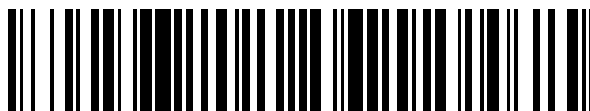


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 526**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/17** (2006.01)

**A61K 38/16** (2006.01)

**A61K 31/728** (2006.01)

**A61K 9/70** (2006.01)

**A61K 47/38** (2006.01)

**A61P 17/00** (2006.01)

**A61P 1/00** (2006.01)

**A61K 47/10** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 47/36** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2010 E 10778522 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.12.2014 EP 2432492**

54 Título: **Aplicación y usos de PRG4 y modulación terapéutica de la misma**

30 Prioridad:

**22.05.2009 US 180525 P**

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

**27.03.2015**

73 Titular/es:

**LUBRIS, LLC (50.0%)  
111 Speen Street, Suite 303  
Framingham, MA 01701, US y  
SCHEPENS EYE RESEARCH INSTITUTE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SULLIVAN, BENJAMIN;  
SCHMIDT, TANNIN;  
TRUITT, EDWARD R.;  
TRUITT, NICOLE BARBARA JUSTIS y  
SULLIVAN, DAVID**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**ES 2 532 526 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

Aplicación y usos de PRG4 y modulación terapéutica de la misma

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a los usos de la proteína PRG4 (incluyendo proteoglicanos de la misma) y/o a la modulación terapéutica de la misma. En particular, la presente invención se refiere a composiciones y a métodos de la misma, incluyendo lubricación quirúrgica, lubricación deportiva, tratamiento de enfermedades asociadas con lubricación límite comprometida en la cavidad bucal, un relleno dérmico, métodos de administración de fármacos y para lubricación para la lactancia.

**Antecedentes**

15 El gen de proteoglicano 4 (*prg4*) codifica para proteínas altamente glicosiladas denominadas factor estimulante de megacariocitos (MSF), lubricina y proteína de la zona superficial (SZP). La lubricina se aisló por primera vez del líquido sinovial y demostró una capacidad de lubricación *in vitro* similar al líquido sinovial en una superficie de contacto cartilago-vidrio. Más tarde se identificó la lubricina como un producto de fibroblastos sinoviales. También se han descrito oligosacáridos  $\beta(1-3)\text{Gal-GalNAc}$  unidos en O dentro de un dominio similar a mucina grande de 20 940 aminoácidos, codificados por el exón 6. La SZP se localizó por primera vez en la superficie de cartilago explantado de la zona superficial y se aisló de medio condicionado. Estas moléculas (así como proteoglicanos unidos en O de las mismas) se denominan colectivamente PRG4 en el presente documento. Se ha mostrado que PRG4 está presente en el interior del cuerpo en la superficie de membrana sinovial, tendón y menisco, pero no ha habido ninguna descripción del uso de PRG4 como lubricante para los fines descritos en el presente documento.

25 **Sumario de la invención**

La presente invención proporciona, en diversas realizaciones, composiciones, y métodos de uso de las mismas, para el tratamiento de la lubricación. En diversas realizaciones, tal lubricación incluye, a modo de ejemplo no limitativo, uso como lubricante quirúrgico, uso en un tratamiento para la prevención o la reducción de adherencias posquirúrgicas, uso en un tratamiento para úlceras bucales, uso como parche lubricante deportivo, uso como relleno dérmico, uso en un tratamiento para la sequedad de boca, uso en una composición o un método de administración de fármacos y uso en la lubricación para la lactancia. Además, en el presente documento se proporciona proteína PRG4 (por ejemplo, proteína PRG4 purificada o aislada) para su uso en el tratamiento de cualquiera de los 30 trastornos mencionados anteriormente (o cualquier otro trastorno descrito en el presente documento).

