

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 507 496**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2009 E 09830789 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.07.2014 EP 2349310**

54 Título: **Polipéptido para tratar o evitar adherencias**

30 Prioridad:

20.10.2008 US 106834 P

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

15.10.2014

73 Titular/es:

**MOERAE MATRIX, INC. (100.0%)
300 Kent Avenue
West Lafayette, IN 47909-1075, US**

72 Inventor/es:

PANITCH, ALYSSA

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 507 496 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

Polipéptido para tratar o evitar adherencias

5 **Declaración de la financiación gubernamental**

La presente invención se llevó a cabo con el apoyo gubernamental con el Número de Subvención NIH/NHLBI K25 HL074968 otorgada por el National Institute of Health. El gobierno tiene ciertos derechos sobre la invención.

10 **Campo de la invención**

La invención pertenece a los campos de biología celular y molecular, polipéptidos, y procedimientos terapéuticos de uso.

15 **Antecedentes de la invención**

1. Adherencias

20 Una adherencia es una banda de tejido scar, que une dos superficies anatómicas normalmente separadas una de otra, que se desarrolla tras cirugía, inflamación o lesión. Las adherencias pueden aparecer en forma de láminas finas de tejido o en forma de bandas fibrosas gruesas. Dependiendo de los tejidos implicados, las adherencias pueden provocar varios trastornos. En el ojo, por ejemplo, la adherencia del iris al cristalino puede producir glaucoma.

25 Las adherencias pueden aparecer en cualquier lugar. Las ubicaciones más comunes son dentro del abdomen, la pelvis y el corazón.

30 Las adherencias abdominales son una complicación común de la cirugía abdominal o pélvica, y también aparecen en sujetos que nunca han experimentado cirugía alguna. Las adherencias también pueden aparecer en sujetos que desarrollan peritonitis, una infección que se propaga al peritoneo, la membrana que cubre los órganos abdominales, que comúnmente aparece tras la apendicitis u otra infección abdominal. En los intestinos, las adherencias pueden provocar obstrucciones parciales o completas del intestino en adultos y se piensa que contribuyen al desarrollo de dolor pélvico crónico.

35 Normalmente, las adherencias abdominales comienzan a formarse en los primeros días después de la cirugía, pero pueden no generar síntomas durante meses o incluso años. Un tejido de cicatrización comienza a restringir el movimiento del intestino delgado, haciendo que el paso del alimento a través del sistema digestivo resulte progresivamente más difícil, pudiéndose producir el bloqueo del intestino. En los casos extremos, las adherencias pueden formar bandas alrededor de un segmento de intestino, que estrangulan el flujo sanguíneo y conducen a la muerte celular.

40 Las adherencias pélvicas pueden implicar cualquier órgano dentro de la pelvis, tal como útero, ovarios, trompas de Falopio o vejiga urinaria y normalmente aparecen después de la cirugía. La enfermedad inflamatoria pélvica (PID) es el resultado de una infección (normalmente una enfermedad de transmisión sexual) que frecuentemente conduce a adherencias dentro de las trompas de Falopio. Las adherencias de Falopio pueden conducir a infertilidad y una mayor incidencia de embarazo ectópico. La endometriosis, una afección inflamatoria que también puede afectar al abdomen e implicar una lesión abdominal grave, también provoca adherencias.

50 El tejido de cicatrización se puede formar dentro del saco pericárdico, las membranas que rodean al corazón, restringiendo de este modo la función cardíaca, por ejemplo, como resultado de una infección bacteriana, vírica o fúngica, lesión torácica grave, o cirugía cardíaca. En la pericarditis constrictora aguda, por ejemplo, el pericardio se cubre con una masa densa de material de fibrosis calcificado. Las infecciones, tales como la fiebre reumática, pueden conducir a adherencias que se forman sobre las válvulas cardíacas, conduciendo a una menor eficacia cardíaca.

55 **2. Reducción de la Morbilidad y Mortalidad**

60 No se conocen procedimientos para evitar las adherencias. Se pueden tratar las adherencias abdominales, pero pueden constituir un problema recurrente debido a que la cirugía es un por un lado la causa y por otro, el tratamiento. En la mayoría de los casos, si no en todos, los agentes presentados como eficaces a la hora de reducir la formación de adherencias tienen efectos negativos sobre la cicatrización anastomótica del intestino.

65 La cicatrización inapropiada y la posterior fuga de anastomosos intestinales son complicaciones pos-operatorias graves en cirugía abdominal. Las complicaciones anastomóticas entéricas (EACs) incluyen, pero sin limitarse a, fugas, fístulas (que se refieren a una afección que aparece cuando dos secciones huecas, tales como áreas del intestino, forman una conexión abdominal), y abscesos intra-abdominales (que se refieren a una cavidad de fluido

infectado y pus ubicado dentro de la cavidad abdominal).

Con frecuencia, las fístulas intestinales se asocian a adherencias densas. Las fístulas pueden ser enteroentéricas, enterocutáneas, enterovesicales, enterocólicas o enterovaginales. Las fístulas pueden ser iatrogénicas, tales como las que se producen después de complicaciones operatorias o pueden proceder de algunos otros procesos, incluyendo diverticulitis o enfermedad intestinal inflamatoria.

Los estomas (aberturas creadas quirúrgicamente en el intestino o tracto urinario hasta una superficie corporal) y las adherencias alrededor de los mismos también añaden complejidad.

Aunque las adherencias pueden resultar bastante incómodas para el cirujano, de manera más importante, su presencia puede generar consecuencias relevantes para el paciente. Las adherencias intestinales se han asociado a muchas afecciones para los pacientes, incluyendo dolor abdominal crónico y obstrucción del intestino delgado. La presencia de adherencias intra-abdominales y sus consecuencias pueden conducir a la necesidad de cirugía, quizás con resección del intestino delgado.

En pacientes con adherencias intra-abdominales significativas, con frecuencia los uréteres se confunden por medio de visión directa y pueden incluso verse envueltos en la masa adhesiva del intestino, aumentando el riesgo de lesión sobre los mismos. Otras lesiones potenciales incluyen la cirugía de los vasos sanguíneos grandes, el intestino y la vejiga urinaria. Las lesiones de órganos sólidos pueden complicar potencialmente las operaciones en pacientes con adherencias intra-abdominales grandes. Tras la cirugía, procesos infecciosos o inflamatorios, se pueden formar adherencias, desde el intestino delgado al hígado y al bazo. La cirugía se debe usar con precaución para evitar la retracción del intestino ya que se puede unir a otro órgano por medio de adherencias. Con frecuencia, este problema se observa en pacientes que experimentan colecistectomía. Aparecen adherencias múltiples, con frecuencia densas, durante una hemi-colectomía derecha. El pliegue hepático o el colon transversal pueden presentar adherencias a la cápsula hepática en la zona de la fosa de la vesícula biliar e incluso el duodeno puede verse implicado. La retracción del colon, ya sea laparoscópica o a través de laparotomía, puede conducir a tracción sobre la cápsula hepática, que puede tener como resultado desgarro y sangrado importante. El duodeno también puede verse lesionado durante la disección, especialmente en pacientes con enfermedad diverticular o colitis. Con frecuencia, la enfermedad diverticular implica el pliegue esplénico y las adherencias desde el pliegue esplénico hasta el bazo complican una disección que ya de por sí es potencialmente complicada. Por tanto, se debe prestar atención extra durante la movilización del pliegue ya que, de nuevo, la retracción del intestino puede tener como resultado un desgarro capsular del bazo lo que conduce a una hemorragia potencial o incluso requiere esplenectomía.

Las consecuencias de estas adherencias pueden ser tan graves que pueden tener como resultado morbilidad y mortalidad significativas. Las adherencias pueden aumentar la duración y complejidad de la cirugía de manera significativa, y dicha cirugía puede estar seguida de fístulas enterocutánea que aparecen después del pos-operatorio, síndrome de intestino corto e íleo marcadamente prolongado.

Además, incluso tras adhesiolisis amplia y completa (que significa cirugía para separar o retirar adherencias), puede tener lugar la formación de una nueva adherencia y tener como resultado hospitalizaciones y operaciones adicionales. De manera evidente, la molestia, la incapacidad y los costes son significativos. En esta era de mayor enfoque sobre los costes sanitarios, las adherencias intestinales contribuyen con aproximadamente 1000 millones de dólares anuales en Estados Unidos.

Los cirujanos han tratado de desarrollar estrategias y productos para evitar la generación de adherencias, o al menos reducir su gravedad y/o cantidad. Han intentado diferentes agentes y técnicas pero con escaso éxito. En la última década, la nueva tecnología, tal como laparoscopia, y los nuevos productos, tales como Seprafilm (Genzyme, Cambridge, MA) han jugado un papel importante a la hora de reducir las adherencias intra-abdominales postoperatorias.

A pesar de que estos avances, entre otros, han generado una diferencia en la naturaleza patológica del presente proceso, las adherencias siguen constituyendo un reto significativo tanto para pacientes como para los cirujanos (Jobanputra, S., y Wexner, SD Colorectal Dis. 2007 Oct; 9 Suppl 2: 54-9). La presencia de adherencias intra-abdominales puede generar situaciones muy complejas que requieren una planificación pre-operatoria cuidadosa, una técnica intra-operatoria meticulosa y una gestión pos-operatoria apropiada.

2.1. Causas de los Casos Complejos

La fisiopatología de las adherencias resulta compleja. Debido a que la mayoría de las adherencias son postoperatorias, la técnica quirúrgica es la causa más común de adherencias intra-abdominales. En cualquier momento en el que se perturba el plano tisular, la reacción natural del cuerpo es responder con la formación de tejido de cicatrización; en el caso de la cavidad peritoneal, el resultado son las adherencias. Se han asociado múltiples prácticas al empeoramiento de este problema desde la manipulación del intestino delgado hasta una técnica pobre. Otros factores que se han comprobado que son responsables incluyen el daño a la superficie serosa de la pared intestinal, polvo procedente de los guantes quirúrgicos, el tipo de material de sutura usado, y el alcance del tejido

desvitalizado. Por tanto, las adherencias pos-operatorias son el foco de la mayoría de las nuevas innovaciones en la prevención de adherencias.

La inflamación es otra causa de adherencias que pueden convertir la cirugía en más complicada. Los pacientes con enfermedades inflamatorias desarrollan adherencias intra-abdominales en respuesta a la inflamación. Con frecuencia estas adherencias aparecen durante la laparotomía o laparoscopia. Esta población de pacientes puede resultar extremadamente difícil de gestionar no solo debido a sus adherencias sino también debido a que su gestión pos-operatoria se puede complicar por factores externos, tales como el uso de esteroides y otra medicación anti-inflamatoria. Por ejemplo, la supresión inmunitaria y la malnutrición no resultan infrecuentes en particular en pacientes con enfermedad intestinal inflamatoria.

La enfermedad diverticular, uno de los procesos infecciosos más comunes que conduce a la formación de adherencias, puede convertir una resección anterior, ya sea por laparoscopia o laparotomía convencional, en un caso más complejo. Probablemente, es el caso complejo más común que conduce a las adherencias que aparecen por medio de cirugía general en la comunidad, después únicamente de la obstrucción adhesiva del intestino delgado. Otros procesos infecciosos intra-abdominales comunes que pueden conducir a la formación de adherencias incluyen varios episodios previos de enfermedad inflamatoria pélvica, colecistitis y apendicitis.

También se ha asociado la terapia de radiación con haces externos a las adherencias, aunque el mecanismo de la formación de la adherencia se ha estudiado menos. El efecto de la radiación de los haces externos sobre las adherencias intra-abdominales existentes resulta bien conocido; en particular las adherencias que se producen después de la radioterapia tienden a ser más de tipo vascular, más amplias y más fibrosas en comparación con las adherencias que no se producen por radiación.

Weibel y col. (Weibel, MA y Majano, G. Am. J. Surg. 1973; 126: 345-53), que describen la relación del aumento de edad con la formación de adherencias, describieron una incidencia mayor de las adherencias espontáneas en pacientes por encima de la edad de 60 años. La importancia de estas adherencias no se conoce bien pero, probablemente, se debe a procesos inflamatorios o infecciosos.

Cuando se toma la decisión de continuar con cirugía en un paciente en el que existe alta probabilidad de adherencias intra-abdominales, se requiere una planificación pre-operatoria cuidadosa para reducir la morbilidad y la mortalidad. La presencia de adherencias intra-abdominales puede convertir cualquier caso quirúrgico en complejo y duradero, con el potencial de morbilidad pos-operatoria significativa. Por tanto, se considera que las medidas preventivas pre- e intra-operatorias son superiores al tratamiento pos-operatorio terapéutico.

La enfermedad adhesiva intra-abdominal, independientemente de la etiología, puede suponer un peligro grande para el paciente y el cirujano. Las adherencias pueden convertir cualquier procedimiento en complejo, plagado de errores potenciales que pueden tener las mismas secuelas negativas para el paciente. Es obligación del cirujano usar un juicio cauteloso y todas las técnicas disponibles para evitar estas consecuencias.

La invención descrita aborda estos problemas.

