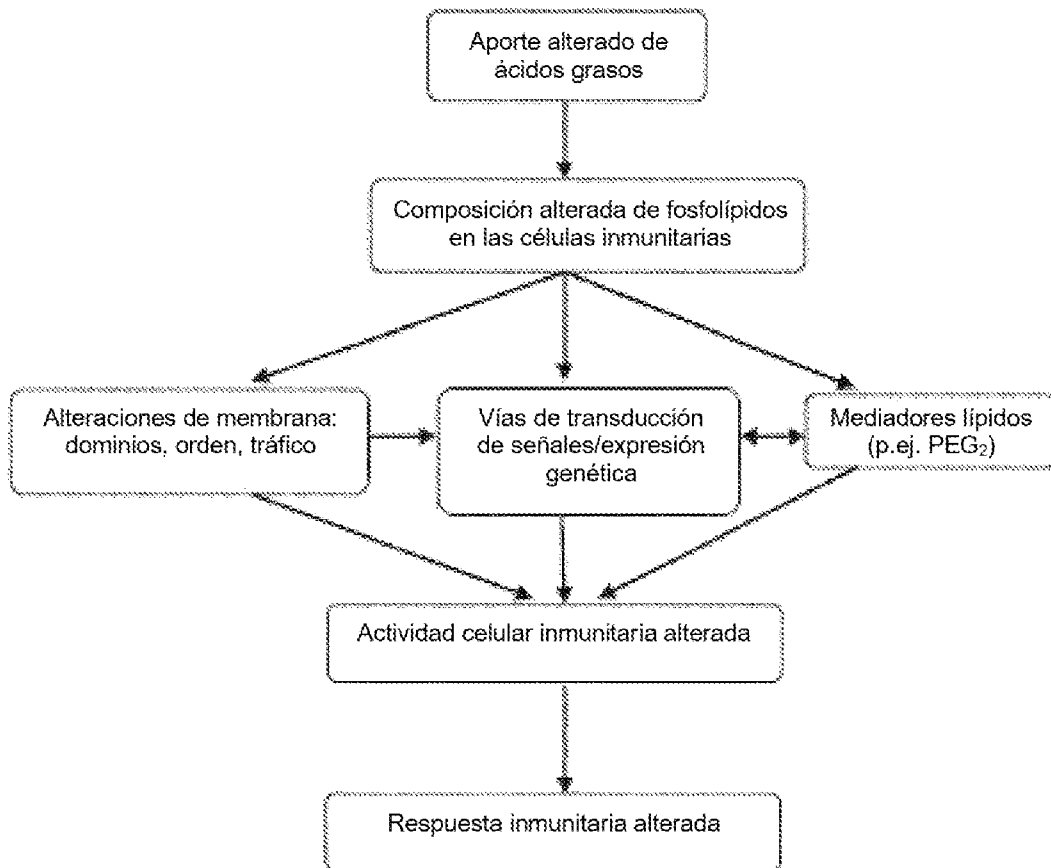
La mayor incorporación de AEP a los fosfolípidos de las células inmunitarias puede incrementar la producción de eicosanoides derivados de AEP tales como la prostaglandina E3 (PGE3) y los leucotrienos (LTs) de la serie 5, ya que el AEP puede servir de sustrato para los enzimas ciclooxigenasa y lipooxigenasa. Se ha comprobado una mayor generación de LTs de la serie 5 empleando macrófagos procedentes de ratones alimentados con aceite de pescado, neutrófilos procedentes de sujetos humanos infundidos durante varios días con emulsiones de lípidos que contienen aceite de pescado, y neutrófilos procedentes de humanos suplementados durante varias semanas con aceite de pescado por vía oral.

Basándose en lo anterior, los ácidos grasos cumplen una serie de funciones en las células inmunitarias. Pueden constituir una reserva para la generación de energía, pueden actuar como componentes de los fosfolípidos de la membrana celular contribuyendo a las propiedades físicas y funcionales de esas membranas, como modificadores covalentes de la estructura proteica con influencia sobre la localización y la función celular de las proteínas, como reguladores de la expresión genética por efecto en la actividad de los receptores, en los procesos de señalización intracelular o en la activación de factores de transcripción, y como precursores para la síntesis de mediadores lípidos bioactivos como las prostaglandinas (PGs), los leucotrienos (LTs), las lipoxinas y las resolvinas.

Los cambios en la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos de membrana puede influir en la actividad de las células inmunitarias, tal como se ilustra abajo, incluyendo las siguientes etapas: (1) alteraciones de las propiedades

físicas de la membrana tales como su orden y dominio estructural; (2) efectos alterados en las vías de señalización celular, bien por un cambio en la expresión, actividad o aidez de los receptores de membrana o por modificación de los mecanismos de transducción de las señales intracelulares; y (3) alteraciones del patrón de los mediadores lípidos (PGE₂). Como resultado de estos distintos cambios se altera la activación del factor de transcripción y se modifica la expresión genética. Distintos mediadores pueden producir diferentes actividades y potencias biológicas. Calder, P.C. y otros, arriba citado.

Figura 1.



Los hidratos de carbono pueden proporcionar un contenido energético comprendido en el intervalo del 30 al 50% del producto aproximadamente, con preferencia del 40% aproximadamente.

La fuente de hidratos de carbono puede consistir en cualquier carbohidrato o mezcla de carbohidratos adecuados y digeribles. Por ejemplo, la fuente de hidratos de carbono puede ser de maltodextrina, almidón de tapioca natural o modificado, maíz, arroz, de otros cereales, de patata, o de almidón de alto contenido de amilosa, sacarosa, glucosa, fructosa y/o mezclas de ellos.

Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención pueden estar clínicamente exentas de lactosa. En el contexto de la presente invención, la expresión "clínicamente exentas de lactosa" se refiere a composiciones inmunonutricionales que tienen un máximo de 0,2 g de lactosa por 100 kcal de la composición. La composición tiene preferiblemente menos de 0,2, con mayor preferencia menos de 0,17 g de lactosa por 100 kcal de la composición.

Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención también pueden estar exentas de gluten.

Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención también pueden llevar otros suplementos nutricionales, por ejemplo vitaminas, minerales, oligoelementos, así como fuente adicionales de nitrógeno, hidratos de carbono y ácidos grasos. Se pueden añadir a la ingesta oral del paciente o suministrarlos en forma de una sola formulación nutricional completa que aporte todas las cantidades básicas diarias de vitaminas, minerales, hidratos de carbono, ácidos grasos y otros ingredientes necesarios.

Las composiciones inmunonutricionales según la presente invención se pueden formular de forma adecuada para la administración enteral. Son especialmente apropiadas para uso enteral, tal como administración oral y/o por sonda. Estas composiciones se administran convenientemente en forma de líquido acuoso. Las composiciones según la

presente invención que son adecuadas para la aplicación enteral están por tanto en forma acuosa o de un polvo que debe mezclarse con agua antes del uso. En caso de alimentación por sonda la cantidad de agua añadida dependerá de la necesidad de líquido y del estado del paciente.

5 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que, dentro del alcance del juicio médico razonable, son adecuadas para usar en contacto con el tejido humano sin provocar una inapropiada respuesta de tipo tóxico, irritante, alérgico y similar, y tienen una relación beneficio/riesgo razonable.

10 Tal como se aplican aquí, los intervalos numéricos pretenden incluir cualquier número y subgrupo de números contenidos en el intervalo, tanto si están específicamente revelados como si no. Además estos intervalos numéricos deben interpretarse como base para una reivindicación dirigida a cualquier número y subgrupo de números en este intervalo. Por ejemplo, una revelación de 1 a 10 debe interpretarse como un intervalo que incluye límites de 2 a 8, de 3 hasta 5, 6, 7, de 1 a 9, de 3,6 a 4,6, de 3,5 a 9,9, y así sucesivamente.

15 Todas las referencias a características o limitaciones particulares de la presente invención incluyen la respectiva característica o limitación plural y viceversa, a no ser que se especifique otra cosa o el contexto en el cual se hace la referencia implique claramente lo contrario.

20 Tal como se usan aquí, todas las combinaciones de etapas del método o proceso se pueden realizar en cualquier orden, a no ser que se especifique otra cosa o el contexto en el cual se hace referencia a la combinación implique claramente lo contrario.

25 Tal como se usan aquí, todos los porcentajes, partes y proporciones se refieren al peso respecto a la composición total, a no ser que se especifique otra cosa. Como todos los pesos de los ingredientes enumerados se basan en su nivel activo, no incluyen los disolventes o productos secundarios que pueden estar contenidos en los materiales comercialmente disponibles, a no ser que se especifique otra cosa.

30 Las composiciones y métodos de la presente invención pueden comprender, constar de o constar esencialmente de los elementos básicos y las limitaciones de la presente invención aquí descritas, así como cualquier ingrediente, componente o limitación adicional u opcional aquí descrita o que pueda resultar útil en composiciones y métodos del tipo general aquí descrito.

35 "Tratamiento" se refiere a la administración de medicinas o composiciones o formulaciones o a la realización de los procedimientos médicos respecto a un mamífero, incluyendo un humano, para la profilaxis (prevención), curación, mejora o normalización de la dolencia, enfermedad o insuficiencia del paciente aquejado o deficiente.

"Paciente" o "sujeto" se refiere a un mamífero humano o no humano que se puede beneficiar de la composición nutritiva y del método que se describen en la presente solicitud de patente.

40 Una "cantidad terapéuticamente efectiva" o una "cantidad nutricionalmente efectiva" es una cantidad de un agente, composición o formulación que es suficiente para lograr el efecto deseado del tratamiento.

45 "Parenteral" se refiere a la ruta de materiales a través o básicamente a través de las capas epidérmicas del cuerpo humano, usualmente por medios intravenosos (IV), intramusculares (IM) o subcutáneos (SC).

50 Tal como se usa aquí, el término "enteral" se refiere a la administración a través del tracto alimentario. El especialista sabe que esta administración puede tener lugar en el intestino, que es el conducto que va del estómago hacia el ano y se divide en intestino delgado e intestino grueso, a través de la boca, a través de un tubo nasogástrico hacia el estómago y por otros medios conocidos en el estado técnico.

"Farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia normativa del gobierno federal o de un gobierno estatal, o listado en la farmacopea U.S. o en otra farmacopea generalmente reconocida, para usar en animales y más concretamente en humanos.

55 "Vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o soporte con el cual se administra el agente terapéutico. Estos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles como agua y aceites, incluyendo los de petróleo y los de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo de cacahuete, de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y análogos. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerina también se pueden usar como vehículos líquidos, en particular para soluciones inyectables. Como excipientes farmacéuticos adecuados cabe citar almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato sódico, monostearato de glicerilo, talco, cloruro sódico, leche descremada en polvo, glicerina, propileno, glicol, agua, etanol y similares.

65 Tal como se usa aquí, el término "terapia del cáncer" se refiere a quimioterapia, cirugía, radiación, terapia genética, inmunoterapia, terapia biológica, agentes diferenciadores, agentes quimiopreventivos o una combinación de ellos. En algunas formas de ejecución la quimioterapia se refiere a fármacos o agentes citotóxicos.

Tal como se usa aquí, el término "quimioterapia" se refiere a un proceso de eliminación de células proliferantes mediante un agente citotóxico. La expresión "durante la quimioterapia" se refiere al periodo de duración del efecto del agente citotóxico administrado. Por otra parte la expresión "tras la quimioterapia" quiere decir que se cubren todas las situaciones en que una composición se administra después de un agente citotóxico, independientemente de cualquier administración anterior del mismo y también independientemente de la persistencia del efecto del agente citotóxico administrado.

Si el método de la presente invención se aplica a la quimioterapia, al menos una composición inmunonutricional se puede administrar antes, durante o después de la quimioterapia (es decir antes, durante o después de administrar un agente citotóxico). Por ejemplo, las composiciones inmunonutricionales de la presente invención se pueden dar al sujeto diez a tres días antes de un ciclo de quimioterapia (prequimioterapia o antes de la quimioterapia) hasta diez a siete días después del ciclo (postquimioterapia o tras la quimioterapia).

Como ejemplos de edulcorante cabe citar, sin limitarse a ellos, sacarina sódica, aspartamo, estevióside, extracto de estevia, aldehído para-metoxicinámico, neoesperidina dihidrocalcona, perilla rutina y similares.

Como formas usuales de dosificación de productos farmacéuticos cabe citar, sin limitarse a ellas, las preparaciones orales (preparados líquidos tales como extractos, elixires, jarabes, tinturas y limonadas; preparados sólidos tales como cápsulas, granulados, píldoras, polvos y tabletas), inyecciones, infusiones, gotas nasales, gotas oculares, supositorios, aerosoles y formas de dosificación para administración percutánea tales como ungüentos y parches.

De acuerdo con la presente invención, las composiciones según la misma se pueden ofrecer en forma de productos dietéticos, p.ej. como suplementos o en forma de una formulación nutricional, p.ej. un producto medicinal para comer o beber, p.ej. en forma de una comida completa o parcial, como aditivo alimentario o polvo para disolver, o en forma de una formulación farmacéutica, p.ej. en forma de tableta, píldora, sobre o cápsula.

En otro aspecto la presente invención proporciona producto medicinal para comer o beber, un suplemento dietético o nutricional o una formulación farmacéutica que comprende las composiciones inmunonutricionales de la presente invención.

Las composiciones de la presente invención en forma de productos dietéticos, p.ej. suplementos o formulaciones farmacéuticas, pueden constar exclusivamente de las composiciones de la presente invención y opcionalmente vehículos farmacéutica o nutricionalmente aceptables.

Las composiciones de la presente invención pueden hallarse en forma de productos medicinales para comer o beber, p.ej. en forma de polvos para disolver. El polvo se puede combinar con un líquido, p.ej. agua u otro líquido como leche o zumo de fruta, p.ej. en una proporción 1 a 5 de polvo a líquido aproximadamente, para obtener una composición lista para beber o una bebida instantánea.

Opcionalmente las composiciones de la presente invención pueden ser nutricionalmente completas, es decir pueden incluir vitaminas, minerales, oligoelementos, así como fuentes de nitrógeno, hidratos de carbono y grasas y/o ácidos grasos, de manera que se puedan usar como fuente única de nutrición que aporte básicamente todas las cantidades diarias indispensables de vitaminas, minerales, hidratos de carbono, grasas y/o ácidos grasos, proteínas y similares. Por consiguiente las composiciones según la presente invención se pueden suministrar en forma de una comida completa nutricionalmente equilibrada, adecuada p.ej. para la alimentación oral o por sonda, p.ej. mediante tubos nasogástricos, nasoduodenales, traqueoesofágicos, gastrostómicos o yeyunostómicos, o para la nutrición periférica o parenteral total. Las composiciones de la presente invención son preferentemente para administración oral.

La presente invención proporciona medios para ayudar al sistema inmunitario durante el tratamiento anticáncer por quimio o radioterapia.

La presente invención proporciona métodos para aprovechar el aumento de expresión celular tumoral de las células estresadas ("señal de peligro") induciendo el reconocimiento y eliminación de estas células por células inmunitarias innatas como las células asesinas naturales (NK), las células asesinas naturales T (NKT), los macrófagos (Macs) y las células dendríticas asesinas (KDC). Las células inmunitarias innatas se activan fuertemente al encontrar "señales de peligro" en las células tumorales durante el tratamiento anticáncer.

Los siguientes ejemplos describen la presencia de células inmunitarias supresoras y la actividad inmunológica de los animales que tienen tumores y sufren un deterioro de su respuesta inmunológica innata y adaptativa, sometidos o no a quimioterapia. Además se proporciona un ejemplo que describe los efectos beneficiosos de la inmunonutrición en ratones que tienen tumores y se someten a terapia antitumoral. Más adelante se ofrecen también cinco ejemplos de composiciones inmunonutricionales, que varían de una a otra por el tipo y la cantidad de agentes potenciadores de la inmunidad que hay en ellas.

Ejemplo 1

Presencia de mecanismos inmunosupresores en animales que tienen tumores - deterioro de la respuesta inmunológica innata y adaptativa.

Ratones. En los ensayos se utilizaron ratones endogámicos C57BL/6 (H-2b) de ocho semanas de edad. Los ratones fueron inoculados subcutáneamente (s.c.) en el flanco izquierdo con 1×10^6 células tumorales y el crecimiento tumoral se controló cada 2 días midiéndolo con un calibre. Pasados 6 días desde la inoculación tumoral, los animales se trataron con oxaliplatino o doxorubicina. El crecimiento tumoral se controló cada dos días después del tratamiento quimioterapéutico y los ratones se sacrificaron a las dos semanas de la implantación del tumor. Algunos ensayos se prolongaron hasta 28 después de la quimioterapia para evaluar mejor el crecimiento tumoral.

El peso corporal se midió cada dos días hasta el sacrificio.

Se tomaron muestras de sangre a los días 2 y 4 después del tratamiento quimioterapéutico, el día 10 y el día del sacrificio (14 o 28 días). Se realizó una autopsia y se evaluó la masa tumoral.

Líneas celulares cancerosas. La línea celular de sarcoma inducido por metilcolantreno (MCA) que expresa el antígeno exógeno de la ovoalbúmina (OVA) se cultivó en medio DMEM o RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, HEPES 10 mM, 2-mercaptoetanol 20 μ M, 150 U/ml de estreptomina, 200 U/ml de penicilina y SBF al 10% inactivado por calor. Se inyectaron 1×10^6 células tumorales en el flanco de los ratones 6 días antes del tratamiento quimioterapéutico.

Evaluación hematológica. Los días 2, 4, 10, 14 y 28 se llevaron a cabo los recuentos de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito.

Los recuentos de glóbulos blancos y la fórmula diferencial leucocitaria se examinaron en los mismos momentos. Las muestras de sangre también se usaron para determinar las poblaciones de células inmunitarias.

Análisis de flujo citométrico. Se realizó el análisis de los subgrupos celulares CD11c⁺, CD11b⁺Gr-1⁺ y CD11b⁺Gr-1⁻; CD14⁺, CD19⁺, CD16⁺, CD56⁺, CD3⁺, CD8⁺, CD4⁺. La batería de anticuerpos utilizada permitió la evaluación de: subgrupos de células B y T, NK, células NKT, macrófagos, células dendríticas, granulocitos.

Evaluación del crecimiento tumoral.

El crecimiento de los tumores se evaluó cada 2 días usando calibres y el volumen tumoral se calculó aplicando la fórmula longitud x anchura x anchura x 0,52 mm³.

Resultados.

Tras la inoculación s.c. de las células tumorales a los ratones, los tumores necesitan de 5 a 6 días para empezar a crecer, tal como se aprecian con el calibre. El crecimiento de los tumores durante los primeros 6 días no estuvo acompañado de pérdida de peso.

El tratamiento con oxaliplatino o doxorubicina en todas las dosis ensayadas estuvo acompañado de pérdida de peso durante los 6 días siguientes al tratamiento. Las dosis más altas indujeron una pérdida de peso más acusada, pero en la mayor parte de este periodo la pérdida de peso no fue superior al 10 o 15% del peso corporal inicial. La máxima pérdida de peso fue alrededor del 10 por ciento para todas las dosis ensayadas de doxorubicina (2,5, 5, 7,5 y 10 mg/kg) y alrededor del 15 por ciento para la dosis máxima de oxaliplatino (10 mg/kg). Otras dosis ensayadas fueron 5 y 7,5 mg/kg).

Los animales aislados que habían tenido una pérdida de peso más importante (más del 15%) fueron sacrificados. Luego el peso corporal permaneció estable o se recuperó un poco. En aquellos ensayos cuyo seguimiento duró hasta 28 días se inició una nueva fase de pérdida de peso alrededor del día 20 tras el tratamiento quimioterapéutico y persistió hasta el sacrificio.

Toxicidad para los glóbulos rojos evaluada por el número de eritrocitos: los niveles de hemoglobina y hematocrito mostraron un patrón distinto. Ambos agentes quimioterapéuticos indujeron un descenso de nivel que prosiguió hasta el día 6 posterior a la quimioterapia y alcanzó niveles estables hasta el día 16, y entonces volvieron a disminuir.