En una realización, se proporcionan tales composiciones y métodos para el reabastecimiento y el enriquecimiento terapéuticos de moléculas lubricantes límite en la cavidad bucal. En determinadas realizaciones de la presente invención se describe la observación de que ARNm de PRG4 se expresa en tejido submandibular de ratón, lo que indica que la proteína PRG4 se secreta a la cavidad bucal. La figura 1 ilustra la expresión de ARNm de PRG4 en 40 diversas glándulas submandibulares de ratón. Se examinaron muestras amplificadas para determinar la presencia de productos de PRG4 usando electroforesis en gel de agarosa. Los carriles verticales 11-16 contienen ARNm de PRG4 verificado, amplificado, de tejidos de glándulas submandibulares de 6 ratones diferentes.

45 En determinados casos de la presente invención se describe la observación de que la proteína PRG4 protege la cavidad bucal (incluyendo la garganta) frente a fuerzas de cizalladura significativas generadas durante el comer, la conversación, la deglución, el habla y/u otras funciones bucales. En determinados casos de la presente invención se describe además la observación de que los mecanismos moleculares de lubricación límite encontrados en cartilago, incluyendo la capacidad de componentes secretados para mediar la tensión de cizalladura en presencia de carga 50 dinámica, son probablemente útiles cuando se usan para lubricar la cavidad bucal.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona una composición para el cuidado bucal adecuada para la aplicación tópica a la cavidad bucal de un paciente de una preparación que contiene una cantidad terapéutica de una concentración terapéuticamente eficaz de una proteína PRG4 (incluyendo por ejemplo, una 55 proteína PRG4 que está glicosilada, por ejemplo, un proteoglicano unido en O). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica para el cuidado bucal comprende proteína PRG4 suspendida en una solución salina acuosa equilibrada osmóticamente, un emulsionamiento multifásico, un gel, un líquido, una crema, una pomada, una pulverización, una disolución viscosa o encapsulada dentro de dispositivos de liberación lenta o en una pastilla para chupar.

60 En determinadas realizaciones, la composición para el cuidado bucal de la presente invención comprende además diversos extractos de aceite, edulcorantes, estimulantes de glándulas salivales, conservantes y aromatizantes. En determinadas realizaciones, la composición para el cuidado bucal comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de hialuronato de sodio. En determinadas realizaciones, la composición para el cuidado 65 bucal comprenderá además un anestésico local tal como lidocaína, lignocaína o prilocaína.

La presente invención proporciona un método para tratar xerostomía o síntomas asociados con la misma (incluyendo síntomas de xerostomía asociada con síndrome de Sjögren, alergia, trastornos de la superficie bucal, inflamación crónica, hiperosmolaridad, envejecimiento, fármacos de venta con receta o de venta sin receta, radioterapia, quimioterapia, daño nervioso o cualquier combinación de los mismos) que comprende administrar por vía tópica a la cavidad bucal (o a una úlcera dentro de la cavidad bucal) en un individuo que lo necesita, una cantidad eficaz de cualquier composición para el cuidado bucal descrita en el presente documento. En una realización adicional, la presente invención proporciona un método para tratar úlceras bucales que comprende administrar por vía tópica a una úlcera en la cavidad bucal en un individuo que lo necesita, una cantidad eficaz de la composición para el cuidado bucal de la presente invención.

Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan una composición lubricante adecuada para su uso durante procedimientos médicos y quirúrgicos incluyendo, a modo de ejemplo no limitativo: la inserción de catéteres, endoscopios, instrumentos quirúrgicos, guantes en orificios corporales, como agentes auxiliares quirúrgicos y/o implantes temporales, como implantes de hidratación, y para su uso en extracción de cataratas, fotoqueratectomía, inserción y retirada de lentes intraoculares (IOL), cirugía de córnea, cirugía de glaucoma, cirugía de traumatismos, cirugía de segmento posterior, cirugía plástica ocular y cirugía de músculos que comprende PRG4 en una solución salina quirúrgicamente aceptable.

En determinadas realizaciones, cualquier composición lubricante descrita en el presente documento comprende además hialuronato de sodio. En determinadas realizaciones, la composición lubricante de la presente invención comprende además excipientes y demulcentes adicionales, incluyendo, pero sin limitarse a, carboximetilcelulosa sódica, hidroxietilcelulosa, hipromelosa, metilcelulosa, dextrano 70, gelatina, glicerina, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, polisorbato 80, propilenglicol, poli(alcohol vinílico) y povidona. En determinadas realizaciones, cualquier composición lubricante descrita en el presente documento comprende además uno o más anestésicos locales seleccionados del grupo que consiste en lidocaína, lignocaína y prilocaína. En determinadas realizaciones, cualquier composición lubricante descrita en el presente documento comprende además uno o más antisépticos seleccionados del grupo que consiste en gluconato de clorhexidina, cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de bencetonio, alcohol, cloruro de sodio y bicarbonato de sodio.

Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan un método para proporcionar lubricación para su uso en cirugía o procedimientos médicos que comprende la aplicación tópica de cualquier composición de lubricación descrita en el presente documento a cualquier instrumento médico u otra superficie implicada en el procedimiento. En diversas realizaciones, los procedimientos médicos o quirúrgicos incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, la inserción de catéteres, endoscopios, instrumentos quirúrgicos, guantes en orificios corporales, como agentes auxiliares quirúrgicos y/o implantes temporales, como implantes de hidratación, y para su uso en extracción de cataratas, fotoqueratectomía, inserción y retirada de lentes intraoculares (IOL), cirugía de córnea, cirugía de glaucoma, cirugía de traumatismos, cirugía de segmento posterior, cirugía plástica ocular y cirugía de músculos.

Algunas realizaciones de la presente invención proporcionan un método de prevención o reducción de la fricción durante el movimiento ambulatorio que comprende la aplicación de cualquier composición de lubricación adecuada descrita en el presente documento (por ejemplo, un gel acuoso, sol, disolución o parche adhesivo que contiene PRG4) a la zona de interés. En determinadas realizaciones de la presente invención, la composición (por ejemplo, un parche adhesivo) comprende además ácido hialurónico. En determinadas realizaciones de la presente invención, la composición (por ejemplo, un parche adhesivo) comprende además un polímero, un excipiente o un demulcente que aumenta el tiempo de residencia.

Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan una composición dermatológica adecuada para su uso como relleno dérmico inyectable que comprende una concentración dermatológicamente eficaz de PRG4 en combinación con (por ejemplo, suspendida en) un medio o vehículo dermatológicamente aceptable (por ejemplo, una disolución viscosa). En determinadas realizaciones, una composición dermatológica de la presente invención comprende además una cantidad dermatológicamente eficaz de ácido hialurónico. En una realización, el uso dermatológico es para reducir la aparición de tejido cicatricial.

En determinadas realizaciones, cualquier composición dermatológica de la presente invención comprende además una cantidad dermatológicamente eficaz de colágeno, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y/o poli(óxido de etileno). En determinadas realizaciones, cualquier composición dermatológica de la presente invención comprende además un fármaco seleccionado del grupo que consiste en fármacos antitrombogénicos, fármacos antiinflamatorios, hormonas, factores quimiotácticos, analgésicos, factores de crecimiento, citocinas, factores osteogénicos y anestésicos. En determinadas realizaciones, cualquier composición dermatológica de la presente invención comprende además ácido retinoico y/o agua reducida con deuterio.

Algunas realizaciones de la presente invención proporcionan un método para la restauración del volumen tisular, turgencia cutánea, textura y firmeza en la piel (por ejemplo, en el rostro o zonas seleccionadas del cuerpo) de una persona que comprende las etapas de inyectar una composición dermatológica de la presente invención en la dermis o la hipodermis. En diversas realizaciones, pueden producirse el tratamiento y la inyección en una o más zonas del rostro, o zonas seleccionadas del cuerpo de una persona, incluyendo, pero sin limitarse a, la zona

periorbitaria, los labios, la zona malar, los pliegues nasolabiales, los pliegues labiomandibulares, el cuello o las manos.

5 Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan un método para proporcionar (por ejemplo, facilitar) administración de fármacos, comprendiendo el método administrar un agente bioactivo a un individuo, administrándose el agente bioactivo en una composición que comprende: una mezcla de un agente bioactivo y un portador que comprende PRG4.