Sumario de la invención

De acuerdo con un aspecto, la invención descrita proporciona una composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias en un sujeto que lo necesita, que comprende una cantidad que evita la adherencia de un polipéptido que tiene la secuencia YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. N^o. ID: 1] y un vehículo farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con una realización, la adherencia es una adherencia abdominal, adherencia pélvica o adherencia cardíaca. De acuerdo con otra realización, la composición se aplica de forma tópica. De acuerdo con otra realización, la composición se aplica de forma tópica por medio de un dispositivo biomédico. De acuerdo con otra realización, la composición se aplica de forma parenteral por medio de un dispositivo biomédico.

De acuerdo con otro aspecto, la invención descrita proporciona un dispositivo biomédico para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia, que comprende una cantidad que evita adherencia de un polipéptido que tiene la secuencia YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. N^o. ID: 1] dispuesta sobre o en el dispositivo. De acuerdo con otra realización, el polipéptido se dispone en una matriz dispuesta sobre el dispositivo. De acuerdo con otra realización, la matriz es un revestimiento de heparina.

De acuerdo con otro aspecto, la invención descrita proporciona una composición para tratar o evitar una adherencia que comprende un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos 85 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la [SEC. N^o. ID: 1], en el que el polipéptido evita las adherencias. De acuerdo con una realización, el ácido nucleico aislado codifica un polipéptido con al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la [SEC. N^o. ID: 1]. De acuerdo con otra realización, el ácido nucleico aislado codifica un polipéptido con al menos un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la [SEC. N^o. ID: 1], en la que el polipéptido evita las adherencias abdominales.

Descripción detallada de la invención

5 La invención descrita proporciona composiciones para su uso en procedimientos para tratar o evitar las adherencias en un sujeto que lo necesita. Dichos procedimientos comprenden la etapa de (a) administrar una cantidad que reduce la adherencia de una composición que comprende un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. Nº. ID: 1] o uno de sus equivalentes funcionales y un vehículo. Los procedimientos son clínicamente útiles para reducir la formación de las adherencias abdominales de forma inicial y para el tratamiento terapéutico de las cicatrices existentes.

10 La designación de letras individuales para los aminoácidos se usa de forma predominante en la presente memoria. Como resulta bien sabido por parte del experto en la técnica, dichas designaciones de letras individuales son las siguientes:

15 A es alanina; C es cisteína; D es ácido aspártico; E es ácido glutámico; F es fenilalanina; G es glicina; H es histidina; I es isoleucina; K es lisina; L es leucina; M es metionina; N es asparagina; P es prolina; Q es glutamina; R es arginina; S es serina; T es treonina; V es valina; W es triptófano; e Y es tirosina.

20 El término "anastomosis", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a la conexión de dos estructuras tubulares tales como los bucles del intestino. Una anastomosis quirúrgica aparece cuando se somete a resección un segmento de intestino y se cosen o grapan los dos extremos restantes (se anastomosan). El procedimiento se denomina como anastomosis intestinal. Las anastomosis patológicas que proceden de lesiones o enfermedades y que pueden afectar a venas, arterias o intestino normalmente se denominan fístulas. En el caso de venas o arterias, normalmente las fístulas traumáticas aparecen entre la arteria y la vena. Normalmente, las fístulas intestinales traumáticas aparecen entre dos bucles del intestino (fístula entero-enterica) o intestino y piel (fístula enterocutánea).

30 El término "enfermedad" o "trastorno", según se usa en la presente memoria, se refiere a una deficiencia de salud o una afección del funcionamiento abdominal. El término "síndrome", según se usa en la presente memoria, se refiere a un patrón de síntomas indicativo de alguna enfermedad o afección. El término "lesión", según se usa en la presente memoria, se refiere a un daño o alteración de una estructura o función corporal causado por un agente o fuerza exterior, que puede ser físico o químico. El término "afección", según se usa en la presente memoria, se refiere a una variedad de estados de salud y pretende incluir los trastornos o enfermedades provocados por cualquier mecanismo subyacente o trastorno, lesión y promoción de los tejidos y órganos sanos.

35 La expresión "individuo que lo necesita" se usa para hacer referencia a un individuo que sufre o padece (por ejemplo, por medio de un procedimiento quirúrgico) una herida que puede dar lugar a la formación de una adherencia, o que ha tenido como resultado la formación de una adherencia.

40 El término "inflamación", según se usa en la presente memoria, se refiere a una respuesta fisiopatológica a una infección y lesión en la cual las células implicadas en la detoxificación y reparación se movilizan hasta el sitio de interés gracias a mediadores inflamatorios. Los signos clásicos de inflamación son dolor, calor, enrojecimiento (rubor), hinchamiento (tumor) y pérdida de función. Histológicamente, la inflamación implica un serie de eventos complejos, que incluyen la dilatación de arteriolas, capilares y vénulas, con mayor permeabilidad y flujo sanguíneo; exudado de fluidos, incluyendo proteínas de plasma; y migración leucocítica al interior del foco inflamatorio.

La expresión "inflamación aguda", según se usa en la presente memoria, se refiere a inflamación, normalmente de aparición repentina, caracterizada por signos clásicos, con predominio de los procesos vasculares y exudativos.

50 La expresión "inflamación crónica", según se usa en la presente memoria, se refiere a una inflamación de progreso lento y marcada brevemente por la formación de nuevo tejido conectivo; puede ser una continuación de una forma aguda o una forma prolongada de bajo grado, y normalmente provoca daño tisular permanente.

55 Independientemente del agente de iniciación, los cambios fisiológicos que acompañan a la inflamación aguda engloban cuatro características principales: (1) vasodilatación, que tiene como resultado un aumento neto del flujo sanguíneo, es una de las respuestas físicas más tempranas frente a la lesión tisular aguda; (2) en respuesta a un estímulo inflamatorio, las células endoteliales que revisten las vénulas se contraen, ampliando las uniones intracelulares para producir huecos, que conducen a una mayor permeabilidad vascular que permite la fuga de proteínas de plasma y células sanguíneas fuera de los vasos sanguíneos; (3) con frecuencia la inflamación se caracteriza por una infiltración fuerte de leucocitos en el punto de la inflamación, en particular neutrófilos (células polimorfonucleares). Estas células favorecen el daño tisular por medio de la liberación de sustancias tóxicas en la pared vascular o en el tejido no lesionado; y (4) fiebre, producida por pirógenos liberados a partir de leucocitos en respuesta a un estímulo específico.

65 Durante el proceso inflamatorio, los mediadores inflamatorios apropiados de la respuesta inflamatoria trabajan junto con los componentes celulares de forma sistémica para conseguir contener y eliminar los agentes que provocan el

malestar físico. La expresión "mediadores inflamatorios", según se usa en la presente memoria, se refiere a los mediadores moleculares del proceso inflamatorio. Estas moléculas solubles y aptas para difusión actúan tanto localmente en el sitio del daño tisular e infección como en puntos más distantes. Algunos mediadores inflamatorios se activan por medio del proceso inflamatorio, mientras que otros se sintetizan y/o liberan a partir de fuentes celulares en respuesta a la inflamación aguda o por medio de otros mediadores inflamatorios solubles. Ejemplos de mediadores inflamatorios de la respuesta inflamatoria incluyen, pero sin limitarse a, proteasas de plasma, complemento, quininas, proteínas de coagulación y fibrinolíticas, mediadores de lípidos, prostaglandinas, leucotrienos, factor de activación de plaquetas (PAF), péptidos y aminos, incluyendo pero sin limitarse a, histamina, serotonina y neuropeptidos, citoquinas pro-inflamatorias, incluyendo pero sin limitarse a, interleucina-1, interleucina-4, interleucina-6, interleucina-8, factor de necrosis tumoral (TNF), interferón-gamma e interleucina 12.

El término "intestino", según se usa en la presente memoria, se refiere al segmento del tracto digestivo que se extiende desde el estómago hasta el ano y, en humanos y otros mamíferos, consiste en dos segmentos, el intestino delgado y el intestino grueso. En humanos, el intestino delgado está subdividido de manera adicional en el duodeno, yeyuno e íleo, mientras que el intestino grueso está subdividido en ciego y colon.

El término "modular", según se usa en la presente memoria, significa alterar, adaptar o ajustar a una determinada medida o porción.

Los términos "reducir" o "reducción", según se usan en la presente memoria, se refieren a limitar la ocurrencia de un trastorno en individuos con riesgo de desarrollar el trastorno.

La frase "reducir la formación de cicatrices", según se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier disminución de la formación de cicatrices que proporciona un beneficio terapéutico o cosmético al paciente. Dicho beneficio terapéutico o cosmético se puede conseguir, por ejemplo, por medio de disminución del tamaño y/o la profundidad de una cicatriz con respecto a la formación de cicatrices en ausencia de un tratamiento con los procedimientos de la invención, o por medio de reducción del tamaño de una cicatriz existente. Según se usa en la presente memoria, dichas cicatrices incluyen la formación de adherencia entre las superficies de los órganos, incluyendo, pero sin limitarse a, los que aparecen como resultado de cirugía.

Los términos "sujeto" o "individuo" se usan de manera intercambiable para hacer referencia a un miembro de una especie animal de origen mamífero, incluyendo humanos.

Los términos "tratar" o "tratamiento" se usan en la presente memoria para hacer referencia a lograr uno o más de los siguientes: (a) reducir la gravedad del trastorno; (b) limitar el desarrollo de los síntomas característicos del(de los) trastorno(s) objeto de tratamiento; (c) limitar el empeoramiento de los síntomas característicos del(de los) trastorno(s) objeto de tratamiento; (d) limitar la recurrencia del(de los) trastorno(s) en pacientes que han tenido previamente el(los) trastorno(s); y (e) limitar la recurrencia de los síntomas en pacientes que eran previamente asintomáticos para el(los) trastorno(s).

El término "herida", según se usa en la presente memoria, se refiere ampliamente a lesiones en el tejido subcutáneo. Dichas heridas incluyen, pero sin limitarse a, fístulas; úlceras; lesiones provocadas por infecciones; heridas de laparotomía; heridas quirúrgicas; heridas de incisión y fibrosis del tejido cardíaco.

Cuando se hace referencia a animales, que normalmente tienen un extremo con una cabeza y una boca, frecuentemente siendo el extremo opuesto el ano y la cola, el extremo de la cabeza se denomina extremo craneal, mientras que el extremo de la cola se denomina el extremo caudal. Dentro de la propia cabeza, rostral se refiere a la dirección hacia el extremo de la nariz, y caudal se usa para hacer referencia a la dirección de la cola. La superficie o el lado del cuerpo del animal que normalmente se encuentra orientado hacia arriba, lejos de la fuerza de la gravedad, es el lado dorsal; el lado opuesto, normalmente el más próximo al suelo cuando camina sobre las patas, nada o vuela, es el lado ventral. Sobre los miembros u otros apéndices, el punto más próximo al cuerpo principal es "proximal"; un punto más separado es "distal". Se usan tres planos de referencia básicos en anatomía de zoología. Un plano "sagital" divide el cuerpo en las partes izquierda y derecha. El plano "sagital medio" es la línea divisoria, es decir, la que pasaría a través de las estructuras de línea divisoria tal como la columna vertebral y otros planos sagitales que son paralelos a la misma. Un plano "coronal" divide el cuerpo en partes dorsal y ventral. Un plano "transversal" divide el cuerpo en las partes craneal y caudal.

Cuando se hace referencia a seres humanos, el cuerpo y sus partes se describen siempre usando la suposición de que el cuerpo se encuentra erguido. Las partes del cuerpo que se encuentran más próximas al extremo de la cabeza son "superiores" (que corresponden a la parte craneal en animales), mientras que las que se encuentran más lejos son las "inferiores" (que corresponden a la parte caudal en animales). Los objetos que se encuentran enfrente del cuerpo son denominados "anteriores" (que corresponden a la parte ventral en animales); los que se encuentran cerca de la parte trasera del cuerpo se denominan "posteriores" (que corresponden a la parte dorsal en animales). Un plano transversal, axial u horizontal es un plano X-Y, paralelo al suelo, que separa la parte superior/cabeza de la parte inferior/pies. Un plano coronal o frontal es un plano Y-Z, perpendicular al suelo, que separa la parte anterior de la parte posterior. Un plano sagital es el plano X-Z, perpendicular al suelo y el plano coronal, que separa la izquierda

de la derecha. El plano sagital medio es el plano sagital específico que está exactamente en el medio del cuerpo.

Las estructuras próximas a la línea divisoria se denominan mediales y las próximas a los extremos de los animales se denominan laterales. Por tanto, las estructuras mediales están más próximas al plano sagital medio, las estructuras laterales están más lejos del plano sagital medio. Las estructuras de la línea divisoria del cuerpo son medianas. Por ejemplo, la punta de la nariz del sujeto humano es la línea media.

El medio ipsilateral sobre el mismo lado, el medio contralateral sobre el otro lado y el medio bilateral sobre ambos lados. Las estructuras que se encuentran próximas al centro del cuerpo son proximales o centrales, mientras que las que están más lejos son distales o periféricas. Por ejemplo, las manos están en el extremo distal de los brazos, mientras que los hombros están en los extremos proximales.