El recuento de glóbulos blancos muestra una caída inmediatamente después de la quimioterapia y una recuperación que se inicia al cabo de 7 días. Es interesante que los animales tratados con oxaliplatino tendieran a presentar unos recuentos de leucocitos más altos que los del punto de partida.

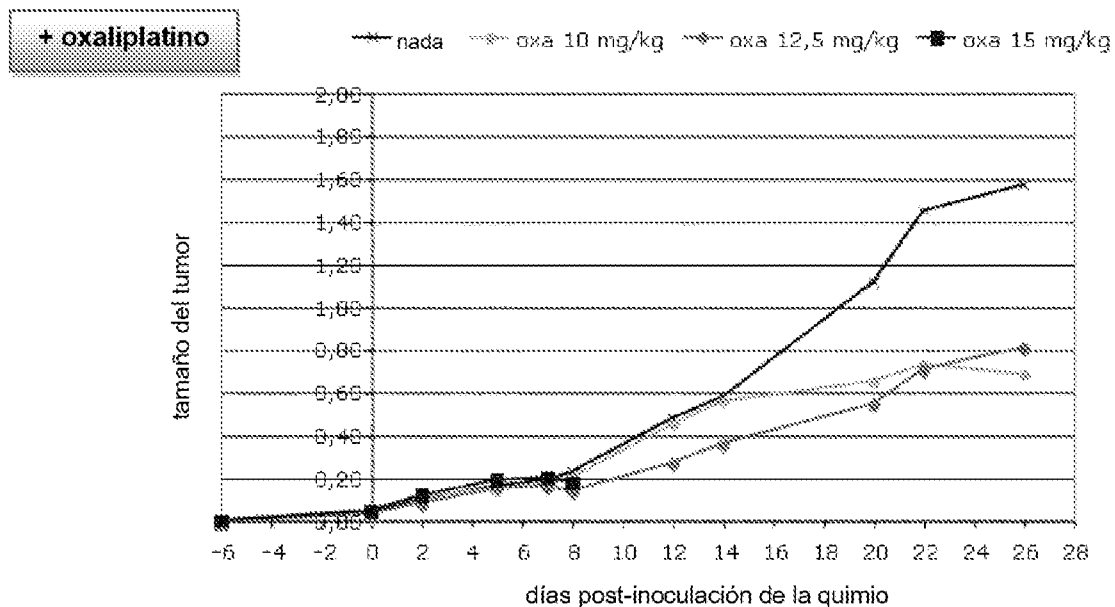
Los estudios de citometría de flujo de los leucocitos y de los subgrupos de células inmunitarias demostraron que la quimioterapia inducía una disminución global de linfocitos hasta el día 10 posterior al tratamiento. Luego el número de linfocitos empezó a aumentar y recuperó la línea base o incluso la superó.

La linfopenia transitoria incluyó CD3 y CD 19 (células B), NKs; (subgrupos de linfocitos); la sangre periférica lleva una minoría de células dendríticas y monocitos.

5 El crecimiento del tumor se pudo observar 5-6 días después de la implantación s.c. de las células. El tamaño del tumor no muestra un cambio significativo tras la quimioterapia, pero de nuevo se observa crecimiento a partir de los 8-10 días posteriores a la quimioterapia. Luego el aumento del tumor prosigue hasta el sacrificio. En los ratones de control, que tenían tumor pero no se trataron con quimioterapia, el ritmo de crecimiento es mayor hasta el final de los ensayos (sacrificio de los animales).

10 La figura 2 ilustra cómo la respuesta inmunitaria adaptativa es estimulada por la inmunogenicidad promovida por el tratamiento quimioterapéutico. La quimioterapia daña las células cancerosas y por tanto aumenta su susceptibilidad al sistema inmunitario. En la figura 2 la divergencia al día 14 de los dos grupos de tratamiento (oxa-10; oxa-12,5) con respecto al grupo de control se relaciona con la respuesta inmunológica potenciada. Aunque el tumor continúa creciendo, lo hace a una velocidad más lenta que el grupo de control (sin quimioterapia).

15 Figura 2. Efecto antitumoral del oxaliplatino en un modelo murino implantado con tumor frente al control



20 Ejemplo 2.

Presencia de mecanismos celulares inmunosupresores en animales que tienen tumores y están sometidos a quimioterapia - estado de la respuesta inmunológica innata y adaptativa.

25 Ratones. En los ensayos se usaron ratones endogámicos C57BL/6 (H-2b) de ocho semanas de edad. Los animales se distribuyeron en 7 grupos dietéticos distintos. Hubo un grupo de control que recibió la dieta AIN 93 para roedores adultos (mantenimiento). Las dietas de ensayo se administraron en dosis apropiadas al modelo animal: (a) la dieta de control fue suplementada con 1% (p/p) de L-arginina, (b) un 25% de la proteína se sustituyó por glutamina, (c) 1% (p/p) de L-citrulina, (d) 1 g/Kg de peso corporal con compuesto correlacionado de hexosa activa, (e) 20 mg/día de nucleótidos de ARN y (f) 25 mg/día de lactoferrina. Una semana más tarde los ratones fueron inoculados por vía subcutánea (s.c.) en el flanco izquierdo con 1×10^6 células tumorales y el crecimiento tumoral se controló cada 2 días midiéndolo con un calibre. Pasados 6 días desde la inoculación tumoral, los animales se trataron con oxaliplatino o doxorubicina. El crecimiento tumoral se controló cada dos días tras el tratamiento quimioterapéutico y los ratones se sacrificaron dos semanas después de dicho tratamiento. Los animales de control sin tratamiento quimioterapéutico se probaron en paralelo con todas las dietas ensayadas. El peso corporal se determinó cada dos días. Se tomaron muestras de sangre los días 2, 4 y 10 después del tratamiento quimioterapéutico y el día del sacrificio (14 o 28 días). Se realizó una autopsia y se evaluó la masa tumoral.

40 Líneas celulares cancerosas. La línea celular de sarcoma inducido por metilcolantreno (MCA) que expresa el antígeno exógeno de la ovoalbúmina (OVA) se cultivó en medio DMEM o RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM, HEPES 10 mM, 2-mercaptoetanol 20 μ M, 150 U/ml de estreptomycin, 200 U/ml de penicilina y SBF al 10% inactivado por calor. Se inyectaron 1×10^6 células tumorales en el flanco de los ratones 6 días antes del tratamiento quimioterapéutico.

Evaluación hematológica. Los días 2, 4, 10, 14 y 28 se llevaron a cabo los recuentos de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito.

Los recuentos de glóbulos blancos y la fórmula diferencial leucocitaria se examinaron en los mismos momentos. Las muestras de sangre también se usaron para determinar las poblaciones de células inmunitarias.

Análisis de flujo citométrico. Se realizó el análisis de los subgrupos celulares CD11c⁺, CD11b⁺Gr-1⁺ y CD11b⁺Gr-1⁻; CD14⁺, CD19⁺, CD16⁺, CD56⁺, CD3⁺, CD8⁺, CD4⁺. La batería de anticuerpos empleada permitió el estudio de los subgrupos de células B y T, NK, células NKT, macrófagos, células dendríticas, granulocitos.

Evaluación del crecimiento tumoral. El crecimiento de los tumores se controló cada 2 días usando calibres y el volumen tumoral se calculó aplicando la fórmula longitud x anchura x anchura x 0,52 mm³.

Resultados.

Todas las dietas ensayadas originaron una curva similar de ganancia de peso durante los 8 días anteriores a la transferencia tumoral. Tras la inoculación s.c. de células tumorales en los ratones, los tumores necesitan 5 a 6 días para empezar a crecer, tal como se aprecian con el calibre. Después de la implantación de las células tumorales y antes de la quimioterapia no se observó ningún cambio en el peso del tumor. Los animales perdieron peso durante los primeros días después de la quimioterapia. La máxima pérdida de peso se alcanzó entre los días 4 y 10 después de la quimioterapia y luego los animales permanecieron con peso estable o incluso empezaron a recuperar peso corporal. No se observaron diferencias entre las distintas dietas.

La máxima pérdida de peso fue alrededor del 10 por ciento para todas las dosis ensayadas de doxorubicina (2,5, 5, 7,5 y 10 mg/kg) y alrededor del 15 por ciento para la dosis máxima de oxaliplatino (10 mg/kg). Otras dosis ensayadas fueron 5 y 7,5 mg/kg).

La toxicidad para los glóbulos rojos evaluada por el número de eritrocitos, los niveles de hemoglobina y hematocrito mostraron un patrón distinto. Ambos agentes quimioterapéuticos indujeron un descenso de glóbulos rojos que llegó a los niveles más bajos entre los días 6 y 10 tras la quimioterapia y no alcanzó niveles estables hasta el día 16. La dieta suplementada con arginina evitó la marcada caída de eritrocitos observada entre los días 6 y 10 (figura 3). Este grupo fue diferente del de control y también de los otros tratamientos. Además la combinación de arginina con el tratamiento quimioterapéutico redujo aún más el tamaño del tumor en comparación con la quimioterapia aplicada sin más (figura 4).

Figura 3. Efecto de la suplementación dietética de arginina en la reducción de la toxicidad sobre la médula ósea, en comparación con la dieta de control.