10 En determinadas realizaciones de la presente invención, el agente bioactivo comprende un fármaco, un péptido, una proteína, un anticuerpo o fragmento del mismo, un ácido nucleico o un agente de obtención de imágenes. En otra realización, el portador de administración comprende además hialuronato de sodio. En determinadas realizaciones de la presente invención, el portador de administración comprende además un fosfolípido tensioactivo seleccionado del grupo que consiste en L- $\alpha$ -dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomielina. Puede lograrse la administración física de la mezcla mediante administración tópica, inyección o por vía oral, o mediante cualquier otra técnica de administración adecuada.

15 Algunas realizaciones de la presente invención proporcionan un método de prevención o reducción de la fricción durante la lactancia (lactancia materna) que comprende aplicar a una superficie que lo necesita (por ejemplo, un pezón, una areola y/o una mama) cualquier composición de lubricación descrita en el presente documento (por ejemplo, un gel acuoso, sol, disolución o un parche adhesivo) que contiene PRG4. En determinadas realizaciones de la presente invención, cualquier composición descrita en el presente documento (por ejemplo, un parche adhesivo) comprende además ácido hialurónico, lanolina, glicerina, o similar. En determinadas realizaciones de la presente invención, cualquier composición (por ejemplo, un parche adhesivo) comprende además un polímero, un excipiente o un demulcente que aumenta el tiempo de residencia.

25

#### **Incorporación mediante referencia**

Todas las publicaciones y solicitudes de patente mencionadas en esta memoria descriptiva se incorporan al presente documento mediante referencia para el fin citado.

30

#### **Breve descripción de los dibujos**

35 Las características novedosas de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Se obtendrá un mejor entendimiento de las características y ventajas de la presente invención mediante referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que se usan los principios de la invención, y los dibujos adjuntos de los cuales:

40 La figura 1 ilustra la expresión de ARNm de PRG4 de ratón, tal como se demuestra mediante electroforesis en agarosa tras la amplificación en tejido de glándula submandibular. Se verificó el ARNm mediante secuenciación.

45 La figura 2 ilustra una secuencia de aminoácidos de PRG4 así como secuencias de cebadores de ácido nucleico para amplificación por PCR del ARNm de PRG4.

#### **Descripción detallada de la invención**

50 Aunque en el presente documento se han mostrado y descrito realizaciones preferidas de la presente invención, será evidente para los expertos en la técnica que tales realizaciones se proporcionan sólo a modo de ejemplo. Ahora se les ocurrirán numerosas variaciones, cambios y sustituciones a los expertos en la técnica sin apartarse de la invención. Debe entenderse que en la práctica de la invención pueden emplearse diversas alternativas a las realizaciones de la invención descritas en el presente documento. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la invención y que métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes queden cubiertos por las mismas.

55 Se mostró la importancia funcional de PRG4 mediante mutaciones que provocan el síndrome patológico de camptodactilia-artropatía-coxa vara-pericarditis (CACP) en seres humanos. CACP se manifiesta mediante camptodactilia, artropatía no inflamatoria y sinovitis hipertrófica, con deformidad coxa vara, pericarditis y derrame pleural. Además, en ratones negativos para PRG4, se observaron deterioro de cartílagos y posterior fallo articular. Por tanto, la expresión de PRG4 es un componente necesario de articulaciones sinoviales sanas.

60 PRG4 es un miembro de la familia de mucinas, que son generalmente abundantes en revestimientos epiteliales y proporcionan muchas funciones, incluyendo lubricación y protección frente a microorganismos invasores. Las propiedades funcionales de las mucinas se determinan generalmente mediante patrones de glicosilación especializados y su capacidad para formar multímeros a través de enlaces disulfuro intermoleculares, ambas de las cuales están alteradas en enfermedades crónicas (por ejemplo, fibrosis quística, asma). La caracterización bioquímica de PRG4 aislada del líquido sinovial mostró heterogeneidad molecular en O-glicosilación, lo que parece mediar las propiedades de lubricación. Datos preliminares en PRG4 de líquido sinovial bovino han revelado la

65

presencia de dímeros con enlace disulfuro, además de las formas monoméricas, predichos a partir de los dominios ricos en cisteína conservados en extremos tanto N como C-terminales, junto con una cisteína no emparejada en el extremo C-terminal.