En un aspecto, la invención descrita proporciona una composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar la formación de adherencias en un sujeto que lo necesita, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. N°. ID: 1] o uno de sus equivalentes funcionales y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones farmacéuticas son especialmente útiles para llevar a cabo los procedimientos de la invención descritos a continuación.

El término "activo" se refiere al ingrediente, componente o constituyente de las composiciones de la invención descrita responsables del efecto terapéutico pretendido.

Una "composición farmacéutica" es la que se emplea para evitar, reducir la intensidad, curar o de lo contrario tratar una afección diana, síndrome, trastorno o enfermedad que ha experimentado una revisión normativa federal.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", según se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier vehículo sustancialmente no tóxico que se puede usar convencionalmente para la administración de sustancias farmacéuticas en el que el polipéptido aislado de la invención descrita sigue siendo estable y biodisponible.

El término "péptido" se usa en la presente memoria para hacer referencia a dos o más aminoácidos unidos por un enlace de péptido.

El término "polipéptido" se usa en su sentido más amplio para hacer referencia a una secuencia de aminoácidos de subunidad, análogos de aminoácidos o peptidomiméticos. Las subunidades se unen por medio de enlaces de péptido, excepto cuando se aprecia. El polipéptido descrito en la presente memoria se puede sintetizar químicamente o se puede expresar de forma recombinante.

El término "proteína" se usa en la presente memoria para hacer referencia a una molécula compleja grande o un polipéptido formado por aminoácidos. La secuencia de aminoácidos en la proteína viene determinada por la secuencia de las bases de la secuencia de ácido nucleico que lo codifica.

Los términos "péptido", "polipéptido" y "proteína" también se aplican a polímeros de aminoácido en los cuales uno o más residuos de aminoácido son un análogo químico artificial de un aminoácido correspondiente de origen natural, así como también a polímeros de aminoácido de origen natural. La naturaleza esencial de dicho análogos de aminoácidos de origen natural es que, cuando se incorporan en una proteína, esa proteína es específicamente reactiva frente a los anticuerpos que provoca la misma proteína pero que consiste completamente en aminoácidos de origen natural. Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" también incluyen modificaciones que incluyen, pero sin limitarse a, glicosilación, unión de lípidos, sulfatado, gamma-carboxilación de residuos de ácido glutámico, hidroxilación y ADP-ribosilación. Se apreciará, así como se sabe bien y como se ha comentado anteriormente, que los polipéptidos pueden no ser completamente lineales. Por ejemplo, los polipéptidos pueden ser ramificados como resultado de ubiquitinación, y pueden ser circulares, con o sin ramificación, generalmente como resultado de eventos pos-translacionales, incluyendo un evento de procesado natural y eventos generados por manipulación humana que no tienen lugar de forma natural. Los polipéptidos circulares, ramificados y circulares ramificados se pueden sintetizar por medio de un proceso natural que no es de traslación y por medio de procedimientos completamente sintéticos también.

El término "residuo" o la expresión "residuo de aminoácido" o "aminoácido" se usan de manera intercambiable para hacer referencia a un aminoácido que se incorpora en una proteína, un polipéptido, o un péptido, incluyendo, pero sin limitarse a, un aminoácido de origen natural y análogos conocidos de aminoácidos naturales que pueden funcionar de manera similar como aminoácidos de origen natural.

Los términos "variantes", "mutantes" y "derivados" se usan en la presente memoria para hacer referencia a secuencias de nucleótidos con identidad sustancial para hacer referencia a una secuencia de nucleótidos. Las diferencias en las secuencias pueden ser el resultado de cambios, ya sean naturales o por diseño, en la secuencia o en la estructura. Los cambios naturales pueden surgir durante el curso de la replicación normal o duplicación de la naturaleza de la secuencia particular de ácido nucleico. Los cambios diseñados se pueden diseñar específicamente

y se pueden introducir en la secuencia con fines específicos. Dichos cambios específicos se pueden llevar a cabo in vitro usando una variedad de técnicas de mutagénesis. Dichas variantes de secuencias generadas específicamente pueden ser denominadas "mutantes" o "derivados" de la secuencia original.

- 5 De igual forma, un experto en la materia puede producir variantes de polipéptidos que tengan sustituciones de aminoácidos individuales o múltiples, eliminaciones, adiciones o sustituciones. Estas variantes pueden incluir entre otras: (a) variantes en las cuales uno o más residuos de aminoácidos se sustituyen por aminoácidos conservativos o no conservativos; (b) variantes en las cuales se añaden uno o más aminoácidos; (c) variantes en las cuales al menos un aminoácido incluye un grupo sustituyente; (d) variantes en las cuales los residuos de aminoácidos de una especie están sustituidos por el correspondiente residuo de otra especie, ya sea en posiciones conservadas o no conservadas; y (e) variantes en las cuales se condensa una proteína diana con otro péptido o polipéptido, tal como un socio de fusión, una cola de proteína u otro resto químico, que pueda conferir propiedades útiles a la proteína diana, tal como, por ejemplo, un epítipo para un anticuerpo. Las técnicas para obtener dichas variantes, incluyendo técnicas genéticas (supresiones, eliminaciones, mutaciones, etc.), químicas y enzimáticas son conocidas por el artesano experto. Según se usa en la presente memoria, el término "mutación", se refiere a un cambio en la secuencia de ADN dentro de un gen o cromosoma de un organismo que tiene como resultado la creación de un nuevo carácter o característica que no se encuentra en el tipo parental, o el proceso por medio del cual dicho cambio tiene lugar en un cromosoma, bien a través de una alteración de la secuencia de nucleótidos del ADN que codifica para un gen o bien a través de un cambio en la configuración física de un cromosoma. Tres mecanismos de mutación incluyen sustitución (intercambio de un par de bases por otro), adición (la inserción de una o más bases en una secuencia) y eliminación (pérdida de uno o más pares de bases).

El término "sustitución" se usa en la presente memoria para hacer referencia a un proceso en el que una base o bases se intercambian por otra base o bases en el ADN. Las sustituciones pueden ser sustituciones sinónimas o sustituciones no sinónimas. Según se usa en la presente memoria, "sustituciones sinónimas" hace referencia a sustituciones de una base por otra en un exón de un gen que codifica para una proteína, de manera que la secuencia de aminoácidos producida no se ve modificada. La expresión "sustituciones no sinónimas" según se usa en la presente memoria hace referencia a sustituciones de una base por otra en un exón de un gen que codifica para una proteína, de manera que la secuencia de aminoácidos producida se ve modificada.

El término "eliminación" y la expresión "mutación de eliminación" se usan de manera intercambiable en la presente memoria para hacer referencia a un proceso en el que se pierde una base o bases del ADN.

El término "adición" según se usa en la presente memoria hace referencia a la inserción de una o más bases, o de uno o más aminoácidos, en una secuencia.

Los siguientes representan grupos de aminoácidos que son sustituciones conservativas de uno por otro:

- 1) Alanina (A), Serina (S), Treonina (T);
- 2) Ácido aspártico (D), ácido glutámico (E);
- 3) Asparagina (N), ácido glutámico (Q);
- 4) Arginina (R), Lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); y
- 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W).

El término "similar" se usa de manera intercambiable con los términos análogo, comparable, o que se parece, lo que significa que tiene características en común.

En algunas realizaciones, el polipéptido de la invención descrita se sintetiza por vía química. Dicho polipéptido químico, preparado usando las técnicas bien conocidas de técnicas en fase sólida, fase líquida, o de condensación de péptidos, o cualquiera combinación de ellas, puede incluir aminoácidos naturales o no naturales. Los aminoácidos usados para la síntesis de péptidos pueden ser una resina de aminoácido Boc (N- α -t-butoxicarbonilo con protección N- α -amino) convencional con los protocolos convencionales de desprotección, neutralización, acoplamiento y lavado del procedimiento original en fase sólida de Merrifield (1963, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154), o los aminoácidos de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc) con protección de N- α -amino de base lábil descritos por primera vez por Carpino y Han (1972, J. Org. Chem. 37:3403-3409). Ambos aminoácidos con protección N- α -amino de tipo Fmoc y Boc se pueden obtener a partir de Sigma, Cambridge Research Biochemical, u otras compañías químicas familiares para los expertos en la técnica. Además, el polipéptido se puede sintetizar con otros grupos con protección N- α que son familiares para los expertos en la técnica.

Se puede lograr la síntesis de péptidos en fase sólida por medio de técnicas familiares para los expertos en la técnica y proporcionadas por ejemplo, en Stewart y Young, 1984, Solid Phase Synthesis, Segunda Edición, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill; Fields and Noble, 1990, Int. J. Pept. Protein Res. 35:161-214, o usando dispositivos de síntesis automatizados.

5 La expresión "equivalente funcional" según se usa en la presente memoria hace referencia a sustancias, moléculas, proteínas, péptidos o polipéptidos que tienen efectos o uso idéntico o similar. Un polipéptido funcionalmente equivalente del polipéptido [SEC. N.º. ID: 1] puede tener actividad similar o idéntica, actividad de inhibición similar o idéntica, parámetros cinéticos, inhibición de sal, actividad dependiente de cofactor y tamaño de unidad funcional muy similar al polipéptido expresado [SEC. N.º. ID: 1].

10 En algunas realizaciones, el polipéptido de la invención puede comprender aminoácidos D (que son resistentes a las proteasas específicas de aminoácido L in vivo), una combinación de aminoácidos D y L, y varios aminoácidos "creadores" (por ejemplo, aminoácido de β-metilo, aminoácidos de C-α-metilo y aminoácidos de N-α-metilo, etc.) para transmitir propiedades especiales. Los aminoácidos sintéticos incluyen ornitina para lisina, y norleucina para leucina o isoleucina.

15 Además, el polipéptido de la invención descrita puede tener enlaces de peptidomiméticos, tales como enlaces de éster, para preparar péptidos con nuevas propiedades. Por ejemplo, se puede generar un péptido que incorpore un enlace de péptido reducido, es decir, R₁-CH₂-NH-R₂ [SEC. N.º. ID: 2], en la que R₁ y R₂ son residuos de aminoácido o secuencias. Dicho polipéptido sería resistente a la actividad de proteasa y poseería una semi-vida in vivo prolongada.

20 En otra realización, la invención descrita proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 85 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N.º. ID: 1]. En algunas de dichas realizaciones, la invención descrita proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N.º. ID: 1]. En algunas de dichas realizaciones, la invención descrita proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N.º. ID: 1]. En otra realización, la invención descrita proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 85 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N.º. ID: 1], en el que el polipéptido evita las adherencias abdominales. En otra realización, la invención descrita proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N.º. ID: 1], en el que el polipéptido evita las adherencias abdominales. En otra realización, la invención descrita proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N.º. ID: 1], en el que el polipéptido evita las adherencias abdominales.

25 El término "aislado" se usa en la presente memoria para hacer referencia a un material, tal como, pero sin limitarse a, un ácido nucleico, un péptido, un polipéptido, o proteína, que está: (1) sustancialmente o esencialmente libre de componentes que normalmente acompañan o interaccionan con el mismo, tal y como se encuentra en su entorno de origen natural. Las expresiones "sustancialmente libre" o "esencialmente libre" se usan en la presente memoria para hacer referencia a considerablemente o significativamente libre de, o más de aproximadamente un 95 % libre de, o más de aproximadamente un 99 % libre de. El material aislado comprende opcionalmente un material no encontrado con el material en su entorno natural; o (2) si el material está en su entorno natural, el material se ha alterado de forma sintética (no natural) por medio de intervención humana deliberada hasta una composición y/o se ha colocado en una ubicación en la célula (por ejemplo, un genoma u orgánulo subcelular) no nativo hasta un material que se encuentra en el entorno. La alteración para dar lugar al material sintético puede llevar a cabo sobre el material dentro, o retirado, de su estado natural. Por ejemplo, un ácido nucleico de origen natural se convierte en ácido nucleico aislado si se modifica, o si se somete a transcripción a partir de ADN que se ha sido modificado, por medio de intervención humana llevada a cabo dentro de la célula que lo origina. Véase, por ejemplo, Compounds and Methods for Site Directed Mutagenesis in Eukaryotic Cells, Kmiec, patente de Estados Unidos N.º. 5.565.350; In Vivo Homologous Sequence Targeting in Eukaryotic Cells; Zarlign et al., PCT/US93/03868. De igual forma, un ácido nucleico de origen natural (por ejemplo, un promotor) se convierte en aislado si se introduce a través de un medio de origen natural en un locus del genoma no nativo para ese ácido nucleico. Los ácidos nucleicos que están "aislados" definidos en la presente memoria también son denominados ácidos nucleicos "heterólogos".

30 La expresión "ácido nucleico" se usa en la presente memoria para hacer referencia a un polímero de desoxirribonucleótido o ribonucleótido bien en forma de hebra individual o doble, y a menos que se encuentre limitado, engloba análogos conocidos que tienen naturaleza esencial de nucleótidos naturales en los cuales experimenta hibridación hasta ácidos nucleicos de hebra individual de manera similar a los nucleótidos de origen natural (por ejemplo, los ácidos nucleicos de péptido).

