

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 523**

51 Int. Cl.:

A61K 35/26 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2008 E 08016054 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **17.03.2010 EP 2163251**

54 Título: **Tratamiento de ascitis con extractos de timo**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.02.2013

73 Titular/es:

**LOHR, KATRIN (100.0%)
GOEBENSTRASSE 5
50672 KOLN, DE**

72 Inventor/es:

GÜNTHER LÖHR

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 394 523 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de ascitis con extractos de timo

5 La presente invención se refiere a un nuevo uso de extractos de timo, métodos correspondientes y los extractos para uso en dicho nuevo uso.

10 Los extractos de timo, tales como timoestimulina (vendida con la marca registrada THYMOPHYSIN® por CytoChemia AG, Ihringen, Alemania) o TP-1 (Serono, véase por ejemplo la patente alemana DE 34 30 375), se sabe que son útiles por ejemplo como complementos nutricionales parenterales, por ejemplo en caso de caquexia, desnutrición y anorexia tumoral, así como para uso como inmunoestimulantes, por ejemplo en el tratamiento de debilidad del sistema inmunitario, por ejemplo como consecuencia de enfermedades infecciosas, tales como la infección por VIH (por ejemplo en el tratamiento del SIDA).

15 El carcinoma hepatocelular (HCC, por sus siglas en inglés) es una enfermedad que en la actualidad figura quinta entre los tumores malignos más comunes en el mundo con una frecuencia creciente en los países¹ del primer mundo. Aunque las opciones de tratamiento han llegado a ser más diversas en los últimos años, faltan mejoras en las tasas de supervivencia muy por detrás de las conseguidas en otras entidades tumorales. Hay pacientes beneficiándose de la mayoría de las modalidades más recientes susceptibles de tratamiento local, es decir con fases intermedias de la enfermedad, pequeños tumores y función hepática preservada. En contraste, los pacientes con HCC avanzado y metastásico o tumores recurrentes después de tratamiento de primera línea quedan sin tratamiento estándar demostrado dando como resultado una esperanza de vida menor que 10% a 3 años. Las soluciones más sistémicas han proporcionado resultados decepcionantes a pesar de los efectos secundarios principales.

20 En un intento para encontrar más medios útiles contra esta enfermedad, se ha considerado la inmunoestimulación como una posible opción que se debe escrutinizar. En ensayos clínicos de Fase II, se pudo encontrar algún efecto beneficioso usando timoestimulina como principio activo (véase Dollinger M. M. et al., BMC Cancer, 8: 72, 2.008, doi: 10.1186/1471-2407-8-72, publicado el 13 de marzo de 2.008).

30 La ascitis se conoce como fluido de la cavidad peritoneal, exceso de fluido peritoneal, hidroperitoneo o antiguamente como hidropesía abdominal. Está caracterizado por una acumulación de fluido en la cavidad peritoneal. Aunque lo más comúnmente debido a cirrosis y enfermedad hepática grave, su presencia también puede ser debida a algún otro trastorno médico significativo. El tratamiento hasta ahora se hace con medicación (diuréticos), por paracentesis o por otros tratamientos dirigidos a la causa.

35 Sería útil encontrar principios activos que permitan el tratamiento de la ascitis causada por muchas de las enfermedades o trastornos mencionados u otros o sin etiología conocida.

40 Ahora se ha encontrado sorprendentemente que en un estudio clínico en Fase III en el tratamiento de HCC se podía encontrar un efecto beneficioso de los extractos de timo sobre la ascitis, un síntoma o afección que también acompaña al HCC, con independencia de si se podía encontrar o no un efecto sobre el propio HCC.

45 La invención se refiere así, en una primera realización, a un extracto de timo de mamífero para uso en el tratamiento de ascitis, con independencia de la causa de dicha ascitis, preferiblemente se encontró en paralelo a HCC.

En una segunda realización, la invención se refiere al extracto para uso mencionado en el último párrafo en el que el extracto de timo también presenta actividad inmunopotenciadora.

50 En una tercera realización, la invención se refiere al extracto para uso según los dos párrafos precedentes, en el que el extracto de timo es un extracto de timo bovino.

En una cuarta realización, la invención se refiere al extracto para uso según uno cualquiera de los tres párrafos precedentes donde el extracto de timo es un extracto de péptidos de timo bovino.

55 En una quinta realización, la invención se refiere al extracto para uso según uno cualquiera de los cuatro párrafos precedentes, en el que el extracto de timo está caracterizado por constar sustancialmente de moléculas con un peso molecular entre 500 y 20.000 Dalton, más preferiblemente entre 1.000 y 10.000 Dalton.