5 Se han clasificado modos fisicoquímicos de lubricación como de película de líquido o límite. Los modos de lubricación operativa dependen de las fuerzas normales y tangenciales sobre los tejidos de articulación, de la tasa de movimiento tangencial entre estas superficies y del historial temporal tanto de carga como de movimiento. El coeficiente de fricción,  $\mu$ , proporciona una medida cuantitativa, y se define como la razón de la fuerza de fricción tangencial con respecto a la fuerza normal. Un tipo de modo de lubricación mediado por líquidos es el hidrostático.

10 Al comienzo de la carga, y normalmente durante una duración prolongada, el líquido intersticial se presuriza, debido a la naturaleza bifásica del tejido; también puede forzarse líquido al interior de las asperezas entre superficies articulares mediante un mecanismo rezumante. Por tanto, líquido intersticial presurizado y reservas de lubricante atrapado pueden contribuir significativamente al soporte de carga normal con poca resistencia a la fuerza de cizalladura, proporcionando un  $\mu$  muy bajo. Además, al comienzo de la carga y/o el movimiento, se producen tipos

15 de lubricación de película de líquido de compresión, hidrodinámica y elastohidrodinámica, actuando la presurización, el movimiento y la deformación para impulsar el lubricante viscoso desde y/o a través del hueco entre dos superficies en movimiento relativo.

En algunos casos, el grado relevante al que se produce lubricación de presión/película de líquido frente a lubricación límite depende de varios factores. Cuando la película lubricante puede fluir entre las superficies deslizantes de conformación, que pueden deformarse elásticamente, se produce lubricación elastohidrodinámica. La presión, la rugosidad de superficie y la velocidad de deslizamiento relativa determinan cuándo empieza a descomponerse la lubricación de líquido completa y la lubricación entra en nuevos regímenes. A medida que la velocidad disminuye

20 adicionalmente, películas lubricantes adherentes a las superficies de articulación empiezan a contribuir y se produce un régimen mixto de lubricación. Si la velocidad disminuye incluso adicionalmente y sólo queda una capa lubricante ultrafina compuesta por una pocas moléculas, se produce lubricación límite. Por tanto, en determinados casos, un modo de lubricación límite se indica mediante un coeficiente de fricción (razón de la fuerza de fricción medida entre dos superficies de contacto en movimiento relativo con respecto a la fuerza normal aplicada) durante deslizamiento constante que es invariable con factores que influyen en la formación de una película de líquido, tales como la

25 velocidad de deslizamiento relativa y la carga axial. Para determinados tejidos en el cuerpo, tales como cartílago articular, se ha concluido que se produce lubricación límite, y se complementa mediante presurización de líquidos y otros mecanismos. Sin embargo, no se ha buscado anteriormente el uso de agentes para lubricación límite para los fines y usos descritos en la presente invención dado que, por ejemplo, se ha supuesto que los modos de lubricación dominantes son hidrodinámicos y elastohidrodinámicos. Además, tradicionalmente los tratamientos de productos

30 creados para las aplicaciones propuestas en el presente documento, se han centrado en lubricación o hidratación en fase líquida viscosa con polímeros de cadena larga tales como policarbófilos, polietilenglicoles y glicerina. Los ejemplos de enfoques de película de líquido incluyen Biotene, Orex, Salivart para xerostomía, Blistex para úlceras bucales, Surgilube y Healon para aplicaciones quirúrgicas, y Restylane y JuveDerm para rellenos dérmicos. Para la invención reivindicada en el presente documento, la lubricación óptima puede abarcar un modo límite potenciado o implicar una combinación de un modo límite potenciado y lubricación de película de líquido.