35 El término "nucleótido" se usa en la presente memoria para hacer referencia a un compuesto químico que consiste en una base heterocíclica, un azúcar y uno o más grupos de fosfato. En los nucleótidos más comunes, la base es un derivado de purina o pirimidina, y el azúcar es pentosa, desoxirribosa o ribosa. Los nucleótidos son los monómeros de ácidos nucleicos, con tres o más enlaces juntos con el fin de formar un ácido nucleico. Los nucleótidos son

unidades estructurales de ARN, ADN y varios cofactores, incluyendo, pero sin limitarse a, CoA, FAD, DMN, NAD y NADP. Las purinas incluyen adenina (A) y guanina (G); las pirimidinas incluyen citosina (C), timina (T) y uracilo (U).

5 Los siguientes términos se usan en la presente memoria para describir las relaciones de secuencias entre dos o más ácidos nucleicos o polinucleótidos: (a) "secuencia de referencia", (b) "ventana de comparación", (c) "identidad de secuencia", (d) "porcentaje de identidad de secuencia" y (e) "identidad sustancial".

10 La expresión "secuencia de referencia" se refiere a una secuencia usada como base para una comparación de secuencias. Una secuencia de referencia puede ser un subconjunto o la totalidad de una secuencia especificada; por ejemplo, en forma de un segmento de longitud completa de ADNc o secuencia de genes, o el ADNc o secuencia de genes completa.

15 La expresión "ventana de comparación" se refiere a un segmento contiguo y específico de una secuencia de polinucleótidos, en la que la secuencia de polinucleótidos se puede comparar con una secuencia de referencia y en la que la parte de la secuencia de polinucleótidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o eliminaciones) para la alineación óptima de las dos secuencias. Generalmente, la ventana de comparación tiene una longitud de al menos 20 nucleótidos contiguos, y opcionalmente pueden tener una longitud de al menos 30 nucleótidos contiguos, una longitud de al menos 40 nucleótidos contiguos, una longitud de al menos 50 nucleótidos contiguos, una longitud de al menos 100 nucleótidos contiguos, o más. Los expertos en la técnica comprenderán que para evitar una elevada similitud con una secuencia de referencia debido a la inclusión de huecos en la secuencia de polinucleótidos, normalmente se introduce una penalización de hueco y se resta del número de emparejamientos.

25 Los procedimientos de alineación de las secuencias para comparación se conocen bien en la técnica. La alineación óptima de secuencias con fines de comparación se puede llevar a cabo por medio del algoritmo de homología local de Smith y Waterman, *Adv., Appl. Math.* 2:482 (1981); por medio del algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970); por medio de la búsqueda del procedimiento de similitud de Pearson y Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:2444 (1988); por medio de implementaciones computerizadas de estos algoritmos, incluyendo, pero sin limitarse a: CLUSTAL en el programa PC/Gene de Intelligenetics, Mountain View, Calif.; GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA y TFASTA en Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Madison, Wis, USA; el programa CLUSTAL se describe bien por parte de Higgins y Sharp, *Gene* 73:237-244 (1988); Higgins and Sharp, *CABIOS* 5:151-153 (1989); Corpet y col., *Nucleic Acids Research* 16:10881-90 (1988); Huang y col., *Computer Applications in the Biosciences* 8:155-65 (1992) y Pearson y col., *Methods in Molecular Biology* 24:307-331 (1994). La familia BLAST de programas, que se pueden usar para las búsquedas de similitud en bases de datos, incluyen: BLASTN para la secuencia de pregunta de nucleótidos frente a las secuencias de bases de datos de nucleótidos; BLASTX para la secuencias de pregunta de nucleótidos frente a las secuencias de bases de datos de proteínas; BLASTP para las secuencias de pregunta de proteínas frente a las secuencias de bases de datos de proteínas; TBLASTN para las secuencias de pregunta de proteínas frente a las secuencias de bases de datos de nucleótidos; y TBLASTX para las secuencias de preguntas de nucleótidos frente a las secuencias de bases de datos de nucleótidos. Véase, *Current Protocols in Molecular Biology*, Capítulo 19, Ausubel y col., Eds., Greene Publishing and Wiley-Interscience, Nueva York (1995).

45 A menos que se afirme lo contrario, los valores de identidad/similitud de secuencia de la presente memoria se refieren al valor obtenido usando el conjunto de programas BLAST 2.0 empleando los parámetros por defecto. Altschul y col., *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402 (1997). El soporte lógico para llevar a cabo los análisis BLAST se encuentra disponible públicamente, por ejemplo, a través del National Center for Biotechnology-Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Este algoritmo implica identificar en primer lugar los pares de secuencias de elevada puntuación (HSPs) por medio de la identificación de palabras cortas de longitud W en la secuencia de pregunta, que bien se emparejan o cumplen la puntuación T de umbral valorado como positivo cuando se sincronizan con una palabra de la misma longitud en la secuencia de la base de datos. T se denomina el umbral de puntuación de palabra vecina (Altschul y col, supra). Estos aciertos iniciales de palabra vecina actúan como semillas para iniciar las búsquedas con el fin de encontrar los HSPs que las contienen. Los aciertos de palabra se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia tanto como es posible aumentar la puntuación de alineación acumulada. Se calculan las puntuaciones acumuladas usando, para las secuencias acumuladas, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de residuos que se emparejan; siempre > 0) y N (puntuación de penalización para los residuos que no se emparejan; siempre < 0). Para secuencias de aminoácidos, se usa la matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulada. La extensión de la palabra acierto en cada dirección se altera cuando: la puntuación de la alineación acumulada cae fuera de la cantidad X desde su máximo valor conseguido; la puntuación acumulada se mueve hasta cero o por debajo de cero, debido a la acumulación de una o más sincronizaciones residuales de puntuación negativa; o se alcanza el final de cualquier secuencia. Los parámetros W, T y X del algoritmo BLAST determinan la sensibilidad y la velocidad de la alineación. El programa BLAST (para las secuencias de nucleótidos) usa como valores por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una probabilidad (E) de 10, un valor de corte de 100, M = 5, N = 4 y una comparación de ambas hebras. Para las secuencias de aminoácido, el programa BLAST usa como valores por defecto una longitud de palabra (W) de 3, una probabilidad (E) de 10 y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff & Henikoff (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915).

- Además de calcular el porcentaje de la identidad de secuencia, el algoritmo de BLAST también lleva a cabo un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, por ejemplo, Karlin & Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787 (1993)). Una medida de la similitud proporcionada por el algoritmo de BLAST es la probabilidad de suma más pequeña ($P(N)$), que proporciona una indicación de la probabilidad con la que puede ocurrir un ajuste entre dos nucleótidos o secuencias de aminoácidos por casualidad. Las búsquedas de BLAST asumen que las proteínas se pueden modelar como secuencias aleatorias. No obstante, muchas proteínas reales comprenden regiones de secuencias no aleatorias que pueden ser trectos homopoliméricos, repeticiones de período corto, o regiones enriquecidas en uno o más aminoácidos. Dichas regiones de baja complejidad pueden sincronizarse entre proteínas no relacionadas incluso cuando otras regiones de la proteína son completamente disimilares. Se puede emplear un número de programas de filtro de baja complejidad para reducir dichas sincronizaciones de baja complejidad. Por ejemplo, se pueden emplear filtros de baja complejidad SEG (Wooten y Federhen, Comput. Chem., 17:149-163 (1993)) y XNU (Claverie y States, Comput. Chem., 17:181-201 (1993)) solos o en combinación.
- La expresión "identidad de secuencia" o el término "identidad" en el contexto de dos secuencias de polipéptido o ácidos nucleicos se usa en la presente memoria para hacer referencia a los residuos en las dos secuencias que son iguales cuando se sincronizan para una correspondencia máxima con respecto a una ventana de comparación especificada. Cuando se usa un porcentaje de identidad de secuencia en referencia a proteínas se reconoce que las partes residuales no son idénticas y, con frecuencia, difieren por medio de sustituciones de aminoácido conservativas, es decir, cuando se sustituyen residuos de aminoácidos por otros residuos de aminoácido con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o naturaleza hidrófoba) y, por tanto, no se modifican las propiedades de la molécula. Cuando las secuencias difieren en cuanto a sustituciones conservativas, se puede ajustar el porcentaje de identidad de secuencia en sentido ascendente para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Las secuencias que difieren por medio de sustituciones conservativas se dice que tienen una "similitud de secuencia" o "similitud". Los expertos en la técnica conocen medios para llevar a cabo este ajuste. Normalmente, estos incluyen la puntuación de una sustitución conservativa como un desajuste parcial en lugar de completo, aumentando de este modo el porcentaje de identidad de secuencia. De este modo, por ejemplo, cuando se proporciona a un aminoácido idéntico una puntuación de 1 y se proporciona a una sustitución no conservativa una puntuación de cero, se proporciona una puntuación de cero y 1 a una sustitución conservativa. Se calcula la puntuación de las sustituciones conservativas, por ejemplo, de acuerdo con el algoritmo de Meyers y Miller, Computer Applic. Biol. Sci., 4:11-17 (1988), por ejemplo, como se lleva a la práctica en el programa PC/GENE (Intelligentics, Mountain View, Calif. USA).
- La expresión "porcentaje de identidad de secuencia" se usa en la presente memoria para hacer referencia al valor determinado por medio de comparación de dos secuencias sincronizadas de forma óptima con respecto a una ventana de comparación, de manera que la parte de la secuencia de polinucleótido de la ventana de comparación pueda comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o eliminaciones) para la alineación óptima de las dos secuencias. Se calcula el porcentaje para determinar el número de posiciones en las cuales tiene lugar el residuo de aminoácido o base de ácido nucleico idéntico en ambas secuencias para dar lugar al número de posiciones ajustadas, dividiendo el número de posiciones ajustadas entre el número total de posiciones de la ventana de comparación, y multiplicando el resultado por 100 para dar lugar al porcentaje de identidad de secuencia.
- La expresión "identidad sustancial" de secuencia de polinucleótidos significa un polinucleótido que comprende una secuencia que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia, al menos un 80 % de identidad de secuencia, al menos un 90 % de identidad de secuencia y al menos un 95 % de identidad de secuencia, en comparación con una secuencia de referencia usando uno de los programas de alineación descritos, usando parámetros convencionales. El experto reconoce que estos valores se pueden ajustar de manera apropiada para determinar la identidad correspondiente de las proteínas codificada por las dos secuencias de nucleótidos, teniendo en cuenta la degeneración de codon, la similitud de aminoácidos, leyendo el posicionamiento de la estructura y similares. Normalmente, la identidad sustancial de las secuencias de aminoácidos para estos fines significa una identidad de secuencia de al menos un 60 %, o al menos un 70 %, o al menos un 80 %, al menos un 90 %, o al menos un 95 %. Otra indicación de que las secuencias de nucleótidos son sustancialmente idénticas es si las dos moléculas se hibridan una con la otra en condiciones rigurosas. No obstante, los ácidos nucleicos que no se hibridan uno con otro en condiciones rigurosas son todavía sustancialmente idénticos si los polipéptidos que codifican son sustancialmente idénticos. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando se crea una copia de ácido nucleico usando la degeneración de codon máxima permitida por el código genético. Una indicación de que las dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico presenta una reactividad inmunológicamente cruzada con el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico.
- La expresión "identidad sustancial" en el contexto de un péptido indica que el péptido comprende una secuencia con al menos un 70 % de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de referencia, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, o un 95 % con respecto a la secuencia de referencia en una ventana de comparación especificada. De manera opcional, se lleva a cabo la alineación óptima usando un algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970). Un indicativo de que las dos secuencias de péptidos son sustancialmente idénticas es que un péptido es inmunológicamente reactivo con

anticuerpos aumentados con respecto al segundo péptido. De este modo, un péptido es sustancialmente idéntico a un segundo péptido, por ejemplo, cuando los dos péptidos difieren únicamente en una sustitución conservativa. Los péptidos que son "sustancialmente similares" comparten secuencias como se ha comentado anteriormente exceptuando que las posiciones de los residuos que no son idénticas pueden diferir por medio de cambios de aminoácidos no conservativos.

La invención descrita es útil en un procedimiento para tratar o evitar adherencias en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el procedimiento la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un polipéptido de SEC. N^o. ID: I o uno de sus equivalentes funcionales y un vehículo.

Para la administración, el polipéptido de la invención descrita se combina de manera común con uno o más vehículos apropiados por medio de la ruta de administración indicada. El término "vehículo" y "vehículo farmacéutico", según se usan en la presente memoria, se refieren a un agente inerte farmacéuticamente aceptable o vehículo para el suministro de uno o más agentes activos a un sujeto, y con frecuencia se refiere a un "excipiente". El término "vehículo" se refiere a una sustancia que facilita el uso de un fármaco u otro material que se mezcla con el mismo.