60 "Sustancialmente" significa que al menos 60, preferiblemente al menos 70, más preferiblemente al menos 80, más preferiblemente al menos 90, más preferiblemente al menos 95% de las moléculas satisface la definición.

En una sexta realización, la invención se refiere al extracto para uso según uno cualquiera de los cinco párrafos precedentes en el tratamiento de ascitis como síntoma de carcinoma hepatocelular acompañante.

65 En una séptima realización, la invención se refiere al extracto para uso según uno cualquiera de los seis párrafos

precedentes, donde el extracto está caracterizado por dos bandas características principales en un gel de poliacrilamida a pH 8,6 con un R_f de aproximadamente 0,25 y 0,44, respectivamente. Este es especialmente el caso para TP-1 descrito en la patente alemana DE 34 30 375.

5 En una octava realización, la invención se refiere así al extracto para uso según uno cualquiera de los siete párrafos precedentes, donde el extracto es TP-1.

10 En una novena realización, la invención se refiere al extracto para uso según uno cualquiera de los siete párrafos que preceden al párrafo inmediatamente precedente, donde el extracto es una fracción de timo de bajo peso molecular de timo de ternera, preferiblemente timoestimulina.

En una décima realización, la invención se refiere al extracto para uso según uno cualquiera de los nueve párrafos precedentes, donde el extracto está en forma de una preparación farmacéutica para uso parenteral.

15 En una décimo primera realización, la invención se refiere a una formulación farmacéutica para uso según uno cualquiera de los diez párrafos precedentes, caracterizado porque comprende un extracto para uso según uno cualquiera de los diez párrafos precedentes y un material portador farmacéuticamente aceptable.

20 En una décimo segunda realización, la invención se refiere al uso de un extracto de timo de mamífero para la preparación de una preparación farmacéutica útil en el tratamiento de ascitis.

En una décimo tercera realización, la invención se refiere al uso según el párrafo precedente, donde el extracto es un extracto según una cualquiera de la segunda a la décimo realización mencionada anteriormente.

25 Se prefiere que el extracto de timo comprenda una proteína o especialmente una o más fracciones de péptidos de menor peso molecular obtenidas de timo de mamífero, especialmente timo bovino, lo más especialmente timo de ternera.

30 Se conocen en la técnica métodos correspondientes para su aislamiento, por ejemplo como se describe en la patente alemana DE 34 30 375 y las referencias citadas en la misma.

En una realización preferida, el extracto de timo se prepara como sigue:

35 La timoestimulina es un fármaco inmunomodulador preparado a partir de un extracto de péptidos de glándulas de timo bovino (Thymophysin CytoChemia® 25/50). Después de la eliminación de componentes celulares moleculares superiores y proteínas, se aíslan péptidos de timo activos moleculares inferiores y se estandarizan para una fracción proteínica definida.

40 En breve detalle, el extracto se puede preparar como sigue:

45 En una primera etapa, se extrae timo de ternera homogeneizado con una disolución de acetato de amonio. Se precipita el sobrenadante resultante dos veces con sulfato de amonio. Después de eso, sigue diálisis para desalar retirando moléculas con peso molecular menor que 1.000 Dalton. Esto va seguido por ultrafiltración de la disolución que resulta para proporcionar una disolución de componentes con 10.000 Dalton o menos. Esta disolución que resulta se liofiliza después para proporcionar el principio activo final.

50 La administración de un extracto de timo según la invención tiene lugar preferiblemente por vía entérica, por ejemplo por vía oral, por vía rectal o por vía nasal, pero más preferiblemente por vía parenteral, por ejemplo por infusión o ventajosamente simplemente por inyección, por ejemplo inyección s. c., i. m., o i. p.

55 Los términos generales usados anteriormente y de ahora en adelante tienen preferiblemente dentro del contexto de esta descripción los siguientes significados, a menos que se indique de otro modo, en el caso de que se usen en cualquier parte más términos generales, se pueden reemplazar, independientemente entre sí, por definiciones más específicas o quedar, definiendo así realizaciones más preferidas de la invención:

El individuo que se tiene que tratar según las realizaciones de la invención es preferiblemente un ser humano, lo más preferiblemente un ser humano con necesidad de dicho tratamiento, por ejemplo que padece ascitis.

60 El término "tratamiento", donde quiera que se mencione, comprende el tratamiento curativo o paliativo, así como tratamiento profiláctico en pacientes en el caso de que se tenga que esperar ascitis. Especialmente significa un tratamiento al menos que mitiga temporalmente la ascitis o que previene o que retrasa su comienzo.