35

40

En la lubricación límite, la carga está soportada mediante el contacto superficie a superficie, y las propiedades de fricción asociadas se determinan mediante moléculas superficiales lubricantes. En determinados casos, este modo puede ser importante dado que la superficie tisular opuesta hace contacto en más del ~10% del área total, y esto puede ser cuando se produce la mayor parte de la fricción. Además, en algunos casos, con aumento del tiempo de

45 carga y disipación de presión hidrostática, superficies recubiertas con lubricante soportan una parte cada vez mayor de la carga con respecto a líquido presurizado, y por consiguiente, este modo puede volverse cada vez más dominante. En determinados casos, la lubricación límite mitiga el deslizamiento intermitente, y por tanto se manifiesta como una disminución en la resistencia tanto al movimiento constante como al inicio de movimiento. En

50 algunos casos, esta última situación es relevante para superficies que soportan cargas tras una carga de compresión prolongada (por ejemplo, sentarse o estar de pie *in vivo*). Los patrones de desgaste típicos de superficies articulares, tales como en cartílago, también ilustran que en algunos casos la lubricación límite es importante para la protección y el mantenimiento de la estructura tisular. En algunos casos, la carga de la cavidad bucal se somete a (por ejemplo, está dominada por) fuerzas de cizalladura, generando la masticación tensión

55 significativa sobre las células superficiales y el esmalte dental. Además, en estados patológicos que regulan por disminución la producción de lubricantes dentro de la cavidad bucal o actúan para atrofiar células epiteliales, la tensión de cizalladura rutinaria también puede plantear un fuerte riesgo de degradación e inflamatorio. Atrofia grave o sequedad provocada de manera yatrogénica debido a tratamientos contra el cáncer tales como tamoxifeno, antihistamínicos, antidepresivos o medicamento para tensión arterial alta también pueden hacer que los niveles

60 normales de tensión de cizalladura sean dolorosos.

En algunos casos, la acumulación de PRG4 dentro del líquido entre superficies de articulación, así como su propensión a unirse espontáneamente a una matriz tisular, contribuyen a la capacidad de lubricación límite de PRG4.

65

En determinadas realizaciones descritas en el presente documento, se da a conocer que el proteoglicano 4 (PRG4)

desempeña un papel como lubricante límite a lo largo de las paredes de la cavidad bucal. En algunas realizaciones, esta glicoproteína (PRG4) protege las superficies bucales frente a fuerzas de fricción, adhesión de células y/o sedimentación de proteínas. Se usan una cualquiera o más de diversas proteínas lubricina nativas y recombinantes e isoformas en diversas realizaciones descritas en el presente documento. Por ejemplo, las patentes estadounidenses n.<sup>os</sup> 5.326.558; 6.433.142; 7.030.223 y 7.361.738 dan a conocer una familia de factores estimulantes de megacariocitos (MSF) humanos, cada una de las cuales se incorpora al presente documento para tal divulgación. Las patentes estadounidenses n.<sup>os</sup> 6.960.562 y 6.743.774 también dan a conocer un polipéptido lubricante, tribonectina, que comprende un fragmento de MSF sustancialmente puro, cada una de las cuales se incorpora al presente documento para tal divulgación.

#### Cuidado bucal

En determinadas realizaciones en el presente documento se proporciona un método de tratamiento de deficiencia de lubricación de la cavidad bucal, xerostomía, o síntomas asociados con la misma (incluyendo síntomas de xerostomía asociada con síndrome de Sjögren, alergia, trastornos de la superficie bucal, inflamación crónica, hiperosmolaridad, envejecimiento, fármacos de venta con receta o de venta sin receta, radioterapia, quimioterapia, daño nervioso o cualquier combinación de los mismos) en un individuo que lo necesita que comprende administrar a la cavidad bucal del individuo proteína PRG4 (por ejemplo, en una cantidad eficaz). En algunas realizaciones, la proteína PRG4 se administra en una composición para el cuidado bucal (por ejemplo, una composición para el cuidado bucal farmacéuticamente aceptable). En determinadas realizaciones, la proteína PRG4 administrada es una proteína PRG4 exógena (es decir, PRG4 que no es nativa al individuo al que se le está administrando). En algunas realizaciones, una formulación aceptable por vía oral (por ejemplo, un producto para el cuidado bucal descrito en el presente documento) comprende un demulcente, un astringente, un emoliente, un edulcorante, un estimulante, o combinaciones de los mismos. En otra realización, cualquier composición descrita en el presente documento comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de hialuronato de sodio.