El vehículo (farmacéutico) debe tener una pureza suficientemente elevada y una toxicidad suficientemente baja para dar lugar a una administración apropiada al sujeto objeto de tratamiento. El vehículo (farmacéutico) debería además mantener la estabilidad y la bio-disponibilidad de un agente activo, por ejemplo, un polipéptido de la invención descrita. El vehículo (farmacéutico) puede ser líquido o sólido y está seleccionado, teniendo presente la manera planificada de administración, para proporcionar el volumen deseado, consistencia, etc., cuando se combina con un agente activo y otros componentes de una composición concreta. El vehículo (farmacéutico) puede ser, sin limitación, un agente de enlace (por ejemplo, almidón de maíz pre-gelatinizado, una polivinilpirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa, etc.), una sustancia de relleno (por ejemplo, lactosa y otros azúcares, celulosa microcristalina, pectina, gelatina, sulfato de calcio, etil celulosa, poliacrilatos, hidrogeno fosfato de calcio, etc.), un lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, sílice, dióxido de silicio coloidal, ácido esteárico, estearatos metálicos, aceites vegetales hidrogenados, almidón de maíz, polietilen glicoles, benzoato de sodio, acetato de sodio, etc.), un desintegrante (por ejemplo, almidón, glicolato de almidón de sodio, etc.) o un agente humectante (por ejemplo, lauril sulfato de sodio, etc.). Otros vehículos apropiados (farmacéuticos) para las composiciones de la invención descrita incluyen, pero sin limitarse a, agua, disoluciones salinas, alcoholes, polietilen glicoles, gelatinas, amilosas, estearato de magnesio, talcos, ácidos silícicos, parafinas viscosas, hidroximetilcelulosas, polivinilpirrolidonas y similares. Las composiciones de la invención descrita que son para administración parenteral de polipéptidos pueden incluir vehículos (farmacéuticos) tales como disoluciones acuosas estériles, disoluciones no acuosas en disolventes comunes tales como alcoholes, o disoluciones del polipéptido en una base líquida acuosa.

En algunas realizaciones, el vehículo de la composición de la invención descrita incluye un agente de liberación tal como un vehículo de liberación prolongada o liberación retardada. En dichas realizaciones, el vehículo puede ser cualquier material susceptible de liberación prolongada o retardada del compuesto modulador de transducción de señal para proporcionar una administración más eficaz, por ejemplo, que tenga como resultado una dosificación menos frecuente y/o menor del compuesto, una mayor facilidad de manipulación y efectos ampliados o retardados sobre las enfermedades, trastornos, afecciones, síndromes y similares, objeto de tratamiento, que se evitan o se favorecen. Ejemplos no limitantes de dichos vehículos incluyen liposomas, micro-esponjas, micro-esferas o micro-cápsulas de polímeros naturales y sintéticos y similares. Se pueden formar los liposomas a partir de una variedad de fosfolípidos tales como colesterol, estearilaminas o fosfatidilcolinas.

El polipéptido se puede unir a otros compuestos para favorecer un semivida mayor in vivo, tal como polietilen glicol. Dicho enlace puede ser covalente o no covalente como se comprende por parte de los expertos en la técnica.

El polipéptido se puede preparar en forma sólida (incluyendo gránulos, polvos o supositorios) o en forma líquida (por ejemplo, disoluciones, suspensiones o emulsiones). El polipéptido de la invención se puede aplicar en una variedad de disoluciones. Para ser apropiada, una formulación es estéril, disuelve cantidades suficientes de los polipéptidos, y no resulta nociva para la aplicación propuesta.

Por ejemplo, las composiciones de la invención descrita se pueden formular en forma de suspensiones acuosas en las cuales el(los) ingrediente(s) está(n) en una mezcla con excipientes apropiados para la fabricación de las suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábica; los agentes de dispersión o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural tal como lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetil-eneoxicetanol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales procedentes de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales procedentes de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietilen sorbitán.

Las composiciones de la invención descrita también se pueden formular en forma de suspensiones oleosas por

medio de suspensión del ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico.

5 Las composiciones de la invención descrita también se pueden formular en forma de polvos aptos para dispersión y gránulos apropiados para la preparación de una suspensión acuosa por medio de adición de agua. El ingrediente activo en dichos polvos y los gránulos se proporcionan en forma de mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes apropiados se ejemplifican por medio de los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes
10 adicionales.

Las composiciones de la invención también pueden estar en forma de emulsión. Una emulsión es un sistema de dos fases preparado por medio de combinación de dos vehículos líquidos inmiscibles, uno de los cuales se distribuye de manera uniforme en el otro y consiste en glóbulos que tienen diámetros iguales o mayores a los de las partículas coloidales más grandes. El tamaño de glóbulo es crítico y debe ser tal que el sistema logre una estabilidad
15 máxima. Normalmente, la separación de las dos fases no tiene lugar a menos que se incorpore una tercera sustancia, un agente emulsionante. De este modo, la emulsión básica contiene al menos tres componentes, los dos vehículos líquidos inmiscibles y el agente emulsionante, así como también el ingrediente activo. La mayoría de las emulsiones incorporan una fase acuosa en la fase no acuosa (o vice versa). No obstante, es posible preparar
20 emulsiones que sean básicamente no acuosas, por ejemplo, tensioactivos aniónicos y catiónicos del sistema no acuoso inmiscible glicerina y aceite de oliva. De este modo, las composiciones de la invención pueden estar en forma de una emulsión de aceite en agua. La fase oleosa pueden ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo una parafina líquida, o una de sus mezclas. Los agentes emulsionantes apropiados pueden ser gomas de origen natural, por ejemplo, goma arábica o goma de tragacanto,
25 fosfátidas de origen natural, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales procedentes de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitán, y productos de condensación de los ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietilén sorbitán.

En otro aspecto, la invención descrita proporciona un dispositivo biomédico que comprende un polipéptido de SEC.
30 N^o. ID: 1 o uno de sus equivalentes funcionales dispuesto sobre o en un dispositivo biomédico. Según se usa en la presente memoria, un "dispositivo biomédico" se refiere a un dispositivo a implantar en un sujeto, por ejemplo, un ser humano, con el fin de obtener un resultado deseado. Los dispositivos biomédicos particularmente preferidos de acuerdo con este aspecto de la invención incluyen, pero sin limitarse a, endoprótesis vasculares, injertos, derivaciones, injertos de endoprótesis vasculares, fístulas, dispositivos de angioplastia, catéteres de globo, catéteres
35 venosos, dispositivos implantables para el suministro de fármacos, barreras de adherencia (incluyendo pero sin limitarse a carboximetilcelulosa, ácido hialurónico y láminas de PTFE) para separación de tejidos, cicatrización de heridas tales como películas (por ejemplo, películas de poliuretano), hidrocoloides (partículas coloidales hidrófilas unidas a una espuma de poliuretano), hidrogeles (polímeros reticulados que contienen aproximadamente al menos un 60 % de agua), otros líquidos viscosos y especies de tipo hidrogel (incluyendo pero sin limitarse a, las divulgadas
40 en el documento US 20030190364), espumas (hidrófilas o hidrófobas), alginatos de calcio (materiales compuestos no tejidos o fibras de alginato de calcio), celofán, materiales plurónicos (es decir, poli(etilén glicol)-bloque-poli(propilén glicol) y polímeros biológicos.

El término "injertos" según se usa en la presente memoria se refiere tanto a injertos naturales como protésicos e
45 implantes.

La expresión "dispuesto sobre o en", según se usa en la presente memoria, significa que uno o más polipéptidos pueden estar en contacto, directa o indirectamente, con una superficie externa, una superficie interna, o pueden estar intercalados dentro del dispositivo biomédico. El contacto "directo" se refiere a la disposición de polipéptidos
50 directamente sobre o en el dispositivo, incluyendo pero sin limitarse a la inmersión de un dispositivo biomédico en una disolución que contiene uno o más polipéptidos, revestimiento por centrifugación o pulverización de una disolución que contiene uno o más polipéptidos sobre el dispositivo, implantación de cualquiera dispositivo que suministre el polipéptido, y administración del polipéptido a través de un catéter directamente a la superficie o a cualquier órgano.

55 Contacto "indirecto" significa que uno o más polipéptidos no están en contacto directo con el dispositivo biomédico. Por ejemplo, uno o más polipéptidos pueden estar dispuestos en una matriz, tal como una matriz de gel (tal como un revestimiento de heparina) o un fluido viscoso, que está dispuesto sobre el dispositivo biomédico. Dichas matrices se pueden preparar para, por ejemplo, modificar la unión y las propiedades de liberación de uno o más polipéptidos según se requiera. En un ejemplo no limitante, se dispone un revestimiento de heparina sobre el dispositivo biomédico (tal como un dispositivo vascular de poli(tetrafluoroetileno) (PTFE) o lámina) y se disponen uno o más polipéptidos sobre o en un revestimiento de heparina; en este ejemplo, uno o más polipéptidos se pueden suministrar a un sujeto que lo necesite de manera controlada. En un ejemplo no limitante, la liberación de uno o más polipéptidos a partir de las superficies intersticiales de los dispositivos vasculares de poli(tetrafluoroetileno) (PTFE) o láminas se puede controlar en primer lugar adsorbiendo o uniéndolo a la heparina a la superficie y/o los intersticios del dispositivo de PTFE seguido de adsorción del polipéptido. También se pueden usar capas alternantes de heparina y
60 65

5 polipéptido para aumentar la dosis de polipéptido y/o el tiempo de liberación. En condiciones fisiológicas dentro del cuerpo, las cinéticas de asociación y disociación de los polipéptidos divulgados en la presente memoria desde y hasta heparina conducen a un perfil de liberación retardada en comparación con la liberación del polipéptido a partir de un dispositivo de PTFE sencillo. Además, se puede alterar el perfil de liberación a través de cambios en la temperatura local, pH o fuerza iónica. Dicha liberación controlada es de gran valor para su uso en diferentes tratamientos terapéuticos para los cuales se pueden usar los dispositivos biomédicos como se comenta a continuación.

10 Los revestimientos de heparina sobre varios dispositivos médicos se conocen en la técnica. Las aplicaciones en humanos incluyen catéteres venosos centrales, endoprótesis vasculares coronarias, dispositivos de ayuda ventricular, circuitos sanguíneos extra-corporales, dispositivos de toma de muestras de sangre e injertos vasculares. Dichos revestimientos pueden estar en forma de gel o no. Según se usa en la presente memoria, "revestimiento de heparina" incluye heparina adsorbida sobre la superficie, heparina unida a la superficie y heparina intercalada en la superficie polimérica de PTFE. Un ejemplo de procedimiento para la unión de heparina sería el uso de plasma de amoníaco para tratar, por ejemplo, una superficie de PTFE y hacer reaccionar las aminas resultantes con heparina oxidada. La formación de capa a capa de la heparina y uno o más polipéptidos podría posteriormente usarse para aumentar el polipéptido sobre la superficie y ampliar el tiempo de administración. Las formas de gel de revestimiento de heparina pueden incluir, pero sin limitarse a, cualquier hidrogel que contenga heparina unida bien física o bien covalentemente al gel. El revestimiento de heparina se dispone sobre el dispositivo biomédico, que incluye el contacto directo con una superficie externa o una superficie interna del dispositivo biomédico, o se intercala dentro del dispositivo biomédico. Contacto "directo" se refiere a la disposición directamente sobre o en el dispositivo, incluyendo pero sin limitarse a la inmersión de un dispositivo biomédico en una disolución de revestimiento de heparina (en la que se pueden añadir los polipéptidos de la disolución de revestimiento de heparina, o se pueden disponer posteriormente sobre o en el revestimiento de heparina después de que haya entrado en contacto con el dispositivo), revestimiento por centrifugación o pulverización de una disolución de revestimiento de heparina sobre el dispositivo (en el que los polipéptidos se pueden añadir como parte de la disolución de revestimiento de heparina, o se pueden disponer posteriormente sobre o en el revestimiento de heparina después de producir el contacto con el dispositivo), y administrar la disolución de revestimiento de heparina que contiene los polipéptidos a través de un catéter de forma directa sobre la superficie o en el interior de cualquier órgano. Las características físicas y la composición específica de la capa de heparina puede ser cualesquiera que proporcionen el perfil de liberación deseado de uno o más polipéptidos. Véase, por ejemplo, Seal y Panitch, *Biomacromolecules* 2003(4):1572-1582 (2003); el documento , US20030190364; y Carmeda BioActive Surface (CBAS™) el producto de Carmeda AB de Estocolmo, Suecia. Contacto "indirecto" significa que el revestimiento de heparina no está en contacto directo con el dispositivo tal como, por ejemplo, cuando se coloca un revestimiento de intervención entre la superficie del dispositivo y el revestimiento de heparina. En un ejemplo no limitante, uno o más polipéptidos se pueden adsorber inicialmente (de forma directa o indirecta) y posteriormente adsorber un revestimiento de heparina; esto puede estar seguido de manera opcional por capas de polipéptido posteriores, capas de heparina, o sus combinaciones, según se desee. Como se comprende por parte de los expertos en la técnica, se puede usar cualquier polisacárido sulfatado o polímero negativamente cargado de manera similar a la heparina como se ha descrito anteriormente, para proporcionar las características de liberación deseadas.