"Útil en el tratamiento" significa especialmente profilácticamente o terapéuticamente eficaz, especialmente como se define en el párrafo precedente.

65

- 5 La dosis del ingrediente activo (extracto de timo) depende de una variedad de factores incluyendo tipo, especies, edad, peso, sexo y enfermedad del paciente; la gravedad de la afección que se tiene que tratar; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente y el compuesto particular empleado. Un médico, médico clínico o veterinario experto puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz del fármaco requerido para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección. La precisión óptima para conseguir la concentración de fármaco dentro del intervalo que proporciona eficacia requiere un tratamiento basado en la cinética de la disponibilidad del fármaco para los sitios diana. Esto implica una consideración de la distribución, el equilibrio y la eliminación de un fármaco.
- 10 La dosis del ingrediente activo que se tiene que administrar a animales de sangre caliente, por ejemplo seres humanos de aproximadamente 70 kg de peso corporal, es preferiblemente de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg, más preferiblemente de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 150 mg por persona al día, en una dosis o dividido en más dosis, por ejemplo hasta tres dosis al día. Preferiblemente, el tratamiento se repite a diario, pero también se puede repetir los días 3 a 6, tal como 5, días a la semana. Se prefiere dosificación en forma de composiciones parenterales.
- 15 La formulación farmacéutica según la invención puede comprender el principio activo junto con uno o más materiales portadores farmacéuticamente aceptables (= excipientes).
- 20 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden estar, por ejemplo, en forma de dosis unitaria, tal como en forma de ampollas, viales o grageas, comprimidos o cápsulas además.
- 25 Preferiblemente, la formulación es una formulación parenteral en forma seca (después para mezclar con una disolución apropiada, tal como disolución salina fisiológica, antes de uso) o en forma líquida (disolución). Lo más preferido es una disolución de inyección.
- 30 Las disoluciones del ingrediente activo y también suspensiones y especialmente disoluciones o suspensiones acuosas isotónicas, son útiles para administración parenteral del ingrediente activo, siendo posible, por ejemplo en el caso de composiciones liofilizadas que comprenden el ingrediente activo solo o junto con un portador farmacéuticamente aceptable, por ejemplo cloruro de sodio o manitol, para tales disoluciones o suspensiones que se produzcan previamente a su uso. Las composiciones farmacéuticas pueden ser esterilizadas y/o pueden comprender excipientes, por ejemplo conservantes, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o tampones y se preparan de una manera conocida per sé, por ejemplo por medio de procedimientos de disolución o liofilización convencionales. Las disoluciones o
- 35 suspensiones pueden comprender sustancias que aumentan la viscosidad, tales como carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa, dextrano, polivinilpirrolidona o gelatina.
- 40 Las suspensiones en aceite comprenden como componente oleoso los aceites vegetales, sintéticos o semisintéticos habituales para fines de inyección.
- 45 Las composiciones para inyección o infusión intravenosa (forma seca o disolución) se preparan de manera habitual en condiciones estériles; lo mismo se aplica también a la introducción de las composiciones en ampollas o viales y el sellado de los envases.
- 50 Una disolución para inyección o infusión intravenosa preferiblemente debe tener preferiblemente la misma o esencialmente la misma presión osmótica como fluido corporal. De acuerdo con esto, el medio acuoso contiene preferiblemente un agente isotónico que tiene el efecto de hacer la presión osmótica de la disolución para infusión intravenosa la misma o esencialmente la misma que la del fluido corporal.
- 55 El agente isotónico se puede seleccionar de cualquiera de los conocidos en la técnica, por ejemplo manitol, dextrosa, glucosa y cloruro de sodio. Preferiblemente el agente isotónico es glucosa o cloruro de sodio. Los agentes isotónicos se pueden usar en cantidades que impartan a la disolución para infusión intravenosa la misma o esencialmente la misma presión osmótica que la del fluido corporal. Las cantidades precisas necesarias se pueden determinar por experimentación de rutina y dependerán de la composición de la disolución para inyección o infusión intravenosa y la naturaleza del agente isotónico. La selección de un agente isotónico particular se puede hacer considerando las propiedades del agente activo.
- 60 La concentración de agente isotónico en el medio acuoso dependerá de la naturaleza del agente isotónico particular usado. Cuando el agente isotónico es cloruro de sodio se emplea preferiblemente en cantidades de hasta 1% p/v, en particular hasta 0,9% p/v.
- 65 La formulación se puede diluir con el medio acuoso. La cantidad de medio acuoso empleado como diluyente se elige según la concentración deseada de ingrediente activo en la disolución para inyección o infusión intravenosa. Preferiblemente la disolución para infusión intravenosa o especialmente inyección se hace mezclando un vial o ampolla de producto de concentración seco con un medio acuoso, haciendo el volumen hasta entre 1 ml y 200 ml,

preferiblemente entre aproximadamente 1 ml y aproximadamente 5 ml, con el medio acuoso.