La xerostomía es un estado en el que las glándulas salivales no producen cantidades suficientes de saliva. En determinados casos, la xerostomía provoca una molestia que puede ser, en algunos casos, bastante intensa. Sin saliva, la boca puede quemarse y la garganta y la lengua pueden experimentar cambios radicales. Los dientes pueden cariarse rápidamente y la lengua puede volverse lisa, agrietada y vulnerable a infección. A menudo existe una pérdida del gusto y, dado que la saliva contiene enzimas digestivas importantes, a menudo existen problemas con la digestión. La boca es una de las zonas corporales más expuestas al entorno externo. Normalmente, la mucosa forma una capa protectora continua en la nariz, la boca y la garganta. Un paciente que padece xerostomía no sólo tiene una disminución de líquidos en la boca, sino que también puede tener una cantidad insuficiente de mucoproteínas y mucopolisacáridos para mantener líquido en contacto con las células y crear una barrera frente a la irritación y la infección. En determinadas realizaciones en el presente documento se proporcionan métodos de tratamiento de xerostomía o cualquier síntoma asociado con la misma (incluyendo específicamente los síntomas mencionados anteriormente), comprendiendo el método administrar por vía oral a un individuo que lo necesita proteína PRG4 (por ejemplo, una composición para el cuidado bucal que comprende proteína PRG4 en una cantidad y/o concentración eficaz).

Se estima que varios millones de individuos padecen este estado a nivel nacional. Sin embargo, no se conoce el número real de individuos que padecen xerostomía, dado que hasta hace poco ha existido poco reconocimiento del predominio o gravedad del problema. Los casos de xerostomía pueden variar desde casos leves, en los que sólo se experimenta sequedad ligera, hasta intensos en los que el paciente tendrá problemas graves con la masticación, la deglución, la digestión, el habla, y similares. Tal como se indica en la patente estadounidense n.<sup>o</sup> 4.438.100 de Balslev *et al.*, existen varias causas de xerostomía, incluyendo las fisiológicas (por ejemplo, edad, menopausia, estados posoperatorios, deshidratación), así como las psíquicas (nerviosismo). Los motivos para la sequedad de boca también pueden ser farmacológicos (por ejemplo, como efecto secundario común de muchos medicamentos, incluyendo diuréticos, antiartríticos y antidepressivos) o como resultado de radioterapia. Los casos más graves de xerostomía están provocados por radioterapia tras cirugía de cabeza y cuello y por enfermedades autoinmunitarias tales como lupus, síndrome de Sjögren y artritis reumatoide. Véase, por ejemplo, P.C. Fox *et al.*, J. Am. Dental Assoc. 110: 519-525 (1985).

Los tratamientos actuales para la xerostomía tienen desventajas significativas. Por ejemplo, los síntomas de xerostomía leve pueden aliviarse algo mediante el consumo de líquidos, caramelos duros y pastillas para chupar para la garganta. Sin embargo, debido a la susceptibilidad de los pacientes con xerostomía a caries dental y enfermedad de encías, el aumento en la ingestión de azúcar asociado con caramelos y pastillas para chupar convencionales es una preocupación real. Además, los líquidos o los caramelos normalmente no son eficaces en casos más graves de xerostomía, ni proporcionan alivio de larga duración en casos leves.

También se encuentran en el mercado varias salivas artificiales que contienen alcohol, aceites minerales, glicerina y combinaciones de polietilenglicoles. También se encuentran en el mercado varias preparaciones a base de carboximetilcelulosa, incluyendo las comercializadas con las marcas Orex.RTM. (Young Dental), Xero-Lube.RTM. (Scherer), Moi-Stir.RTM. (Kingswood Laboratories) y Salivart.RTM. (Westport Pharmaceuticals). Sin embargo, muchos pacientes encuentran que tales preparaciones son irritantes o desagradables, y que su efecto lubricante es

de duración relativamente corta.

Puede determinarse la xerostomía y los síntomas asociados con la misma mediante cualquier método adecuado. En algunos casos, se define una deficiencia en la lubricación bucal y los síntomas asociados con la misma o bien cualitativamente (por ejemplo, una sensación de baja lubricación, molestia, sequedad bucal, picor bucal o una sensación de ardor, masticación dolorosa y dificultad al hablar) o bien cuantitativamente (por ejemplo, medida mediante métodos de ensayos cuantitativos mecánicos, bioquímicos, eléctricos, ópticos u otros).