45 Sin pretender quedar ligado a teoría, se piensa que el polipéptido de SEC. N^o. ID:1 proporciona su efecto terapéutico al menos en parte como resultado de la inhibición de la fosforilación HSP27 por parte de HSP27 quinasa (MAPKAP quinasa 2). Los mecanismos alternativos que incluyen, pero sin limitarse a, la inhibición de la fosforilación de HSP27 por parte de MAPKAP quinasa 3, y MPAKAP quinasa 5 también pueden contribuir a su efecto terapéutico. Debido a que MAPKAP2 está aguas abajo de p38 MAP quinasa, cualquier uso terapéutico para el cual los inhibidores de p38 MAPK son útiles se encuentra también dentro del alcance de la invención descrita.

50 El término "administrar", según se usa en la presente memoria, incluye la administración *in vivo*, así como la administración directa al tejido *ex vivo*. Las composiciones de la invención descrita se pueden administrar de forma sistémica o bien de forma oral, bucal, parenteral, tópica, por medio de inhalación o insuflado (es decir, a través de la boca o a través de la nariz) o por vía rectal en formulaciones unitarias de dosificación que contienen excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables, adyuvantes y vehículos según se desee.

55 El término "parenteral", según se usa en la presente memoria, se refiere a la introducción en el cuerpo, por medio de una inyección (es decir, administración por medio de inyección), incluyendo, por ejemplo, por vía subcutánea (es decir, una inyección bajo la piel), por vía intramuscular (es decir, una inyección en el interior de un músculo), por vía intravenosa (es decir, una inyección en una vena), por vía intratecal (es decir, una inyección en un espacio alrededor de la médula espinal), inyección intrasternal o técnicas de venoclisis. Se administra una composición para administración parenteral de la invención descrita usando una aguja, por ejemplo, una aguja quirúrgica. La expresión "aguja quirúrgica", según se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier aguja adaptada para administración de composiciones de fluido (es decir, aptas para flujo) de la invención descrita en una estructura anatómica concreta. Se pueden formular preparaciones inyectables, tales como suspensiones inyectables estériles acuosas u oleaginosas, de acuerdo con la técnica conocida de uso de agentes de dispersión o humectación apropiados y agentes de suspensión.

La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución inyectable estéril o una suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, una disolución en 1,3-butanodiol. Generalmente, se considera una disolución como mezcla homogénea de dos o más sustancias; frecuentemente, aunque no necesariamente, es un líquido. En una disolución, las moléculas de soluto (o sustancia disuelta) se distribuyen de manera uniforme entre las del disolvente. Una suspensión es una dispersión (mezcla) en la cual se combinan especies finamente divididas con otras especies, estando las primeras tan finamente divididas y mezcladas que no se depositan de forma rápida. Para uso corriente, las suspensiones más comunes son las de sólidos en agua líquida. Entre los vehículos aceptables y disolventes que se pueden emplear están agua, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean aceites fijos y estériles de forma convencional como disolvente o medio de suspensión. Para aplicación parenteral, los vehículos particularmente apropiados consisten en disoluciones, preferentemente disoluciones oleosas o acuosas, así como suspensiones, emulsiones o implantes. Las suspensiones acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión e incluyen, por ejemplo, carboximetil celulosa de sodio, sorbitol y/o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores.

El término "tópico", según se usa en la presente memoria, se refiere a una administración de una composición de la invención en el punto de aplicación, o inmediatamente por debajo del mismo. La frase "aplicación tópica" describe una aplicación sobre una o más superficie(s) incluyendo superficies epiteliales. Aunque la administración tópica, al contrario que la administración transdérmica, generalmente proporciona un efecto local en lugar de sistémico, según se usa en la presente memoria, a menos que se afirme o implique lo contrario, las expresiones administración tópica y administración transdérmica se usan de manera intercambiable.

La administración tópica también puede implicar el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis que se preparan de acuerdo con técnicas y procedimientos bien conocidos en la técnica. Las expresiones "sistema de administración transdérmico", "parche transdérmico" o el término "parche" se refieren a un sistema adhesivo colocado sobre la piel para administrar una dosis de fármaco(s) de liberación retardada haciendo pasar la dosificación a través de la piel para que se encuentre disponible para su distribución por medio de la circulación sistémica. Los parches transdérmicos son una tecnología bien aceptada para su uso en la administración de una amplia variedad de sustancias farmacéuticas, incluyendo, pero sin limitarse a, escopolamina para mareos, nitroglicerina para el tratamiento de la angina de pecho, clonidina para la hipertensión, estradiol para las indicaciones pos-menopáusicas y nicotina para dejar de fumar. Los parches apropiados para su uso en la invención descrita incluyen, pero sin limitarse a (1) el parche matriz; (2) el parche de reserva; (3) el parche multi-laminado de fármaco en adhesivo; y (4) el parche monolítico de fármaco en adhesivo; TRANSDERMAL AND TOPICAL DRUG DELIVERY SYSTEMS, pp. 249-297 (Tapash K. Ghosh y col. eds., 1997). Estos parches se conocen bien en la técnica y generalmente están disponibles a nivel comercial.

Las composiciones de la invención descrita pueden estar en forma de un polvo seco apto para dispersión para administración por medio de inhalación o insuflado (bien a través de la boca o a través de la nariz). Se pueden preparar composiciones de polvo seco por medio de procesos conocidos en la técnica, tales como liofilización y molienda de chorro, como se divulga en la Patente Internacional de N°. Publicación WO 91/16038 y como se divulga en la patente de Estados Unidos N°. 6.921.527. Se coloca la composición de la invención descrita dentro de un receptáculo de dosificación apropiado en una cantidad suficiente para proporcionar a un sujeto con un tratamiento de dosificación unitaria. El receptáculo de dosificación es uno que se encaja dentro del dispositivo de inhalación apropiado para permitir la formación de un aerosol de la composición de polvo seco por medio de dispersión en una corriente de gas para formar un aerosol y posteriormente capturar el aerosol producido en una cámara que tiene una pieza de boca unida para la inhalación posterior por parte de un sujeto que necesita el tratamiento. Dicho receptáculo de dosificación incluye cualquier recipiente que encierra la composición conocida en la técnica tal como cápsulas de gelatina o de plástico con una parte desprendible que permite dirigir una corriente de gas (por ejemplo, aire) al interior del recipiente para dispersar la composición de polvo seco. Dichos recipientes se ejemplifican por medio de los mostrados en las patentes de Estados Unidos Nos. 4.227.522; 4.192.309 y 4.105.027. Los recipientes apropiados también incluyen los usados junto con el inhalador de polvo de marca Ventolin® Rotohaler de Glaxo o el inhalador de polvo de marca Spinhaler® de Fison. Se forma otro recipiente apropiado de dosis unitaria que proporciona una barrera de humedad a partir de un laminado de plástico de papel de aluminio. Se introduce el polvo de base farmacéutica, en peso o en volumen, en el interior de una depresión del papel metalizado apto para conformación y se sella herméticamente con un laminado de plástico-papel metalizado de recubrimiento. Dicho recipiente para su uso con un dispositivo de inhalación de polvo se describe en la patente de Estados Unidos N°. 4.778.054 y se usa con Diskhaler® de Glaxo (patentes de Estados Unidos Nos. 4.627.432; 4.811.731 y 5.035.237).

Las composiciones de la invención descrita pueden estar en forma de supositorios para administración rectal de la composición. "Rectal" o "por vía rectal", tal y como se usan en la presente memoria, hacen referencia a la introducción en el interior del cuerpo a través del recto donde tiene lugar la absorción a través de las paredes del recto. Estas composiciones se pueden preparar por medio de mezcla del fármaco con un excipiente no irritante apropiado tal como manteca de coco y polietilén glicoles que son sólidos a temperatura común pero líquidos a temperatura rectal y, por tanto, se funden en el recto y liberan el fármaco. Cuando se formulan como supositorio las composiciones de la invención se pueden formular con aglutinantes y vehículos tradicionales, tales como triglicéridos.

- 5 Los procedimientos de estas realizaciones son clínicamente útiles para el tratamiento de todo tipo de heridas con el fin de reducir la formación de adherencias, tanto para reducir la formación inicial de adherencias, como para el tratamiento terapéutico de las adherencias existentes. Para tratar las adherencias existentes, el procedimiento comprende las etapas de escindir la cicatriz de la adherencia después de su formación, tratar el punto de escisión con la composición de la invención y permitir que el punto de escisión se cure de manera más lenta.
- 10 En algunas realizaciones, los individuos que necesitan la terapia para tratar o limitar los trastornos fibróticos son los que padecen un riesgo de uno o más trastornos fibróticos asociados a la expresión del factor de crecimiento de tejido conectivo inducido por TGF- β ("CTGF"), incluyendo pero sin limitarse a, fibrosis tisular (incluyendo pero sin limitarse a fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis retroperitoneal, fibrosis quística, fibrosis de los vasos sanguíneos, fibrosis CNS y fibrosis de tejido cardíaco); nefropatía diabética, glomeruloesclerosis y nefropatía IgA (causas de insuficiencia renal y la necesidad de diálisis y re-transplante); retinopatía diabética y degeneración macular (enfermedades fibróticas del ojo y que conducen a causas de ceguera); cirrosis y atresia biliar (que conducen a causas de fibrosis e insuficiencia hepática); insuficiencia cardíaca congestiva; fibrosis pulmonar; escleroderma; adherencias abdominales y fibrosis intersticial. CTGF es una proteína rica en cisteína, asociada a matriz, que se une a heparina. CTGF juega un papel en la remodelación de matriz extracelular en la cicatrización de heridas, escleroderma y otros procesos fibróticos, y es capaz de sobre-regular tanto las metaloproteinasas de matriz (MMPs) como sus inhibidores (TIMPs).
- 15 En otras realizaciones, los individuos que necesitan la terapia para el tratar y/o limitar los trastornos fibróticos son aquellos con niveles elevados de uno o más de los siguientes biomarcadores: expresión de TGF β 1; Colágeno I; expresión CTGF; y alfa actina de músculo liso.
- 20 El factor de crecimiento de transformación beta (TGF β 1) es un miembro de polipéptido de la super-familia del factor de crecimiento de transformación beta de las citoquinas. Es una proteína segregada que lleva a cabo muchas funciones celulares, incluyendo el control del desarrollo celular, proliferación celular, diferenciación celular y apoptosis.
- 25 El colágeno de tipo I es el colágeno más abundante del cuerpo humano. Está presente en el tejido de las cicatrices. También se encuentra en los tendones, el endomisio de las miofibrillas y la parte orgánica de los huesos. El componente principal del colágeno de tipo I está codificado por el gen COL1A1.
- 30 La actina de músculo liso-alfa (alfa-sm) es una isoforma típica de las células de músculo liso (SMC) y está presente en cantidades elevadas en SMC vascular. Se utiliza alfa-sm como marcador de diferenciación de SMCs.
- 35 Se pueden detectar niveles elevados de dichos biomarcadores usando técnicas convencionales, incluyendo pero sin limitarse a, técnicas inmunológicas (ELISA, inmunocitoquímica, etc.) usando anticuerpos disponibles comercialmente frente a uno o más biomarcadores.
- 40 Como se divulga a continuación, los polipéptidos de la invención inhiben CTGF inducida por TGF- β I y la expresión de colágeno en fibroblastos queloides humanos, que son elevados en condiciones fibróticas, indicando que los individuos con niveles elevados de uno o más de estos biomarcadores pueden beneficiarse especialmente de los procedimientos de la invención descrita. Según se usa en la presente memoria, un nivel "elevado" de uno o más biomarcadores significa cualquier aumento por encima de lo normal para ese individuo o individuos situados de forma similar en un tejido diana de relevancia. Dichos tejidos diana son los que se ven afectados por condiciones fibróticas, incluyendo pero sin limitarse a sangre, exudado de heridas, y biopsias tomadas a partir de los tejidos afectados por fibrosis, incluyendo, pero sin limitarse a, los descritos anteriormente (piel, riñón, hígado, pulmón, peritoneo, vasos sanguíneos, corazón, retina, etc.). En varias realizaciones, un individuo que lo necesita es uno que tiene un nivel de uno o más de los biomarcadores citados de 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % o más por encima de los niveles normales. La determinación del nivel de uno o más biomarcadores puede llevarse a cabo usando técnicas convencionales en la técnica para medir la expresión de proteínas y/o genes, incluyendo, pero sin limitarse a, las divulgadas a continuación.
- 45 Se puede establecer un nivel "normal" de estos uno o más biomarcadores gracias a cualquier medio apropiado, incluyendo pero sin limitarse a determinar un nivel normal en ese individuo o individuos situados de forma similar en ausencia de afecciones fibróticas y/o queloides, o cualesquiera otros medios para establecer un estándar de referencia. Un procedimiento para tratar una enfermedad, trastorno o afección de acuerdo con la invención descrita comprende las etapas de (1) administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de acuerdo con la invención descrita; (2) controlar el nivel de al menos un biomarcador en un tejido diana, en el que al menos un biomarcador está seleccionado entre el grupo que consiste en: expresión de TGF β 1; expresión de colágeno I; expresión de CTGF; y expresión de actina de músculo liso- α ; y (3) mantener el nivel de biomarcador en el tejido diana sustancialmente en niveles normales durante el tratamiento.
- 50 Se puede establecer un nivel "normal" de estos uno o más biomarcadores gracias a cualquier medio apropiado, incluyendo pero sin limitarse a determinar un nivel normal en ese individuo o individuos situados de forma similar en ausencia de afecciones fibróticas y/o queloides, o cualesquiera otros medios para establecer un estándar de referencia. Un procedimiento para tratar una enfermedad, trastorno o afección de acuerdo con la invención descrita comprende las etapas de (1) administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de acuerdo con la invención descrita; (2) controlar el nivel de al menos un biomarcador en un tejido diana, en el que al menos un biomarcador está seleccionado entre el grupo que consiste en: expresión de TGF β 1; expresión de colágeno I; expresión de CTGF; y expresión de actina de músculo liso- α ; y (3) mantener el nivel de biomarcador en el tejido diana sustancialmente en niveles normales durante el tratamiento.
- 55 En otras realizaciones, se usa la composición para su uso en los procedimientos descritos de la presente memoria
- 60
- 65

para tratar o limitar la incidencia de la inflamación.