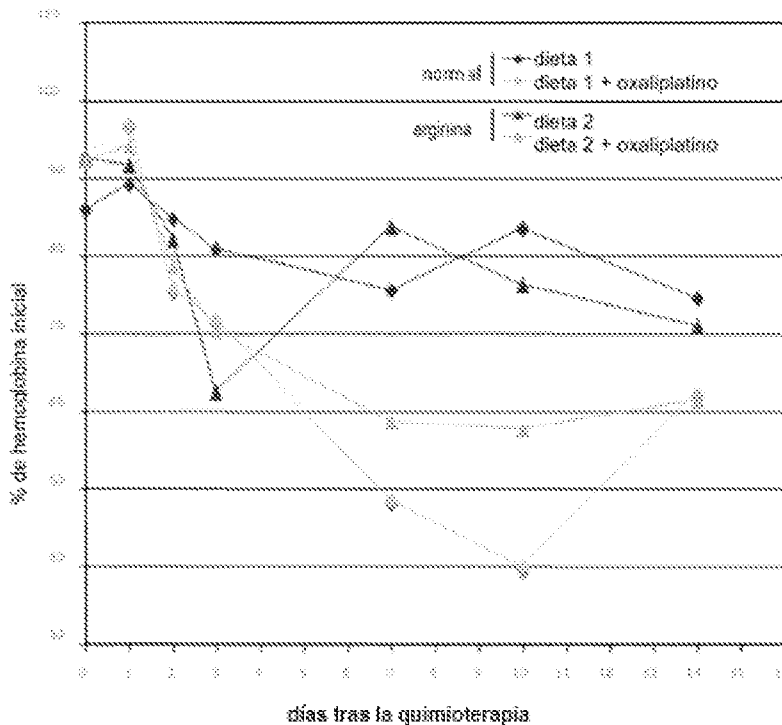
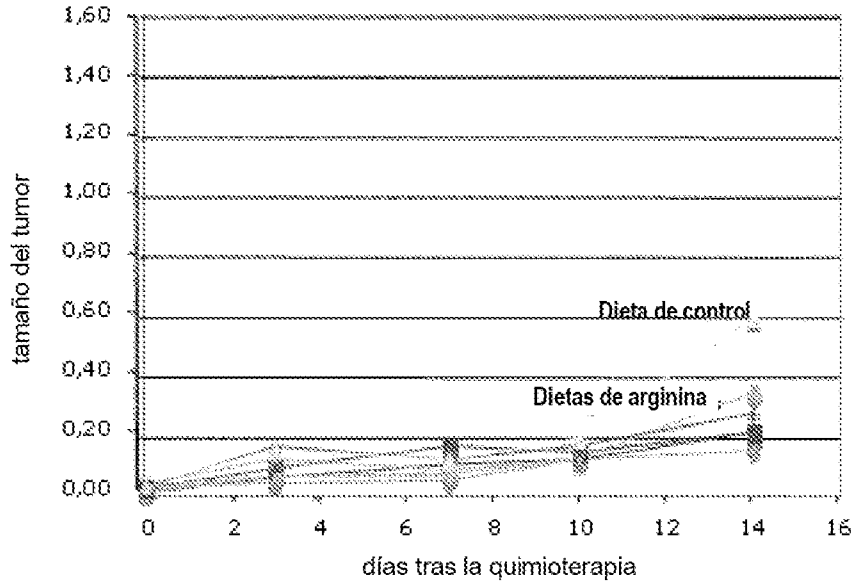


Figura 4. La arginina en la dieta junto con la terapia del cáncer reduce el tamaño del tumor en comparación con la dieta de control



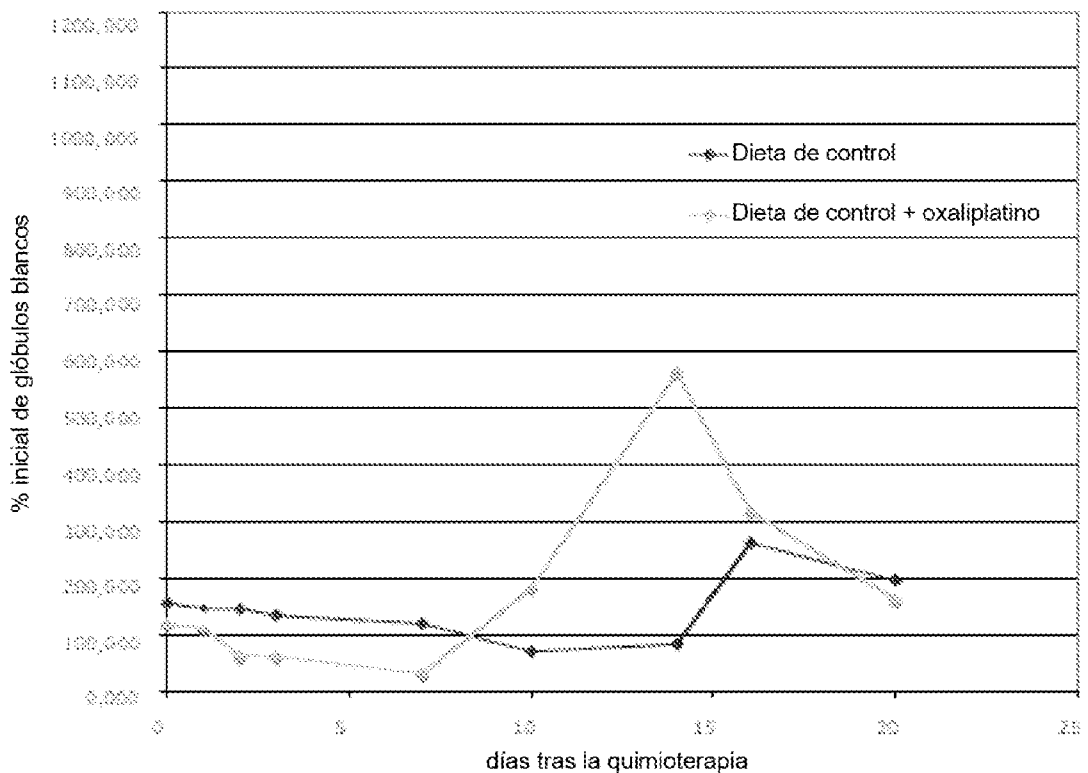
5

Los recuentos de glóbulos blancos disminuyeron en la primera semana después de la quimioterapia. Antes del décimo día los recuentos de glóbulos blancos empiezan a recuperarse y superan la línea base original después del día diez y tienden a permanecer altos hasta el final del experimento. Los animales de control no tratados con los agentes quimioterapéuticos tienen un nivel más estable de glóbulos blancos durante el experimento, que tiende a subir después del día 15 (figura 5). En los animales tratados con oxaliplatino el aumento leucocitario tendió a ser superior al del grupo que recibió la dieta suplementada con lactoferrina.

10

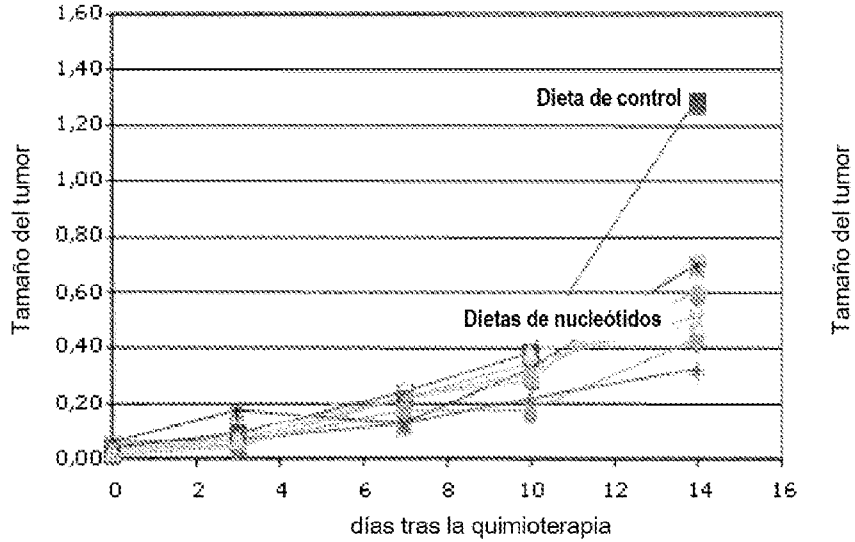
Figura 5. Efecto del oxaliplatino en la población de glóbulos blancos

15

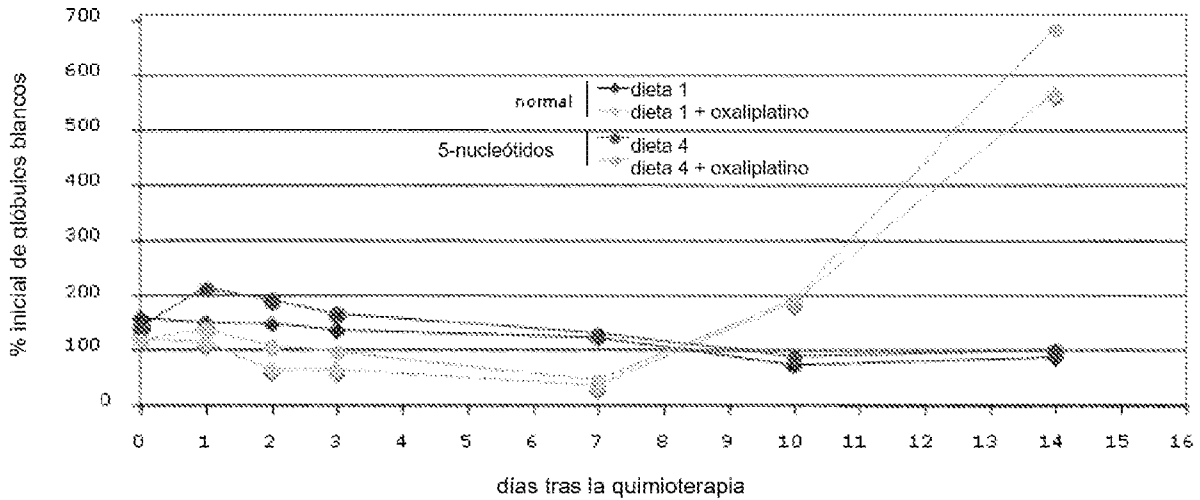


Los estudios de citometría de flujo de los leucocitos y de los subgrupos de células inmunitarias demostraron que la disminución global de linfocitos era provocada por la quimioterapia unos 10 días después del tratamiento. La pérdida de células CD3⁺ fue parcialmente modulada en los animales que recibieron la dieta suplementada con arginina. La población global de linfocitos disminuyó menos tras la quimioterapia en los grupos que recibieron los aminoácidos glutamina y citrulina, así como lactoferrina. En el grupo de tratamiento que recibió nucleótidos dietéticos se observó una reducción del tamaño del tumor, incluso en ausencia de quimioterapia (figura 6). Además la administración de nucleótidos dietéticos también produjo un aumento de los glóbulos blancos (figura 7).