Las disoluciones para inyección o infusión intravenosa pueden contener otros excipientes comúnmente empleados en formulaciones que se tienen que administrar por vía intravenosa o por inyección. Los excipientes incluyen antioxidantes. Se pueden preparar disoluciones para inyección o infusión intravenosa mezclando una ampolla o vial de la formulación con el medio acuoso, por ejemplo una disolución de cloruro de sodio al 0,9% en un envase adecuado, por ejemplo una bolsa o frasco de infusión intravenosa o preferiblemente una ampolla. La disolución para inyección o infusión intravenosa, una vez formada, se usa preferiblemente inmediatamente o dentro de un tiempo corto de haberse formado, por ejemplo en 6 horas. Los envases para soportar las disoluciones para inyección o infusión intravenosa se pueden elegir de cualquier envase convencional que no sea reactivo con la disolución para inyección o infusión intravenosa. Son adecuados envases de vidrio aunque puede ser preferido usar envases de plástico, por ejemplo bolsas de plástico para infusión intravenosa o ampollas.

Se pueden obtener composiciones farmacéuticas para administración entérica, por ejemplo oral o nasal o por vía inhaladora, combinando el ingrediente activo con portadores sólidos, si se desea granular una mezcla resultante y elaborando la mezcla, si se desea o necesariamente, después de la adición de excipientes apropiados, a comprimidos, núcleos de gragea o cápsulas o llenar un inhalador de polvo para administración por inhalación. También es posible incorporarlos en portadores de plástico que permitan que los ingredientes activos se difundan o se liberen en cantidades medidas.

El siguiente Ejemplo, al tiempo que muestra la eficacia de extractos de timo de una manera ilustrativa, no está limitando el alcance de la presente invención.

Ejemplo: Estudio de la Fase III

Se diseñó un estudio como prueba de la fase III multicentro, de doble ciego, controlada, aleatorizada, posible, comparando el tratamiento de HCC con timoestimulina a placebo. Se reclutaron pacientes en 12 centros en Alemania (véase Acknowledgements). El punto final primario del estudio fue supervivencia a los 6 y 12 meses, los puntos finales secundarios la supervivencia total, respuesta tumoral y supervivencia sin progresión según el criterio¹ WHO estándar, toxicidad según el criterio² ECOG y calidad de vida evaluada por medio del cuestionario³ FACT-Hep. Se calculó un tamaño de muestra de 110 pacientes necesariamente para detectar una mejora del 20% en un año de supervivencia en un ensayo de dos colas con un nivel de significación de 5% y una potencia de 90%. Permitiendo un índice de abandono de al menos 20%, se planeó reclutar a 135 pacientes en 24 meses. Después de inclusión del último paciente, se programó un periodo de seguimiento de 12 meses.

Usando aleatorización externa se asignaron covariables adaptadas a cada centro y se realizaron de manera central vía fax, a los pacientes se les asignó 75 mg de timoestimulina por vía subcutánea durante 5 días a la semana según las especificaciones del fabricante o placebo durante un año además del tratamiento paliativo como se requiera. Se codificó la medicación en estudio (verum y placebo) y se marcó para garantía cegar con las primeras cinco inyecciones realizadas por un doctor en medicina. Se administraron más inyecciones por los propios pacientes o trabajadores de asistencia médica domiciliaria y se registraron en un tratamiento diario. Se implantaron procedimientos de responsabilidad de fármacos, indicando los efectos adversos (serios) y verificación de datos de la fuente, como parte del seguimiento de la prueba según procedimientos de operación estándar conducidos por monitores externos. El tratamiento con la medicación en estudio se continuó durante un año o hasta que se satisfizo uno de los siguientes criterios: progreso de la enfermedad, descompensación de función hepática (bilirrubina > 5 mg/dl, INR \geq 2,3) o estado de la realización (puntuación Karnofsky < 50%), toxicidad inaceptable, rechazo o incumplimiento del paciente.