Los individuos que necesitan la terapia para tratar y/o limitar los trastornos inflamatorios y/o las enfermedades autoinmunitarias, con frecuencia, son los que tienen niveles elevados de uno o más de los siguientes biomarcadores: expresión TGF β 1; TNF- α ; IL-1; IL-6; IL-8; COX-2; MIP-1 α y MIP-2.

El factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α) es una citoquina implicada en la inflamación sistémica y es un miembro de un grupo de citoquinas que estimulan la reacción en fase aguda. TNF provoca la muerte celular apoptótica; proliferación celular, diferenciación, inflamación, tumorigénesis y replicación vírica.

La interleucina-1 (IL-1) es una citoquina formada por IL-1 α y IL-1 β . Tanto IL-1 α como IL-1 β se producen por medio de macrófagos, monocitos y células dendríticas. Forman una parte importante de la respuesta inflamatoria del cuerpo frente a la infección. Estas citoquinas aumentan la expresión de los factores de adherencia sobre las células endoteliales para permitir la transmigración de leucocitos a los puntos de infección y re-establecer el centro termorregulador del hipotálamo, conduciendo a una mayor temperatura corporal que se expresa por sí misma en forma de fiebre.

La interleucina-6 (IL-6) es una interleucina que actúa por un lado como citoquina inflamatoria y por otro, como citoquina anti-inflamatoria. Es segregada por las células T y los macrófagos para estimular la respuesta inmunológica frente a lesiones, especialmente quemaduras u otro daño tisular que conduce a inflamación.

La interleucina-8 (IL-8) es una quimioquina producida por macrófagos y otros tipos celulares tales como las células epiteliales. También está sintetizada por las células endoteliales, que almacenan IL-8 en sus vesículas de almacenamiento, los cuerpos de Weibel-Palade. La función principal de IL-8 es la introducción de la quimiotaxis en su células diana (por ejemplo, los granulocitos neutrófilos).

La ciclooxigenasa (COX) es una enzima (EC 1.14.99.1) que es responsable de la formación de mediadores biológicos importantes denominados prostanooides (incluyendo prostaglandinas, protaciclina y tromboxano). COX-1 y COX-2 son de peso molecular similar (de aproximadamente 70 y 72 kDa respectivamente) y tienen un 65 % de homología de secuencia de aminoácidos y sitios catalíticos casi idénticos. La diferencia más significativa entre las isoenzimas, que permite la inhibición selectiva, es la sustitución de isoleucina en la posición 523 de COX-1 por valina en COX-2. El residuo Val523 relativamente más pequeño de COX-2 permite el acceso a un hueco-lateral hidrófobo de la enzima (que Ile523 produce el impedimento estérico).

Las Proteínas Inflamatorias de Macrófago (MIP) pertenecen a la familia de las citoquinas quimiotácticas conocidas como quimioquinas. MIPs activan los granulocitos humanos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) que pueden conducir a una inflamación neutrófila aguda. También se inducen la síntesis y liberación de otras citoquinas pro-inflamatorias tales como interleucina 1 (IL-1), IL-6 y TNF- α a partir de fibroblastos y macrófagos. La proteína-1 inflamatoria de macrófago (MIP-1) es una monoquina que se ve implicada en el estado inflamatorio agudo del reclutamiento y activación de leucocitos polimorfonucleares.

Se pueden detectar niveles elevados de dichos biomarcadores usando técnicas convencionales, incluyendo, pero sin limitarse a, técnicas inmunológicas (ELISA, inmunocitoquímica, etc.) que emplean anticuerpos disponibles frente a uno o más biomarcadores.

Los síntomas característicos de la inflamación (para los cuales se pueden usar los procedimientos descritos para tratar o reducir la incidencia de) incluyen, pero sin limitarse a, enrojecimiento, calor, hinchazón, dolor, y disfunción de los órganos implicados. Los trastornos específicos inflamatorios que se pueden tratar, o cuya incidencia se puede reducir, por medio de los procedimientos descritos incluyen, pero sin limitarse a, asma, artritis (reumatoide o degenerativa), septicemia, choque endotoxémico, soriaris, enteritis provocada por radiación, escleroderma, cirrosis, fibrosis intersticial, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria, apendicitis, gastritis, laringitis, meningitis, pancreatitis y otitis.

Sin estar limitado por teoría, se piensa que la administración de polipéptidos descritos en la presente memoria a un paciente que necesita un tratamiento anti-inflamatorio evita la respuesta y/o la expresión de las citoquinas inflamatorias incluyendo, pero sin limitarse a, TGF β 1, el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina 1 (IL-1), IL-6, IL-8, COX-2, y proteína inflamatoria de macrófago (por ejemplo, MIP-1 α y MIP-2).

En todas las realizaciones anteriores de los procedimientos terapéuticos, se pueden usar los polipéptidos de la invención como único ingrediente activo, o se pueden combinar con uno o más de otros elementos para la indicación, como viene determinado por el médico que presta la atención sanitaria.

Según se usa en la presente memoria para todos los procedimientos, una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad eficaz" de uno o más polipéptidos es una cantidad que es suficiente para proporcionar el beneficio de tratamiento. Una cantidad eficaz de los polipéptidos que se pueden emplear generalmente varía entre

aproximadamente 0,01 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, preferentemente que varía entre aproximadamente 0,05 µg/kg y aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal. No obstante, los niveles de dosificación están basados en una variedad de factores, incluyendo el tipo de lesión, la edad, el peso, seco, afección médica del individuo, gravedad de la afección, ruta de administración y compuesto particular empleado. De este modo, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero se puede determinar de forma rutinaria por parte de un médico usando procedimientos convencionales.

La expresión "cantidad que evita la adherencia abdominal" de un polipéptido se refiere a una cantidad que es suficiente para inhibir, circunvenir, prohibir o reducir la formación, ocurrencia o riesgo de formación u ocurrencia de una adherencia abdominal en un sujeto.

El término "dispuesto", según se usa en la presente memoria, se refiere a colocar o poner en o sobre, de forma secuencial, no secuencial, aleatoria o no aleatoria, uniforme o no uniforme, una densidad, espesor, concentración o volumen.

El término "matriz", según se usa en la presente memoria, se refiere a una sustancia en cuyo interior se origina desarrolla o se encuentra presente algo.

En la presente solicitud, a menos que se afirme lo contrario, las técnicas utilizadas se pueden encontrar en cualesquiera de las referencias conocidas tales como: Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook y col., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press), Gene Expression Technology (Methods in Enzymology, Vol. 185, editado por D. Goeddel, 1991, Academic Press, San Diego, CA), "Guide to Protein Purification" en Methods in Enzymology (M.P. Deutschcer, ed., (1990) Academic Press, Inc.); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, y col., 1990. Academic Press, San Diego, CA), Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique 2^a edición (R.I. Freshney. 1987. Liss, Nueva York, NY) y Gene Transfer and Expression Protocols, pp. 109-128, cd. E. J. Murray, The Humana Press Inc., Clifton, N.J.).

Según se usa en la presente memoria, las formas en singular "un", "una" y "el", "ella" incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por ejemplo, una referencia a un "polipéptido" significa uno o más polipéptidos.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se comprende que cada valor que interviene, hasta una décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior y el límite inferior de este intervalo y cualquier otro valor afirmado o que interviene en este intervalo, queda englobado dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños que se pueden incluir de forma independiente en los intervalos más pequeños también quedan englobados dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido dentro del intervalo afirmado. Cuando el intervalo comentado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen ambos límites incluidos también quedan incluidos en la invención.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos científicos y técnicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el que se comprende de forma común por un experto en la técnica a la cual pertenece la invención. Aunque se pueden usar algunos procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o en el ensayo de la presente invención, ahora se describen los procedimientos y materiales preferidos. Todas las publicaciones mencionadas en la presente memoria divulgan y describen los procedimientos y/o materiales a los cuales se refieren las publicadas citadas.

Las publicaciones comentadas en la presente memoria se proporcionan únicamente para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Ninguna parte de la presente memoria debe interpretarse como una suposición de que la presente invención no es apta para anticiparse a la fecha de dicha publicación por medio de la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación actuales, cuya confirmación por independiente puede resultar necesaria.

Ejemplos

Se explican los siguientes ejemplos para proporcionar al experto en la técnica una divulgación completa y una descripción del modo de preparación y uso de la presente invención, y no se pretende que limiten el alcance de lo que los inventores mencionan como su invención y ellos tampoco pretenden que los experimentos siguientes sean todos o los únicos experimentos llevados a cabo. Se han llevado a cabo esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta ciertos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, las partes están en peso, el peso molecular es peso molecular medio expresado en peso, la temperatura está en grados Centígrados, y la presión es presión atmosférica o próxima.

Ejemplo 1. Modelo de Adherencia Intestinal

Se usan los experimentos en un modelo de adherencia intestinal de enfermedad humana para determinar el efecto

del polipéptido que tiene la secuencia SEC. N°. ID: 1. Se han usado estos modelos animales por parte de otros investigadores, y generalmente se aceptan como tal. Los efectos terapéuticos obtenidos con este modelo, por tanto, se pueden extrapolar a los procedimientos de tratamiento de sujetos humanos.

5 Se llevan a cabo estudios con animales en las instalaciones de animales acreditadas como AAALAC en Purdue University de acuerdo con National Institutes of Health Guide for Care and Use of Animals. Se incluyeron en el estudio ratas de Sprague-Dawley macho que pesaban entre 240 y 280 g. Se diseñaron las cohortes para incluir un control positivo, abrasión de ciego, sin tratamiento y control negativo, sin abrasión, sin tratamiento, así como cohortes adicionales para evaluar el procedimiento de suministro óptimo con el fin de evitar la adherencias intestinales. Todos los animales se mantuvieron en jaulas separadas en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se les proporcionó alimento y bebida a demanda, tanto antes como después de la cirugía. Se anestesió a todos los animales usando una inyección intraperitoneal de cetamina (75-100 mg/kg) y xilazina (5-10 mg/kg). Se mantuvo la anestesia con inyección intraperitoneal de una dosis de inducción de un 10 % de cetamina/xilazina. Se evaluaron los niveles anestésicos usando el procedimiento de punción en el dedo de la pata. También, se controlaron la respiración del animal y el color de la membrana mucosa durante el procedimiento. Se sacrificaron los animales usando una sobredosis de barbiturato (por ejemplo, Nembutal 120 mg/kg) o una disolución de eutanasia similar disponible comercialmente a la dosificación IV o IP recomendada.

20 Se prepararon las ratas anestesiadas para cirugía afeitando el abdomen inferior y limpiándolo con yodo. Se practicó una celiotomía divisoria a los animales, se identificó el ciego y se colocó sobre una almohadilla de tamiz metálico y se usó una disolución salina para mantener la humedad del tejido. Se sometió la pared del ciego a abrasión usando un limpiador de punta electro-quirúrgico de 1 x 1 cm, Johnson and Johnson, hasta que se apreció sangrado sobre la superficie anterior. Se creó un defecto de 1,6 mm x 0,8 mm en el peritoneo y músculo subyacente usando una punción de biopsia de 0,8 mm. Se irrigó la cavidad abdominal antes de la aplicación de los tratamientos. Se aplicó el tratamiento apropiado entre el ciego yuxtapuesto y el peritoneo lesionado. Específicamente, en la cohorte 1 el ciego sometido a abrasión se colocó en posición yuxtapuesta con respecto al peritoneo lesionado y se cerró la incisión quirúrgica. Se sometió la cohorte 2 únicamente a celiotomía y se cerró la incisión. Se irrigaron las cohortes adicionales con 10 ml de PBS que contenía la concentración apropiada, de inhibidor MK2. Si tiene lugar una lesión, tal como una perforación intestinal, durante la cirugía o falla la barrera para separar el tejido dañado, se retira el animal del estudio y se sustituye [Buckenmaier, C.C., 3ª, y col., Comparaison of antiadhesive treatments using an objective rat model. *Am. Surg.* 1999 65(3): p. 274-82; Zong, X., y col., Prevention of postsurgery-induced abdominal adhesions by electrospun bioabsorbable nanofibrous poli(lactide-co-glycolide)-bases membranres. *Ann. Surg.*, 2004, 240(5): p. 910-5].