5
10
Figura 6. Los nucleótidos dietéticos reducen el tamaño del tumor en comparación con la dieta de control en ausencia de terapia del cáncer.



15
Figura 7. Efecto de los nucleótidos dietéticos en la población de glóbulos blancos bajo la toxicidad inicial producida por el oxaliplatino



20
25
Tal como se ha descrito anteriormente, el crecimiento del tumor tras la transferencia de células tumorales también se puede observar y medir utilizando calibres 5 a 6 días después de la transferencia celular. Tras la quimioterapia el crecimiento del tumor es atenuado hasta aproximadamente el día 10 posterior a la quimioterapia y después hay un aumento de la velocidad del crecimiento del tumor hasta el final del ensayo. En los ratones de control con tumores, que no fueron tratados con quimioterapia, el ritmo de crecimiento es superior hasta el final de los experimentos (sacrificio de los animales). El efecto de cada dieta fue independiente del crecimiento del tumor y de su interacción con el tratamiento quimioterapéutico, así como de los controles no tratados. De hecho el grupo que consumió la dieta suplementada con arginina mostró una progresión retardada del tumor implantado, en comparación con los otros grupos. Además los nucleótidos parecen inducir un retardo del crecimiento tumoral, incluso en los animales de control que no recibieron los agentes quimioterapéuticos.

Ejemplo 3.

La presencia de mecanismos inmunosupresores en los animales que tienen tumores y están sometidos a quimioterapia se pueden compensar en parte mediante una inmunonutrición diseñada específicamente.

Ratones. En los ensayos se usaron ratones C57BL/6 de ocho semanas de edad. Los ratones se inocularon s.c. en el flanco izquierdo con células tumorales y el crecimiento tumoral se controló cada 2 días por medición con calibre. Se realizó una autopsia entre 10 y 20 días tras la implantación del tumor y se evaluó la masa tumoral. Se evaluaron las células tumorales para determinar su frecuencia de apoptosis y mitosis y las células que pasaban por el ciclo celular (tinción inmunohistoquímica Ki67). Diez días después de la implantación del tumor los animales se trataron con agentes quimioterapéuticos. Los animales del ensayo recibieron semanalmente 4 inyecciones intraperitoneales (i.p.) de los siguientes fármacos, solos o combinados: Cytosan (ciclofosfamida monohidrato), 100 mg/kg; metotrexato, RNX-0396, 25 o 50 mg/kg; Adriamycin (doxorubicina hidrocloreuro), 5 mg/kg; 5-FUra4, 25 o 50 mg/kg. Los animales se sacrificaron a los 2, 4 y 10 días después de la administración del tratamiento.

Los animales empezaron con la dieta de ensayo 5 días antes de la implantación del tumor. La dieta estaba basada en proteína de suero de leche suplementada con glutamina, citrulina, cisteína, treonina y arginina, nucleótidos y un recuento de 10^7 células probióticas (una mezcla de bifidobacterias y lactobacilos) por gramo de dieta. Un grupo de animales de control recibió comida normal.

Muestreo tisular, aislamiento y cultivo celular. Los ratones que tenían tumores fueron sacrificados y sus bazo y tumores s.c. se inmovilizaron en fijador de Bouin o se recogieron en condiciones estériles. Los tejidos fijados se embebieron en parafina, se seccionaron y se tiñeron con hematoxilina y eosina o con técnicas inmunohistoquímicas, para evaluar la muerte celular por apoptosis y la proliferación celular (Ki67). Se prepararon suspensiones de células únicas. Los análisis de subgrupos celulares de los esplenocitos $CD11b^+Gr-1^+$ y $CD11b^+Gr-1^-$ se realizaron con los bazo y los homogenados tumorales.

Los mismos dos subgrupos celulares también se analizaron en secciones tisulares de masas tumorales que llevaban tejido. Las células dendríticas $CD11c^+$ y los linfocitos citotóxicos $CD8^+$ se tiñeron en el bazo y en el tejido alrededor de los tumores implantados.

Incorporación de TdR- H^3 . Se cultivaron células $CD8^+$ (2×10^5 células por pocillo) en placas de 96 pocillos de fondo plano y se estimularon con 3 μ g/ml de anti-CD3 y 2 μ g/ml de anti-CD28. Se añadieron al cultivo células $CD11b^+$ procedentes de animales con tumores y de animales libres de tumores hasta constituir el 20% de todas las células. Tras 2 días de incubación los cultivos se pulsaron con 1 μ Ci/pocillo de TdR- H^3 durante 18 horas y la incorporación de TdR- H^3 se midió por recuento de centelleo.

Evaluación de la respuesta CTL. Para generar CTLs aloreactivos, esplenocitos (3×10^6) procedentes de ratones BALB/c con tumores, sometidos a la dieta de ensayo o de control, se cultivaron con 3×10^6 esplenocitos de C57BL/6 γ -irradiados. Después de 5 días se analizó la capacidad de los cultivos para lisar dianas alogénicas (MBL-2) en un ensayo de liberación de Cr^{51} de 5 horas de duración, empleando 2×10^3 células diana previamente marcadas con 100 μ Ci de $Na_2^{51}CrO_4$ durante 60 minutos. El porcentaje de lisis específica se calculó del siguiente modo, a partir de muestras triplicadas: $(cpm \text{ experimental} - cpm \text{ espontáneo}) / (cpm \text{ máximo} - cpm \text{ espontáneo}) \times 100$. Las unidades líticas (UL) se calcularon como el número de células que produjo un 30% de lisis específica de 2.000 células diana alogénicas (MBL-2) por 10^6 células efectoras ($UL30/10^6$ células). Cuando estuvieron presentes, el porcentaje de lisis no específica de células de control CT26 se substrajo del obtenido con las células diana MBL-2.

Resultados.

En este ensayo, la liberación de cromo y la respuesta proliferativa a la estimulación con anti-CD3 y anti-CD28 fue mayor en los animales con tumores que estaban sometidos a quimioterapia y recibieron la dieta inmunonutritiva.

En el bazo y en los tejidos peritumorales se observaron menos células supresoras mieloides.

El bazo y las células B de los animales con tumores que estaban sometidos a quimioterapia y consumieron la dieta de ensayo recuperaron la capacidad de respuesta a los LPS en comparación con el grupo de control.

En general los animales sometidos a la dieta de ensayo mostraron un mayor nivel de inmunocompetencia que los alimentados con la dieta de control.

ES 2 556 765 T5

EJEMPLO 4

	75 g de polvo + 180 ml de agua = volumen final de 230 ml	50 g de polvo + 120 ml de agua = volumen final de 150 ml
Energía total	350 kcal	230 kcal
Proteínas totales (25% de la energía)	21,8 g	14,5 g
Caseína	7,5 g	5 g
Proteína de suero de leche	7,5 g	5 g
L-glutamina	6,8 g	4,5 g
Carbohidratos (40% de la energía)		
Jarabe de maíz	35,3 g	23,5 g
Lactosa	0,06 g	0,04 g
Lípidos (35% de la energía)	13,7 g	9,1 g
Triglicéridos de cadena media	6,8 g	4,6 g
Ácido linoleico	2,3 g	1,7 g
Ácido α -linolénico	420 mg	315 mg
Ácidos grasos	705 mg	470 mg
Relación n6/n3	3,50	
Minerales		
Sodio	0,18 g	0,12 g
Cloruro	173 mg	115 mg
Potasio	390 mg	260 mg
Calcio	225 mg	150 mg
Fósforo	180 mg	120 mg
Magnesio	36 mg	24 mg
Hierro	4,2 mg	2,8 mg
Cinc	3,3 mg	2,2 mg
Cobre	0,38 mg	0,26 mg
Yodo	45 μ g	30 μ g
Selenio	15 μ g	10 μ g
Manganeso	0,83 mg	0,55 mg
Cromo	24 μ g	15,5 μ g
Molibdeno	29 pg	19,5 pg
Vitaminas		
Vitamina C	42 mg	27,5 mg
Vitamina E mg α -ET (UI)	6,2 (9,3)	4,2 (6)
Vitamina A μ g ER (UI)	290 (970)	195 (650)
Vitamina D μ g (UI)	3,8 (150)	2,6 (100)
Vitamina K μ g	19	12,5
Tiamina mononitrato (vitamina B ₁) mg	0,55	0,37
Riboflavina (vitamina B ₂) mg	0,52	0,35
Piridoxina (vitamina B ₆) mg	0,9	0,6
Niacina mg (mg EN)	5,3 (9)	3,5 (6)
Ácido fólico μ g	110	75
Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) mg	1,1	0,75
Ácido pantoténico mg	1,9	1,3
Biotina mg	0,012	0,008

ES 2 556 765 T5

EJEMPLO 5

	75 g de polvo + 180 ml de agua = volumen final de 230 ml	50 g de polvo + 120 ml de agua = volumen final de 150 ml
Energía total	350 kcal	230 kcal
Proteínas totales (25% de la energía)	21,8 g	14,5 g
Proteína de suero de leche	7,5 g	5 g
L-glutamina	6,8 g	4,5 g
L-arginina	7,5 g	5 g
Carbohidratos (40% de la energía)		
Jarabe de maíz	35,3 g	23,5 g
Lactosa	0,06 g	0,04 g
Lípidos (35% de la energía)	13,7 g	9,1 g
Triglicéridos de cadena media	6,8 g	4,6 g
Ácido linoleico	2,3 g	1,7 g
Ácido α -linolénico	420 mg	315 mg
Ácidos grasos	705 mg	470 mg
Relación n6/n3	3,50	
Minerales		
Sodio	0,18 g	0,12 g
Cloruro	173 mg	115 mg
Potasio	390 mg	260 mg
Calcio	225 mg	150 mg
Fósforo	180 mg	120 mg
Magnesio	36 mg	24 mg
Hierro	4,2 mg	2,8 mg
Cinc	3,3 mg	2,2 mg
Cobre	0,38 mg	0,26 mg
Yodo	45 μ g	30 μ g
Selenio	15 μ g	10 μ g
Manganeso	0,83 mg	0,55 mg
Cromo	24 μ g	15,5 μ g
Molibdeno	29 pg	19,5 pg
Vitaminas		
Vitamina C	42 mg	27,5 mg
Vitamina E mg α -ET (UI)	6,2 (9,3)	4,2 (6)
Vitamina A μ g ER (UI)	290 (970)	195 (650)
Vitamina D μ g (UI)	3,8 (150)	2,6 (100)
Vitamina K μ g	19	12,5
Tiamina mononitrato (vitamina B ₁) mg	0,55	0,37
Riboflavina (vitamina B ₂) mg	0,52	0,35
Piridoxina (vitamina B ₆) mg	0,9	0,6
Niacina mg (mg EN)	5,3 (9)	3,5 (6)
Ácido fólico μ g	110	75
Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) mg	1,1	0,75
Ácido pantoténico mg	1,9	1,3
Biotina mg	0,012	0,008