La evaluación del pre-tratamiento y seguimiento incluyó un historial médico completo, examen físico, hemograma y química así como estado de realización. Se registraron como valores de referencia factores de riesgo y la extensión de la enfermedad hepática según estado Child-Pugh, así como modalidades previas de tratamiento. Se evaluaron tumores por ultrasonidos abdominal, rayos X del pecho y tomografía computerizada dinámica (TC) o formación de imágenes por resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés) con otras técnicas de imagen tales como barridos con radionúclidos empleados si se indica de manera clínica. Se usaron las clasificaciones de Okuda, CLIP y BCLC para preparación. Se realizaron investigaciones de seguimiento sin técnicas de imagen cada 6 semanas incluyendo datos de supervivencia así como documentación de tratamientos concomitantes y toxicidad de la medicación. La respuesta del tumor usando barrido por TC o MRI evaluada según los criterios WHO y la calidad de vida evaluada por medio del cuestionario³ FACT-Hep se midieron cada 3 meses. Este tipo de seguimiento se programó durante al menos un año después de la inscripción, seguido por valoraciones cada tres meses en pacientes supervivientes.

Los análisis estadísticos tenían como intención el tratamiento. Se hicieron comparaciones de variables continuas por el método de la suma de rangos de Wilcoxon y para variables categóricas por el ensayo exacto de Fisher, en el caso de casos adversos por la prueba de Chi-cuadrada. Se calcularon el tiempo de supervivencia y la supervivencia sin progreso desde el principio del tratamiento a la fecha de la muerte o la fecha de progreso/muerte sin progreso,

respectivamente. Se establecieron curvas de supervivencia con el método de Kaplan-Meier. Se usó un análisis de supervivencia de regresión de Cox hacia delante paso a paso para evaluar los indicadores de los valores de referencia y el efecto del tratamiento simultáneamente. Las siguientes variables se eligieron para el análisis univariante: edad, género y puntuación de Karnofsky; la presencia de cirrosis hepática y la clasificación de Child; la clasificación de Okuda, CLIP y BCLC; nivel de AFP, manifestación multifocal de tumores, ascitis, invasión vascular y metástasis extrahepática; tratamiento con timoestimulina o placebo y tratamiento con otras modalidades de tratamiento antes de entrar en estudio. Se introdujeron variables significativas en el análisis univariante en el análisis multivariante. Se hicieron cálculos con el paquete SPSS (versión 15.0).

10 Resultados:

Pacientes

15 Se inscribieron un total de 135 pacientes entre octubre de 2.002 y marzo de 2.005 y se asignaron de manera aleatoria tratamiento con timoestimulina (n=67) o placebo (n=68). Se representan datos demográficos detallados y características relacionadas con tumores en la Tabla 1. La mayoría de los pacientes tenía cirrosis hepática y la mayoría de los tumores se escalonaron como HCC avanzado (fase II de Okuda; 2-3 puntos de CLIP; fase C de BCLC) con crecimiento de tumores multinodular, invasión vascular y propagación extrahepática. Menos de un tercio de los pacientes se había tratado previamente a la inscripción con resección quirúrgica (resección R1 ó R2), PEI (rango 1-5 sesiones), TACE (rango 1-7 sesiones) o tratamiento sistémico de hormonas y/o quimioterapia (somatoestatina en 7/14 casos; tratamiento único o combinado con tamoxifeno, doxorubicina o derivados de platino), pero experimentaron progreso del tumor. No se detectó disparidad significativa en las características de los valores de referencia entre los dos grupos indicando un procedimiento de aleatorización exitoso. Después de aleatorización, 6 pacientes en el grupo de la timoestimulina y 1 paciente en el grupo de placebo no recibieron el tratamiento asignado. Sus datos fueron censurados en el momento de la suspensión del seguimiento y se incluyó en el análisis de intención de tratamiento. Un análisis de subgrupo excluyendo a estos pacientes no reveló un resultado diferente (datos no mostrados). Los demás pacientes recibieron el tratamiento como se programó, en la mayoría de los casos hasta progreso de la enfermedad o deterioro de la función hepática o el estado de realización. Un paciente en cada grupo recibió tratamiento de rescate después de progreso del tumor, en el grupo de placebo TACE, en el grupo de timoestimulina tamoxifeno. También se diagnosticaron tumores secundarios que requerían tratamiento alternativo, uno en cada grupo; en el grupo de la timoestimulina, el tratamiento del paciente tuvo que detenerse temprano debido a un cáncer hipofaríngeo, en el grupo del placebo se detectó el cáncer urotelial secundario después de 12 meses de tratamiento del paciente. Sólo 12 pacientes (timoestimulina, n=7 [10%]; placebo, n=5 [7%]) recibieron la medicación del estudio durante un año completo. En el momento del análisis, todos los pacientes habían dejado su tratamiento asignado. El seguimiento valor mediano fue 5,2 meses (95% CI 4,0-7,3) en el grupo de la timoestimulina y 5,6 meses (95% CI 3,6-7,3) en el grupo del placebo, la duración valor mediano de tratamiento 3,3 meses (rango 0 a 12 meses) para los dos grupos.