35 Catorce días después de la cirugía se anestesiaron de nuevo las ratas como se ha descrito anteriormente y un cirujano, que mantuvo el anonimato con respecto a los tratamientos, llevó a cabo una segunda celiotomía para evaluar el alcance y la gravedad de las adherencias. La gran mayoría de los estudios con adherencias abdominales usan un sistema de puntuación de análogos visual en lugar de histología. Se usa el siguiente sistema de puntuación: 0 = sin adherencias; 1 = adherencias finas y con forma de película, que se separan fácilmente, 2 = importantes y con forma de película, difíciles de separar del tejido y 3 = graves con fibrosis, se requieren instrumentos para separar los tejidos. Se apreció el número de animales en cada grupo con adherencias y la gravedad de las mismas y posteriormente se comparó a través de grupos usando análisis de ANOVA para determinar la mejor combinación de tratamiento (barrera, tasa de liberación de fármaco y concentración) para inhibir adherencias.

45 **Ejemplo 2. Eficacia del péptido de YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. N°. ID: 1] para Evitar Adherencias y su Efecto sobre la Anastomosis Intestinal.**

50 Se han usado experimentos en un modelo de adherencia intestinal en animales de enfermedad humana para determinar la eficacia de un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos SEC. N°. ID: 1 para evitar adherencias y sobre la anastomosis intestinal. Debido a que se ha usado este modelo con animales por parte de otros investigadores, y generalmente se acepta como tal, se pueden extrapolar los resultados terapéuticos con este modelo a procedimientos de tratamiento de sujetos humanos.

55 Se introdujeron ratas macho de Sprague Dawley (40) en jaulas de forma individual y se permitió un período de aclimatación de 5 días. Se ofreció a todos los animales alimento y agua a demanda, usando alimento de laboratorio convencional en forma de pellas. Se pre-trató a todos los animales con buprenofrina (50 µg/kg), inyectada por vía sub-cutánea de forma pre-operativa media hora antes de la cirugía para el control del dolor. Se logró la anestesia usando cetamina (35 mg/kg) IM en la pata trasera derecha y xilazina (4 mg/kg) IM en la pata trasera izquierda.

60 Tras lograr los niveles anestésicos apropiados, se esquiló el pelo del abdomen y se preparó con una disolución de betadina. Se realizó una incisión abdominal divisoria vertical de 3 cm usando una cuchilla 15. Se sometió a retracción el intestino delgado de forma superior y se dejó el colon descendente expuesto. Se dividió el colon sigmoideo de manera precisa aproximadamente 2 cm por encima de la reflexión peritoneal. Usando 6-0 Prolene, se colocaron 8 suturas interrumpidas para crear una anastomosis cosida a mano.

65 También se colocaron puntos de sutura adicionales sobre cualesquiera áreas con huecos visibles.

- Antes de cerrar, se colocaron 5 ml de disolución de ensayo (fármaco de péptido disuelto en disolución salina normal, concentración final de 100 µM) o disolución salina sobre la anastomosis y en el interior de la cavidad abdominal y la pelvis. Posteriormente, se cerró el abdomen de manera corriente y continua con una sutura de seda de 3-0, y se cerró la piel de la misma manera en forma de una capa separada. Se colocaron los animales en una área de recuperación sobre bombas de calentamiento de Gaymar hasta que se despertaron completamente de la anestesia. Se inyectó buprenorfina adicional 4 horas después de la cirugía así como a la mañana siguiente para el control del dolor.
- Se llevó a cabo el sacrificio de 4 a 10 días después de la fecha de cirugía (se operó a 10 animales, 5 de cada grupo cada día). Se escogieron de forma deliberada los puntos de sacrificio ya que, trascurridos 4 días, cabía esperar que el efecto sobre la integridad del intestino, si existiese, fuera el más prominente; y 2) un marco temporal de 10 días es el de formación máxima de adherencias.
- Se sometieron los animales a eutanasia con Euthasol (200 mg/kg). Se introdujo en la cavidad abdominal usando una incisión para-mediana lateral izquierda; posteriormente se llevaron a cabo dos incisiones horizontales en los ápices de la incisión para poder tirar de una aleta hacia atrás y evaluar la formación de adherencias en la pared abdominal anterior sin dañar de manera inadvertida ningún tejido.
- Posteriormente, se identificó la anastomosis tras retracción cuidadosa de cualquier víscera no adherente de recubrimiento. Se mantuvo en su sitio cualquier formación de adherencia directamente sobre la anastomosis con idea de no retirar o alterar esta zona. Se tomaron fotografías de la anastomosis para evaluación posterior. Esta es la segunda parte del sistema de puntuación de adherencia. Se asignó un "1" a cada tejido que se mostró adherente a las anastomosis, incluyendo la grasa del epidídimo, epiplón, intestino delgado e intestino grueso. Se añadieron todas las posibilidades como parte de la puntuación acumulada.
- Posteriormente se midió la presión de explosión colónica. Usando un nudo de seda, se extrajo el colon en posición distal con respecto a la anastomosis libre de heces y ligado. Se extrajo con precaución el resto de cualesquiera contenidos del colon en la posición proximal y posteriormente se dividió el colon de forma precisa en la parte proximal con respecto a la anastomosis. Se introdujo un angi-catéter de calibre 18 en el interior de la luz del colon y, de nuevo, se usó un nudo de seda para atar el extremo proximal, incluyendo el angio-catéter para fijarlo en su sitio y garantizar la ausencia de fugas. Se conectó el angio-catéter a un transductor de presión, y se pre-ajustó una bomba de infusión para suministrar 300 cm³/h de disolución salina normal como medio de aumento gradual de la presión en el interior del colon. El momento en el cual el colon comenzó perder disolución salina o la presión disminuyó de forma repentina se registró como la presión de explosión, independientemente de si la fuga tuvo lugar en la anastomosis o fuera de la línea de sutura.
- A continuación, se clasificó la densidad y la tenacidad de las adherencias a la anastomosis. Se desgarraron las adherencias o se diseccionaron a partir de la anastomosis y se clasificaron de acuerdo con la dificultad de disección. Esta puntuación fue incluida como parte del total acumulado.
- Posteriormente se practicó una escisión en la anastomosis con un margen de 5 mm en cada lado. Se almacenó una parte a -20 °C para el análisis de hidroxiprolina, como un índice de contenido de colágeno. Se colocó el otro segmento de la anastomosis en ARNlater para el posible análisis Northern en un momento posterior.

Tabla 1. Sistema de puntuación de la adherencia:

Ubicación de la adherencia	Puntuación
Adherencias a la pared abdominal	1
Epid. Grasa a anastomosis	1
Intestino delgado a anastomosis	1
Colon a anastomosis	1
Epiplón a anastomosis	1
Densidad	Puntuación
Ligera, con forma de película, de fácil disección	1
Moderada, adherente, se requiere cierta fuerza	2
Fuerte, requiere disección precisa	3

En teoría, la puntuación más pequeña posible es 0, la puntuación más elevada posible es 8.

- Los animales pierden una cantidad significativa de peso durante las primeras 48-72 horas pero luego lo recuperan. Hubo una muerte anestésica en el grupo de péptido en el grupo de 4 días. En el grupo de 10 días, hubo dos muertes después de la operación en el grupo de control, una procedente del vólvulo del colon transversal 5 días después de la cirugía y otra procedente de fuga en la anastomosis 7 días después de la cirugía; hubo una muerte en el grupo de

péptido en el día 6 postoperatorio, pero la autopsia no reveló causa obvia. La mortalidad total para estos dos experimentos fue, por tanto, de un 10 %.

- 5 Como se muestra en la Tabla 2, existe cierta pérdida de peso inicial en el grupo tratado con péptido, no obstante, en el día diez, la pérdida de peso no es significativa y, de hecho, es menor que la observada en el grupo de control. Se determinó la síntesis de colágeno normal a través de medición del contenido de hidroxiprolina (OHP, usado para determinar el contenido de colágeno) sin productos de oxidación a partir del tejido en el punto de anastomosis. No se observó inhibición en la cicatrización normal basado en el contenido de OHP y la fuerza de explosión. Las puntuaciones de adherencia demuestran una reducción significativa en el número y la gravedad de las adherencias formadas en el día 10.
- 10

Tabla 2. Sumario de Datos - Media \pm SEM

	Aumento de peso (acumulado)	Presión de explosión (mm de Hg)	Anastomosis OHP	Puntuación de Órgano de Adherencia	Puntuación de la Gravedad de la Adherencia	Puntuación Acumulada de la Adherencia
Control de 4 días	0,7 \pm 4,3	96 \pm 32	2679 \pm 475	2,2 \pm 0,2	2,4 \pm 0,2	4,7 \pm 0,4
Péptido de 4 días	-3,3 \pm 5,2	86 \pm 13	2055 \pm 184	2,0 \pm 0,2	2,1 \pm 0,2	4,1 \pm 0,3
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Control de 10 días	-5,6 \pm 3,1	191 \pm 29	4980 \pm 205	3,4 \pm 0,3	2,6 \pm 0,2	6,0 \pm 0,3
Péptido de 10 días	-1,3 \pm 3,7	175 \pm 27	5284 \pm 218	2,1 \pm 0,2	1,5 \pm 0,3	3,8 \pm 0,4
P	NS	NS	NS	0,003	0,023	0,00296 \pm 32

- 15 Se usa hidroxiprolina oxidada (OHP) a partir del orificio de anastomosis para medir la síntesis de nuevo colágeno con el fin de confirmar que el fármaco no está impidiendo la cicatrización normal.

Según se usa en la Tabla 2, "presión de explosión" se refiere a la presión interna mínima que provoca la ruptura del colon o la apertura del mismo.

- 20 El péptido disminuyó de forma significativa tanto el número como la calidad de las adherencias en el día 10 (momento más relevante) sin afectar a la presión de explosión del intestino o al contenido de OHP en el día 4 (más relevante) o en el día 10.

- 25 Aunque se ha descrito la presente invención con referencia a sus realizaciones específicas, debería comprenderse por parte de los expertos en la técnica que se pueden llevar a cabo varios cambios y que se pueden sustituir equivalentes sin que ello suponga apartarse del ámbito de la invención. Además, se pueden llevar a cabo muchas modificaciones para adoptar una situación particular, material, composición de interés, proceso, etapa de proceso o etapas, con respecto al ámbito de la presente invención. Se pretende que todas las modificaciones se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas al presente documento.

30 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Panitch, Alyssa

- 35 <120> Polipéptido para Tratar o Evitar Adherencias

<130> 117477.010101

<150> Documento US 61/106.834

- 40 <151> 2008-10-20

<160> 1

<170> versión de patente 3.5

- 45

<210> 1

<211> 22

<212>PRT

<213> desconocido

- 50

<220>

<223> MAMÍFERO

ES 2 507 496 T3

<400> 1

Tyr Ala Arg Ala Ala Ala Arg Gln Ala Arg Ala Lys Ala Leu Ala Arg
1 5 10 15

Gln Leu Gly Val Ala Ala
20

5

10

15

20

25

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Una composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias en un sujeto que lo necesita, que comprende una cantidad que evita adherencias de un polipéptido que tiene la secuencia YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. N^o. ID: 1] y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 2. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la adherencia está seleccionada entre una adherencia abdominal, adherencia pélvica o una adherencia cardíaca.
- 15 3. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición se aplica de forma tópica.
4. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la composición se aplica de forma tópica por medio de un dispositivo biomédico.
- 20 5. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición se aplica de forma parenteral.
6. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar adherencias de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la composición se aplica de forma parenteral por medio de un dispositivo biomédico
- 25 7. Una composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia que comprende un ácido nucleico aislado que codifica un polipéptido con al menos un 85 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N^o. ID: 1], en el que el polipéptido evita adherencias.
- 30 8. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el ácido nucleico aislado codifica un polipéptido con al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N^o. ID: 1].
- 35 9. La composición para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el ácido nucleico aislado codifica un polipéptido con al menos un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a [SEC. N^o. ID: 1], en el que el polipéptido evita adherencias abdominales.
- 40 10. Un dispositivo biomédico para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia, que comprende una cantidad que evita la adherencia de un polipéptido que tiene la secuencia YARAAARQARAKALARQLGVAA [SEC. N^o. ID: 1] dispuesta sobre o en el dispositivo.
- 45 11. El dispositivo biomédico para su uso en el procedimiento para tratar o evitar una adherencia de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la adherencia está seleccionada entre una adherencia abdominal, una adherencia pélvica o una adherencia cardíaca.
12. El dispositivo biomédico para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el polipéptido se encuentra dispuesto en una matriz dispuesta sobre el dispositivo.
13. El dispositivo biomédico para su uso en un procedimiento para tratar o evitar una adherencia de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la matriz es un revestimiento de heparina.