ES 2 556 765 T5

EJEMPLO 6

	75 g de polvo + 180 ml de agua = volumen final de 230 ml	50 g de polvo + 120 ml de agua = volumen final de 150 ml
Energía total	350 kcal	230 kcal
Proteínas totales (25% de la energía)	21,8 g	14,5 g
Proteína de suero de leche	7,5 g	5 g
L-glutamina	5,8 g	3,9 g
L-arginina	5,5 g	3,7 g
L-leucina	3,0 g	2,0 g
Carbohidratos (40% de la energía)		
Jarabe de maíz	35,3 g	23,5 g
Lactosa	0,06 g	0,04 g
Lípidos (35% de la energía)	13,7 g	9,1 g
Triglicéridos de cadena media	6,8 g	4,6 g
Ácido linoleico	2,3 g	1,7 g
Ácido α -linolénico	420 mg	315 mg
Ácidos grasos	705 mg	470 mg
Relación n6/n3	3,50	
Minerales		
Sodio	0,18 g	0,12 g
Cloruro	173 mg	115 mg
Potasio	390 mg	260 mg
Calcio	225 mg	150 mg
Fósforo	180 mg	120 mg
Magnesio	36 mg	24 mg
Hierro	4,2 mg	2,8 mg
Cinc	3,3 mg	2,2 mg
Cobre	0,38 mg	0,26 mg
Yodo	45 μ g	30 μ g
Selenio	15 μ g	10 μ g
Manganeso	0,83 mg	0,55 mg
Cromo	24 μ g	15,5 μ g
Molibdeno	29 pg	19,5 pg
Vitaminas		
Vitamina C	42 mg	27,5 mg
Vitamina E mg α -ET (UI)	6,2 (9,3)	4,2 (6)
Vitamina A μ g ER (UI)	290 (970)	195 (650)
Vitamina D μ g (UI)	3,8 (150)	2,6 (100)
Vitamina K μ g	19	12,5
Tiamina mononitrato (vitamina B ₁) mg	0,55	0,37
Riboflavina (vitamina B ₂) mg	0,52	0,35
Piridoxina (vitamina B ₆) mg	0,9	0,6
Niacina mg (mg EN)	5,3 (9)	3,5 (6)
Ácido fólico μ g	110	75
Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) mg	1,1	0,75
Ácido pantoténico mg	1,9	1,3
Biotina mg	0,012	0,008

ES 2 556 765 T5

EJEMPLO 7

	75 g de polvo + 180 ml de agua = volumen final de 230 ml	50 g de polvo + 120 ml de agua = volumen final de 150 ml
Energía total	350 kcal	230 kcal
Proteínas totales (25% de la energía)	21,8 g	14,5 g
Proteína de suero de leche	7,5 g	5 g
L-glutamina	5,8 g	3,9 g
L-arginina	5,5 g	3,7 g
L-leucina	3,0 g	2,0 g
Carbohidratos (40% de la energía)		
Jarabe de maíz	35,3 g	23,5 g
Lactosa	0,06 g	0,04 g
Lípidos (35% de la energía)	13,7 g	9,1 g
Triglicéridos de cadena media	6,8 g	4,6 g
Ácido linoleico	2,3 g	1,7 g
Ácido α -linolénico	420 mg	315 mg
Ácidos grasos	705 mg	470 mg
Relación n6/n3	3,50	
Minerales		
Sodio	0,18 g	0,12 g
Cloruro	173 mg	115 mg
Potasio	390 mg	260 mg
Calcio	225 mg	150 mg
Fósforo	180 mg	120 mg
Magnesio	36 mg	24 mg
Hierro	4,2 mg	2,8 mg
Cinc	3,3 mg	2,2 mg
Cobre	0,38 mg	0,26 mg
Yodo	45 μ g	30 μ g
Selenio	15 μ g	10 μ g
Manganeso	0,83 mg	0,55 mg
Cromo	24 μ g	15,5 μ g
Molibdeno	29 pg	19,5 pg
Vitaminas		
Vitamina C	42 mg	27,5 mg
Vitamina E mg α -ET (UI)	6,2 (9,3)	4,2 (6)
Vitamina A μ g ER (UI)	290 (970)	195 (650)
Vitamina D μ g (UI)	3,8 (150)	2,6 (100)
Vitamina K μ g	19	12,5
Tiamina mononitrato (vitamina B ₁) mg	0,55	0,37
Riboflavina (vitamina B ₂) mg	0,52	0,35
Piridoxina (vitamina B ₆) mg	0,9	0,6
Niacina mg (mg EN)	5,3 (9)	3,5 (6)
Ácido fólico μ g	110	75
Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) mg	1,1	0,75
Ácido pantoténico mg	1,9	1,3
Biotina mg	0,012	0,008
Probióticos		
Lactobacilos/bifidobacterias	10 ⁹ UFC	10 ⁹ UFC

ES 2 556 765 T5

EJEMPLO 8

	75 g de polvo + 180 ml de agua = volumen final de 230 ml	50 g de polvo + 120 ml de agua = volumen final de 150 ml
Energía total	350 kcal	230 kcal
Proteínas totales (25% de la energía)	21,8 g	14,5 g
Proteína de suero de leche	7,5 g	5 g
L-glutamina	5,8 g	3,9 g
L-arginina	5,5 g	3,7 g
L-leucina	3,0 g	2,0 g
Carbohidratos (40% de la energía)		
Jarabe de maíz	35,3 g	23,5 g
Lactosa	0,06 g	0,04 g
Lípidos (35% de la energía)	13,7 g	9,1 g
Triglicéridos de cadena media	6,8 g	4,6 g
Ácido linoleico	2,3 g	1,7 g
Ácido α -linolénico	420 mg	315 mg
Ácidos grasos	705 mg	470 mg
Relación n6/n3	3,50	
Minerales		
Sodio	0,18 g	0,12 g
Cloruro	173 mg	115 mg
Potasio	390 mg	260 mg
Calcio	225 mg	150 mg
Fósforo	180 mg	120 mg
Magnesio	36 mg	24 mg
Hierro	4,2 mg	2,8 mg
Cinc	3,3 mg	2,2 mg
Cobre	0,38 mg	0,26 mg
Yodo	45 μ g	30 μ g
Selenio	15 μ g	10 μ g
Manganeso	0,83 mg	0,55 mg
Cromo	24 μ g	15,5 μ g
Molibdeno	29 pg	19,5 pg
Vitaminas		
Vitamina C	42 mg	27,5 mg
Vitamina E mg α -ET (UI)	6,2 (9,3)	4,2 (6)
Vitamina A μ g ER (UI)	290 (970)	195 (650)
Vitamina D μ g (UI)	3,8 (150)	2,6 (100)
Vitamina K μ g	19	12,5
Tiamina mononitrato (vitamina B ₁) mg	0,55	0,37
Riboflavina (vitamina B ₂) mg	0,52	0,35
Piridoxina (vitamina B ₆) mg	0,9	0,6
Niacina mg (mg EN)	5,3 (9)	3,5 (6)
Ácido fólico μ g	110	75
Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) mg	1,1	0,75
Ácido pantoténico mg	1,9	1,3
Biotina mg	0,012	0,008
Probióticos		
Lactobacilos/bifidobacterias	10 ⁹ UFC	10 ⁹ UFC
Nucleótidos		
ARN/ADN	1,5 g	1,0 g

Ejemplos de pruebas clínicas de intervención nutricional para prevenir y/o moderar la parálisis de la médula ósea y en particular la neutropenia inducida por el tratamiento anticáncer.

5 La neutropenia febril y la infección es una complicación frecuente en pacientes tratados por tumores malignos. La prevención de la neutropenia, de la neutropenia febril y de las infecciones mejora la calidad de vida, el cumplimiento del protocolo de tratamiento, la respuesta tumoral al tratamiento, el periodo de tiempo de recurrencia sin tratamiento y de supervivencia global, con ausencia de otros efectos adversos. La aplicación de la dosis planeada en el tiempo previsto debe mejorar la respuesta tumoral al tratamiento y la supervivencia; en cambio no es deseable rebajar la dosis o prolongar el tiempo.

10 Efecto mielosupresor de los fármacos citotóxicos durante el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin.

15 Tratamiento con factores de crecimiento y prevención secundaria con asistencia inmunonutricional. Profilaxis secundaria.

Informe de caso clínico.

20 Un paciente de 26 años de edad es diagnosticado de enfermedad de Hodgkin (EH) en su variante de celularidad mixta tras dos meses de fiebre recurrente y pérdida de peso. Durante el primer examen clínico se descubren dos adenopatías cervicales y el diagnóstico histológico de las biopsias es la variante de celularidad mixta de la EH. Por examen de rayos X y escáner se observan múltiples adenopatías mediastínicas. Por imagen no se pudo detectar ninguna afectación subdiafragmática. El paciente se trata según un protocolo de quimioterapia estándar que incluye adriamicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina (ABVD). A los 15 días del inicio del tratamiento el paciente tenía fiebre, un recuento bajo de glóbulos blancos y una neutropenia importante (800 / μ l). El paciente se trató con una combinación de antibióticos y factor estimulante de colonias de granulocitos. 4 semanas más tarde el paciente fue a someterse al siguiente ciclo de quimioterapia y la fórmula leucocitaria estaba dentro de los límites normales, con 5500 granulocitos/ μ l. Una semana antes del tratamiento el paciente recibe un suplemento diario oral que contiene por litro: 12,5 g de arginina, 3,3 g de ácidos grasos n-3 y 1,2 g de ARN. Se recomienda al paciente que añada un litro del producto a su dieta normal.