Supervivencia y respuesta tumoral

40 Para el grupo de la timoestimulina, la probabilidad de supervivencia a los 6 y 12 meses fue 40% y 22%, respectivamente, con un tiempo de supervivencia valor mediano de 5,0 meses (95% CI 3,7-6,3). No hubo diferencia en supervivencia comparado con el grupo de placebo con una supervivencia de 6 y 12 meses de 38% y 21%, respectivamente, y un tiempo de supervivencia valor mediano de 5,2 meses (95% CI 3,5-6,9). Los indicadores de los valores de referencia y su efecto sobre la supervivencia en los dos grupos se valoraron usando un análisis uni- y multivariante. Así, el ajuste por edad, género, fase de enfermedad hepática (clasificación de Child), fase del tumor (clasificación Okuda, CLIP y BCLC), fenotipo invasivo tumoral (invasión vascular o metástasis) o tratamiento previo a la inscripción no afectó al resultado y la ausencia de una diferencia en supervivencia entre grupos. En contraste, las tres clasificaciones de fase tumoral demostraron su poder de pronóstico para HCC en el análisis univariante, aunque en los análisis multivariante la clasificación CLIP sola quedó relacionada de manera independiente con la supervivencia en nuestra población (Tabla 2). Los análisis de la respuesta tumoral objetivo (respuesta completa: desaparición de toda enfermedad demostrable; respuesta parcial: disminución $\geq 50\%$ del diámetro más largo de la lesión objetivo sin empeoramiento de todas las demás enfermedades, enfermedad estable: sin cambio significativo en la enfermedad [disminución $< 50\%$ o incremento $< 25\%$ sin nuevas lesiones]; enfermedad progresiva: incremento $\geq 25\%$ del diámetro más largo de la lesión objetivo o nuevas lesiones) no mostró respuesta completa en ninguno de los pacientes. 22 (33%) de cada 67 pacientes en el grupo de la timoestimulina consiguieron enfermedad estable o una respuesta parcial en los primeros 6 meses seguido por enfermedad progresiva después de eso. Sin embargo, hubo un índice de respuesta tumoral similar en el grupo del placebo en 20 (29%) de cada 68 pacientes y la supervivencia sin progreso no difirió entre grupos con un valor mediano de 5,3 meses (95% CI 2,0-8,6; timoestimulina) y 2,9 meses (95% CI 2,6-3,1; placebo), respectivamente.

Seguridad

65 La adhesión al tratamiento con el tratamiento asignado fue alta con un promedio de 94% y 92% de pacientes que recibieron todos 5 inyecciones a la semana en cada ciclo de 6 semanas en el grupo de la timoestimulina y el

- placebo, respectivamente (s. f.). Mientras que las reacciones cutáneas después de la inyección son los únicos efectos secundarios conocidos de la timoestimulina, se ha demostrado que reduce la toxicidad inducida por la quimioterapia, en particular mielosupresión y episodios⁴ infecciosos. En nuestro estudio, se indicaron 219 casos adversos - 95 en el grupo del placebo y 124 en el grupo de la timoestimulina (s. f.). Aunque no significativamente más común en ningún grupo, las reacciones cutáneas causaron el abandono temprano de la prueba de dos pacientes con timoestimulina y un paciente con placebo. Sólo un paciente más con placebo abandonó debido a casos adversos, es decir diarrea reproducible después de inyección. Se clasificaron 139/219 casos adversos como serios - 85 en el grupo del placebo y sólo 54 en el grupo de la timoestimulina.
- 5
- 10 La diferencia considerando los casos adversos serios estuvo causada por una incidencia significativamente menor de deterioro hepatorenal con ascitis e insuficiencia renal típicamente asociada con enfermedad hepática de fase terminal en pacientes tratados con timoestimulina (Tabla 3). En contraste, las complicaciones hematológicas o infecciosas fueron igualmente comunes en ambos grupos.
- 15 En resumen, el tratamiento de HCC en el presente diseño del estudio de la Fase III no fue significativamente exitoso. Como único agente, la timoestimulina no ha demostrado efecto citotóxico en pacientes con tumores avanzados grandes, que están mayoritariamente en necesidad de nuevas soluciones terapéuticas.
- 20 Sin embargo, se hizo una observación significativa que la timoestimulina permitía afectar de manera positiva a la ascitis en pacientes que padecen de HCC.
- 25 En contraste a la ausencia de influencia sobre el crecimiento de los tumores, se encontró así, un efecto beneficioso de la timoestimulina sobre la función hepatorenal de nuestros pacientes en estudio. Con sus excelentes registros de seguridad, sólo se pueden relacionar reacciones cutáneas después de inyección como efectos secundarios para compuestos^{5,6} que contienen timosina- α 1. Además, diversos estudios han explorado su potencial para prevenir efectos secundarios de otros agentes quimioterapéuticos, en particular mielosupresión y complicaciones^{4,7,8} infecciosas. Si bien la protección frente a la insuficiencia renal sólo se ha observado hasta la fecha en un modelo animal de uremia inducida de manera experimental usando la fracción 5 de timosina (TF5)⁹.
- 30 En pacientes con HCC avanzado, el deterioro de la función hepatorenal con ascitis creciente e insuficiencia renal es una complicación común de la enfermedad hepática de fase terminal. Es por lo tanto tentador especular que cualquier mejora de la supervivencia vista previamente en pacientes de HCC usando compuestos que contienen timoestimulina o timosina- α 1 es en parte causada por prevención de descompensación hepatorenal.
- 35 Tablas:

Tabla 1: Características de referencia de pacientes

Características de referencia	Placebo n=68	Timoestimulina n=67
Pacientes		
Hombre/mujer (%)	82/18	84/16
Edad valor mediano (años (rango))	63 (39-76)	63 (48-79)
Peso corporal valor mediano (kg (rango))	80 (39-108)	79 (58-112)
Puntuación de Karnofsky media (%) (rango)	87 (60-100)	89 (60-100)
Causa de enfermedad hepática (%)		
Abuso de alcohol	47	55
Causa de enfermedad hepática (%)		
HBV/HCV	21	18
Otra/desconocida	32	27
Fase de enfermedad hepática (%)		
Cirrosis hepática	90	85
Clasificación de Child : no cirrosis o A/B/C	63/28/9	65/32/3
Fase tumoral (%)		
Fase I/II/III de Okuda	32/56/12	35/54/11
Puntuación 0/1/2/3/4-CLIP	0/18/35/25/22	0/15/29/29/27
Fase A/B/C/D 6 BCLC	0/16/69/15	0/22/66/12

(continuación)

α-FP (%)		
< 400 ng/ml	57	57
> 400 ng/ml	43	43
Características tumorales (%)		
Ascitis	46	37
Trombosis de la vena porta	32	42
Manifestación tumoral multifocal	88	91
Metástasis extrahepática	40	45
Parámetros de laboratorio hepatorreñales		
Urea media (mg/dl [95% CI])	4,3 [2,8-5,8]	3,7 [2,8-4,5]
creatinina media (mg/dl [95% CI])	0,4 [0,3-0,6]	0,5 [0,4-0,6]
Sodio medio (mmol/l [95% CI])	137 [136-138]	137 [136-138]
albúmina media (g/l [95% CI])	27 [23-31]	29 [26-32]
Tratamiento previo (%) (combinación posible)	68 15	72 9
Ninguna cirugía	4	2
Inyección percutánea de etanol (PEI, por sus siglas en inglés)		
Quimioembolización transarterial	25	20
(TACE)	12	9
Tratamiento sistémico de hormonas y/o quimioterapia		
Nota: No hubo diferencias significativas entre los grupos		

5

Tabla 2: supervivencia a los 6 y 12 meses de todos los pacientes (n = 135) según su fase tumoral e importancia del pronóstico de cada clasificación

Clasificación tumoral	Nº de pacientes (%)	supervivencia a 6/12 meses (%)		análisis univariante	análisis multivariante
fase I de Okuda	34	56		p < 0,0001	p = 0,266
fase II de Okuda	55	31			
fase III de Okuda	11	37			
		21			
		7	0		
CLIP 0	/	/	/	p < 0,0001	p = 0,013
CLIP 1	17	68	46		
CLIP 2	32	51	35		
CLIP 3	27	33	11		
CLIP 4-6	24	13	0		
fase A BCLC	/	/	/	p < 0,0001	p = 0,133
fase B BCLC	19	68	48		
fase C BCLC	68	37	18		
fase D BCLC	13	17	6		

Tabla 3 (extracto): Comparación entre grupos de casos adversos (serios) (CA) graduados según criterio ECOG y que tienen lugar en más de 2% de todos los pacientes (n=135; nivel de significación $p < 0,05$).