30 El suplemento nutricional atenúa la neutropenia inducida por la quimioterapia y el paciente tiene menor o ninguna necesidad de ser tratado con factor estimulante de colonias de granulocitos. La misma intervención nutricional se repite antes de los siguientes ciclos de quimioterapia y solo se observan respuestas neutropénicas leves que no requieren tratamientos adicionales con factores de crecimiento o aplazar el tratamiento.

35 Efectos tóxicos en el sistema gastrointestinal y en la médula ósea de los fármacos citotóxicos contra los tumores sólidos. Prevención primaria con ayuda inmunonutricional. Estudios experimentales.

40 A unos ratones (20 por grupo) que tienen tumores DLD-1 de colon humano se les inyecta por vía intraperitoneal (la implantación es el día 1 en el gráfico del ensayo) 5-fluorouracilo (50 mg/kg) los días 17, 24 y 31 tras los implantes celulares. Al día 10 tras la implantación tumoral los animales empiezan a recibir una ayuda nutricional que consta de una dieta completa controlada y suplementada con arginina, ácidos grasos n-3 y nucleótidos. Un grupo de animales de control sometidos a un protocolo similar reciben una dieta completa controlada exenta de arginina libre, ácidos grasos n-3 ni nucleótidos. Se controló diariamente la supervivencia y el peso corporal. A los días 20 y 33 se extrajo sangre para realizar hemograma completo y recuento diferencial de glóbulos blancos. El peso del tumor se valoró el día 35, al final del ensayo.

45 La supervivencia de los animales es del 75% en el grupo tratado con la dieta de ensayo y del 66% en el grupo tratado con la dieta de control. Se interpreta que la muerte de los animales no es debida al crecimiento del tumor, sino a la toxicidad del fármaco. De hecho el peso del tumor no aumenta durante el estudio, sino que disminuye, y hay una tendencia a encontrar restos más pequeños de masas tumorales en los animales que consumen la dieta de ensayo suplementada con los inmunonutrientes (-25% frente a -18% respecto al peso del tumor justo antes de iniciar la quimioterapia). Las diferencias no alcanzan significación estadística.

50 Los componentes de la sangre periférica se miden el día 20 y 33. Al día 20 hay una caída del recuento de neutrófilos que llega al 50% de los valores promedio registrados el día 16 (un día antes del tratamiento antitumoral) en el grupo de control y al 28% en los animales que reciben la dieta de ensayo suplementada con los inmunonutrientes. Los cambios en el número de trombocitos no son diferentes entre los dos grupos y llegan al 20%.

55 La histopatología intestinal presenta cambios moderados en los animales en el momento del sacrificio, incluyendo acortamiento fusión de vellosidades, menor actividad mitótica en las criptas y mayor infiltración inflamatoria en la lámina propia. En el grupo que recibió la dieta de ensayo el daño intestinal fue más leve.

60 Efectos tóxicos en el sistema gastrointestinal y en la médula ósea de los fármacos citotóxicos contra el cáncer experimental de cabeza y cuello. Prevención primaria con ayuda inmunonutricional.

65 Se cogen ratones macho CB6F1-Tg rasH2@Jcl (Tg) de 8 semanas de edad y se mantienen en jaulas de plástico, todos ellos con acceso a una dieta básica en polvo de CRF (Charles River Formula)-1. En este estudio se usa un compuesto cancerígeno, 4-nitroquinolina 1-óxido, para provocar tumores en la lengua y en el esófago. El 100% de los ratones desarrolló tumores (incluso varios) en la lengua y el 60% desarrolló tumores en el esófago.

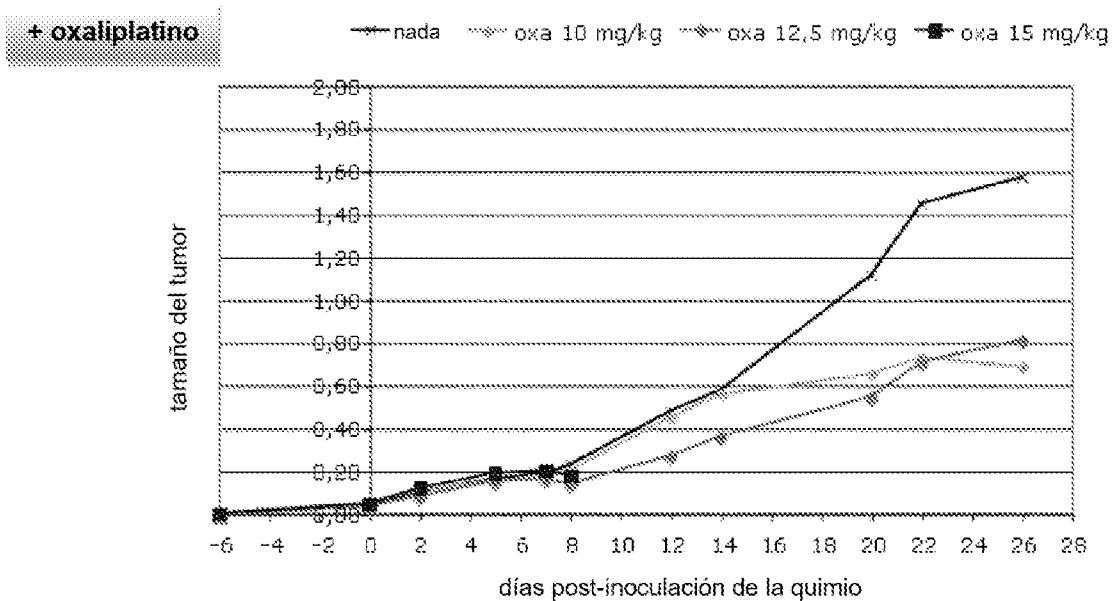
En las zonas que no muestran macroscópicamente lesiones tumorales se observan varias lesiones displásicas. Los animales con tumores en la lengua y en el esófago se retienen para el resto del ensayo.

Empiezan el tratamiento con una combinación de cisplatino, paclitaxel y doxorubicina. Los animales se dividieron aleatoriamente en dos grupos 7 días antes del primer ciclo de tratamiento quimioterapéutico: uno que recibe una dieta suplementada con arginina, ácidos grasos n-3 y nucleótidos, mientras que un grupo de control es alimentado con una dieta isocalórica e isonitrogenada exenta de arginina libre, ácidos grasos n-3 y nucleótidos. Se realizaron 3 ciclos separados 2 semanas entre cada uno. Las suplementaciones nutricionales prosiguen a lo largo del estudio hasta el día 55 en que los animales son sacrificados. Se estudiaron las células de la sangre periférica 10 días después del primer y segundo ciclo y antes del sacrificio. Los recuentos de neutrófilos dan el 43% de los valores promedio registrados el día antes de empezar la quimioterapia en el grupo de control y el 70% en los animales que reciben la dieta de ensayo suplementada con los inmunonutrientes. No se observan diferencias de regresión tumoral entre los dos grupos dietéticos. En ambos se mide una reducción de masa tumoral. El estudio histológico de las lesiones tumorales restantes y de las lesiones displásicas muestra una actividad mitótica similar de las células que pasan por el ciclo celular (índice de marcaje con PCNA).

Tratamiento de los efectos tóxicos causados tanto por la terapia del cáncer como por el tumor en la médula ósea y en los compartimentos inmunitarios

El mantenimiento de la inmunocompetencia durante el tratamiento del cáncer aumenta la capacidad corporal para identificar y destruir células cancerosas en el cuerpo. Como resultado, cualquier ataque a los compartimentos que intervienen en la maduración o en el mantenimiento del sistema inmunitario aumenta el peligro de progresión del cáncer. El tratamiento con productos químicos o radiología está diseñado para destruir células cancerosas y alguno de ellos es muy efectivo para reducir la velocidad de crecimiento de los tumores (figura 8).

Figura 8. Efecto antitumoral del oxaliplatino en un modelo murino implantado con tumor



La desaceleración del crecimiento del tumor, o incluso la reducción de su tamaño, mediante el empleo agresivo de quimio- y/o radioterapias es parte de la estrategia neoadyuvante previa a la intervención quirúrgica. Sin embargo las terapias anticáncer afectan de modo igualmente negativo a otras células de división rápida que produce por ejemplo la médula ósea y que sirven para destruir células cancerosas.

Como la médula ósea es el lugar donde se forman las células sanguíneas, la toxicidad (por cualquier razón) causa una deficiencia de glóbulos. Un resultado de este efecto tóxico en la médula ósea puede ser una infección que amenace la vida, porque el cuerpo no pueda producir leucocitos como respuesta a las bacterias y virus invasores. Además la toxicidad produce anemia por el bajo número de glóbulos rojos e incluso hemorragias graves causadas por una carencia de plaquetas.

Tal como se ha descrito anteriormente, las células cancerosas dañadas por el tratamiento neoadyuvante pueden expresar componentes reconocidos por el sistema inmunitario, pero el cuerpo solo puede organizar una defensa cuando el sistema inmunitario no está tan seriamente menguado por la propia terapia anticáncer. Por consiguiente hay que mantener la inmunocompetencia, reduciendo la toxicidad sobre la médula ósea, para aumentar la eficacia del tratamiento. El "intervalo de oportunidad" para que el sistema inmunitario recupere el control de las células

transformadas y suprime las células tumorales restantes se presenta en los días siguientes a la quimioterapia. Para aprovechar este periodo de mayor expresión antigénica o inmunogénica, la presente invención describe métodos (nutricionales y otros) que pueden potenciar la respuesta inmunológica innata y la respuesta inmunológica anti-tumoral. El uso selectivo de la nutrición (pero también de compuestos farmacéuticos) para acondicionar el sistema inmunitario antes, durante y después de los ciclos de tratamiento quimio- y radioterapéutico puede corregir los efectos de la toxicidad inmunitaria aguda inducida por estas terapias del cáncer.

Nuestros datos demuestran que la terapia del cáncer crea un ataque inicial a la médula ósea y por lo tanto también a la producción de células sanguíneas e inmunitarias. Este ataque o efecto tóxico de la terapia del cáncer empieza inmediatamente después de la administración de un agente quimioterapéutico y se prolonga durante varios días. Nuestros datos demuestran que el propio tumor también suprime la actividad de la médula ósea, como evidencian los bajos recuentos de células sanguíneas. Las figuras 9 y 10 demuestran que la toxicidad tiene un rápido arranque y luego disminuye de manera continua durante una semana aproximadamente. Sin embargo una semana después de la administración de la terapia del cáncer el cuerpo empieza a recuperarse, tal como demuestran las mejoras en las mediciones de células sanguíneas. En este momento el tumor ya no crece, pero aún es viable. Tiene lugar la segunda fase de la toxicidad originada por el tumor en la médula ósea y de nuevo se observa un descenso en las mediciones de células sanguíneas.

Figura 9. Efecto de la doxorubicina sobre los productos de la médula ósea en animales implantados con tumor y en los controles

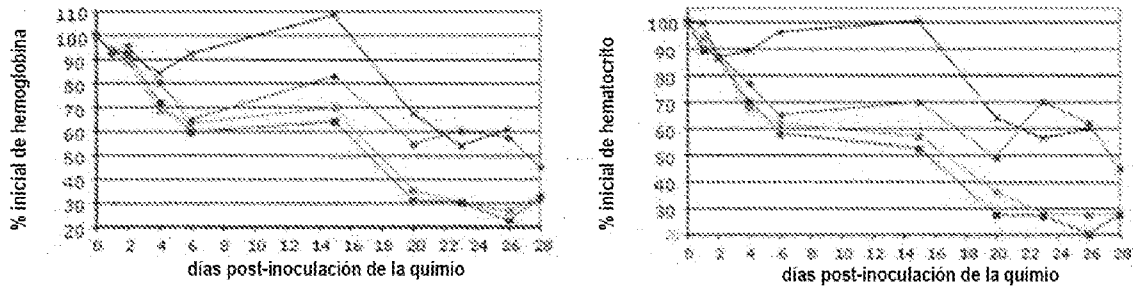
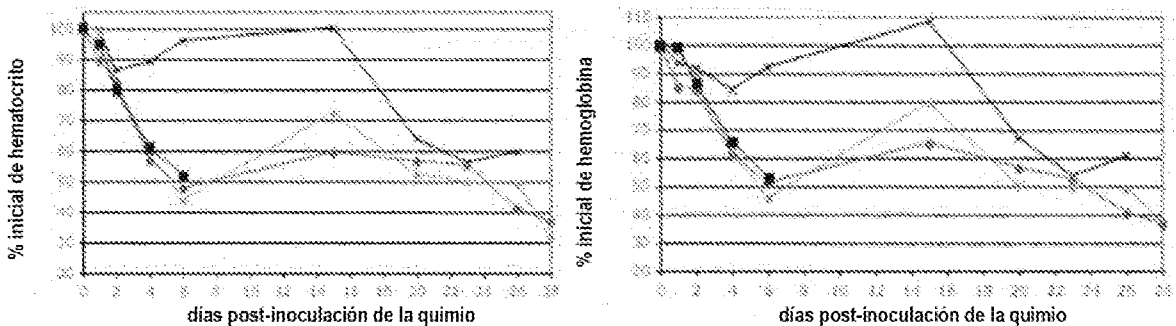


Figura 10. Efecto del oxaliplatino sobre los productos de la médula ósea en animales implantados con tumor y en los controles



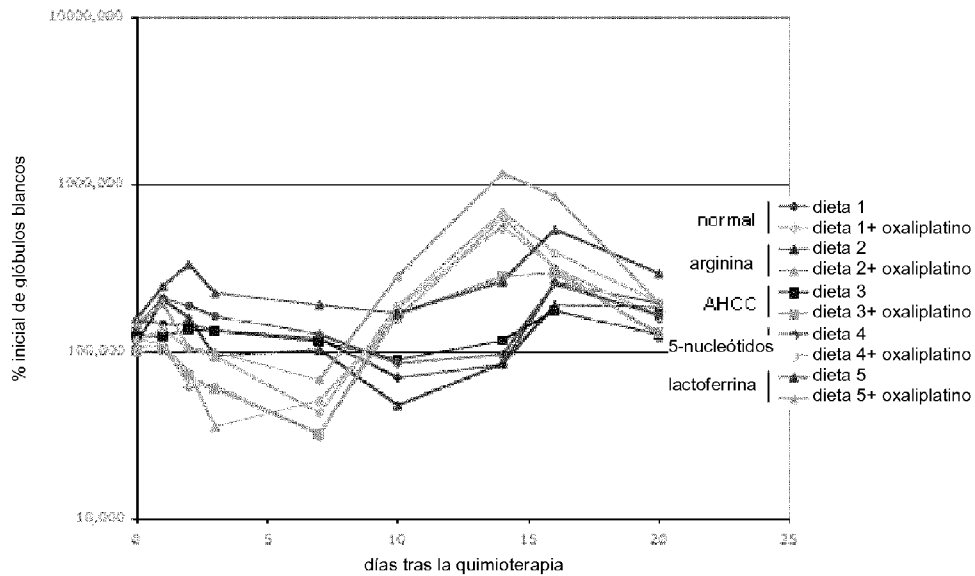
La terapia tradicional del cáncer incluye varias administraciones de quimio-, radio- y/o inmunoterapia. La estrategia neoadyuvante sirve para aplicar menores dosis de quimio- o radioterapia en un intento de reducir la velocidad de crecimiento o el tamaño del tumor antes de la intervención principal (p.ej. cirugía o regímenes de quimioterapia más agresivos). Sin embargo los oncólogos retrasarán estas intervenciones principales cuando los recuentos de células sanguíneas del paciente (p.ej. hematocrito, plaquetas, células inmunitarias) sean demasiado bajos, lo cual pondría al sujeto en mayor riesgo de sufrir infecciones, hemorragias e incluso dificultades respiratorias. Las nuevas estrategias de intervención aquí descritas buscan y abordan una solución a estos problemas.

Nuestros datos ilustran la toxicidad en dos fases. Primero, la toxicidad causada por la terapia del cáncer. Segundo, la toxicidad inducida por el propio tumor. Por lo tanto se propone un método de dos fases para tratar y/o prevenir la toxicidad en la médula ósea causada por la terapia del cáncer y el tumor.

Es de esperar que las intervenciones nutricionales que incluyen combinaciones de compuestos con actividad estimulante de las células inmunitarias beneficien al sujeto 1) evitando el efecto tóxico grave sobre la médula ósea en la primera fase y 2) aumentando la respuesta inmunológica durante la fase tóxica inducida por el tumor.

Ejemplo: de acuerdo con nuestros datos y en consonancia con la hipótesis anteriormente descrita, la administración de lactoferrina (compuesto 5) dio como resultado una menor toxicidad en el grupo tratado con quimioterapia (figura 11), en comparación con el control.

5 Figura 11. Efecto de la intervención inmunonutricional en las células inmunitarias de animales con carga tumoral sometidos o no a quimioterapia.



10 El grupo tratado con lactoferrina experimentó un incremento de su población de células inmunitarias durante la segunda fase. Además hubo un aumento de concentración de células inmunitarias descrito para ambas dietas de nucleótidos (dieta 4) y también para la arginina (dieta 2) durante la segunda fase. Por consiguiente se cree que la administración oral de una combinación que incluya estos compuestos reducirá la supresión en la médula ósea asociada a ambas fases de la toxicidad en dos fases. La evidencia apoya nuestra hipótesis de que la administración de compuestos nutricionales específicos puede reducir la toxicidad sobre la médula ósea y por lo tanto mejorar el cumplimiento del protocolo de tratamiento por parte del paciente, así como su calidad de vida, y disminuir el riesgo de comorbilidad.

20 Terapia neoadyuvante

Los siguientes ejemplos de la presente invención están basados en el empleo de soporte nutricional a la terapia del cáncer, que puede incluir sin limitación una *terapia neoadyuvante del cáncer*. La terapia neoadyuvante es un método emergente de tratar cánceres digestivos tales como los tumores de esófago y de recto, así como los cánceres de cabeza y cuello, y otros cánceres. La terapia neoadyuvante es un tratamiento previo con radioterapia, quimioterapia, terapia hormonal o combinaciones de ellas, antes de la terapia principal, que consiste en cirugía o en quimio- o radioterapia más agresiva. La idea de dicho tratamiento previo al tratamiento principal es mejorar las posibilidades terapéuticas. Los beneficios que ofrece la terapia neoadyuvante del cáncer, así como el soporte nutricional incluyen sin limitarse a ellos: menor tamaño tumoral, mejor posibilidad de resección total del tumor (intervención quirúrgica), disminución del riesgo de siembra del tumor durante la operación, prevención de recurrencias locales o sistémicas y mejor resultado global del paciente. Asimismo se cree que este método disminuirá las toxicidades agudas y crónicas de los tratamientos, la morbilidad operatoria y perioperatoria, y mejorará la calidad de vida del paciente.

REIVINDICACIONES

1. Composición inmunonutricional que comprende:
al menos un agente reforzante de la inmunidad y un soporte farmacéuticamente aceptable, donde dicho agente reforzante de la inmunidad incluye arginina, para reducir transitoriamente el efecto tóxico en la médula ósea provocado por el tratamiento anticáncer, en donde el efecto tóxico en la médula ósea es la parálisis de la médula ósea, de manera que dicha composición inmunonutricional se usa como parte de un tratamiento neoadyuvante y se administra por vía enteral.
- 5
- 10 2. Composición inmunonutricional para utilizar según la reivindicación 1, que consiste en una alimentación para sonda, un gel o una nutrición completa.

FIGURA 1