Criterio de toxicidad ECOG	Placebo (n=68)				Timoestimulina (n=67)				Valor p		
	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grade 4	todo CA	Grado 3/4 CA	
Gastrointestinal/ Hepático											
Diarrea	1		2		2	2			0,6831	0,1573	
Hiperbilirrubinemia									0,5681	0,5681	
transaminasas elevadas		1	2	2		1	2	1	0,7128	0,6608	
Hemorragia GI			4	2			4	6	0,2728	0,2728	
Ascitis (sin insuficiencia renal)		1	14	3		2	6		0,0323	0,0132	
creatinina o urea Elevada Renal	5	2			1			1	0,0887	0,3119	
Proteinuria renal	2							2	0,1573	-	
Insuficiencia renal (con ascitis)			7	5					0,0052	0,0052	

Bibliografía citada:

- 5
- 1) Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1.981; 47: 207-214.
- 2) Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1.982; 5: 649-655.
- 10
- 3) Heffernan N, Cella D, Webster K, Odom L, Marone M, Passik S, Bookbinder M, Fong Y, Jarnagin W, Blumgart L. Measuring health-related quality of life in patients with hepatobiliary cancers: The Functional Assessment of Cancer Therapy - Hepatobiliary (FACT-Hep) questionnaire. *J Clin Oncol* 2.002; 20: 2.229-2.239.
- 15
- 4) Macchiarini P, Danesi R, Del Tacca M, Angeletti CA. Effects of thymostimulin on chemotherapy-induced toxicity and long-term survival in small cell lung cancer patients. *Anticancer Res* 1.989; 9: 193-6.
- 5) Rustigi VK. Thymalfasin for the Treatment of Chronic Hepatitis C Infection. *Ann NY Acad Sci* 2.007; 1.112: 357-367.
- 20
- 6) Garaci E, Favalli C, Pica F, Vallebona PS, Palamara AT, Matteucci C, Pierimarchi P, Serafino A, Mastino A, Bistoni F, Romani L, Rasi G. Thymosin Alpha 1: From Bench to Bedside. *Ann NY Acad Sci* 2.007; 1.112: 225-234.
- 25
- 7) Tortorella C, Ottolenghi A, Moretti AM, Jirillo E, Antonaci S. Thymostimulin administration modulates polymorph metabolic pathway in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1.992; 14: 421-437.
- 30
- 8) Romani L, Bistoni F, Montagnoli C, Gaziano R, Bozza S, Bonifazi P, Zelante T, Moretti S, Rasi G, Garaci E, Puccetti P. Thymosin α 1: An Endogenous Regulator of Inflammation, Immunity, and Tolerance. *Ann NY Acad Sci* 2.007; 1.112: 326-338.
- 9) Ikemoto S, Sugimura K, Kamizuru M, Wada S, Yasumoto R, Yamamoto K, Kishimoto T. Protective effect of thymosin fraction 5 in animals with experimentally induced uremia. *Clin Exp Nephrol* 2.000; 4: 215-219.

REIVINDICACIONES

1. Un extracto de timo de mamífero para uso en el tratamiento de ascitis.
- 5 2. El extracto para uso según la reivindicación 1, en el que el extracto de timo presenta actividad inmunopotenciadora.
3. El extracto para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el extracto de timo es un extracto de timo bovino.
- 10 4. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el extracto de timo es un extracto peptídico de timo bovino.
- 15 5. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el extracto de timo está **caracterizado por** un peso molecular sustancialmente entre 1.000 y 10.000 Dalton.
6. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el tratamiento de ascitis como síntoma que acompaña al carcinoma hepatocelular.
- 20 7. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el extracto está **caracterizado por** dos bandas características principales sobre un gel de poliacrilamida a pH 8,6 con un R_f de aproximadamente 0,25 y 0,44, respectivamente.
- 25 8. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el extracto es TP-1.
9. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el extracto es una fracción de timo de timo de ternera de bajo peso molecular, preferiblemente timoestimulina.
- 30 10. El extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el extracto está en forma de una preparación farmacéutica para uso parenteral.
- 35 11. Una formulación farmacéutica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizada** porque comprende un extracto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y un material portador farmacéuticamente aceptable.
12. El uso de un extracto de timo de mamífero para la preparación de una preparación farmacéutica para el tratamiento de la ascitis.
- 40 13. El uso según la reivindicación 12, donde el extracto es un extracto según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10.