En una realización preferida, la composición se administra como disolución (o suspensión) acuosa de PRG4. En determinadas realizaciones, la composición comprenderá además extracto líquido de yerba santa, aceite de cítricos, aceite de limón, aceite de lima, aceite de azahar, aceite de naranja, un aceite de menta, aceite de menta piperita, aceite de hierbabuena, aceite de anís, aceite de cardamomo, aceite de canela, aceite de clavo, aceite de cilantro, aceite de eucalipto, aceite de hinojo, aceite de citronela, aceite de nuez moscada, extracto líquido de *Eriodictyon* o extracto de glicirrizas en el intervalo del 0,25% en peso al 10% en peso, más preferiblemente del 0,5% en peso al 5,0% en peso, y lo más preferiblemente a aproximadamente el 1,25% en peso. En determinadas realizaciones, la composición comprenderá además uno o más edulcorantes, comprendiendo en total aproximadamente del 1,0% en peso al 30% en peso, más preferiblemente del 10% en peso al 20% en peso, de la manera más preferible aproximadamente el 15% en peso edulcorante.

Pueden seleccionarse fácilmente edulcorantes adecuados, y la cantidad de edulcorante incorporada en la presente composición se determinará mediante el gusto. En general, el edulcorante puede ser cualquier compuesto o compuestos que provocan dulzor o intensifican el dulzor. El edulcorante puede producirse de manera natural o ser de origen sintético, y puede tener valor nutritivo o no nutritivo. Los ejemplos de edulcorantes adecuados para su uso en el presente documento incluyen: los sacáridos, por ejemplo, fructosa, glucosa, glicerosa, treosa, eritrosa, metilpentosa, galactosa, xilosa, ribosa, dextrosa, maltosa y d-manosa; alcoholes de azúcar tales como sorbitol, xilitol y manitol; edulcorantes artificiales solubles en agua tales como las sales de sacarina solubles, por ejemplo, sacarina sódica o cálcica, sales de ciclamato, acesulfamo-K, y similares; y edulcorantes a base de dipéptidos tales como éster metílico de L-aspartil-L-fenilalanina. Se exponen otros ejemplos de edulcorantes adecuados en *Encyclopedia of Chemical Technology*, vol. 19, 2ª ed., Nueva York: John Wiley & Sons, 1969, en las págs. 593-607. Los edulcorantes preferidos son no cariogénicos, y edulcorantes particularmente preferidos para su uso en el presente documento son xilitol, sorbitol, manitol, sacarina sódica, y combinaciones de los mismos.

Es opcional que la composición también contenga un compuesto "estimulante" que estimulará la secreción de glándulas salivales. Un compuesto particularmente preferido para este fin es ácido cítrico, presente en una cantidad que oscila entre aproximadamente el 0,25% en peso y aproximadamente el 5,0% en peso, preferiblemente de aproximadamente el 0,5% en peso. La incorporación de ácido cítrico en la presente composición también sirve para proporcionar un aroma cítrico agradable.

Es opcional que la composición contenga uno o más conservantes, normalmente un antioxidante presente en una cantidad eficaz para retardar la oxidación y/o la inactivación del extracto líquido. Como con los edulcorantes, un experto en la técnica realizará fácilmente la selección de un conservante o conservantes. Los ejemplos de conservantes adecuados incluyen palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, sorbato de potasio o sodio, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, ácido sórbico, dióxido de azufre y benzoato de sodio o potasio. Un conservante particularmente preferido para su uso en el presente documento es benzoato de sodio.

Otros componentes que pueden incorporarse, si se desea, en la presente composición incluyen agentes colorantes, que pueden ser o bien naturales o bien sintéticos, agentes aromatizantes, agentes conservantes de aromas, agentes diluyentes, agentes emulsionantes, excipientes, agentes de tamponamiento del pH, y similares.

Los colorantes adecuados incluyen tintes que son generalmente adecuados para aplicaciones de alimentos, fármacos y cosméticos, es decir, los conocidos como tintes F.D. & C. Los tintes aceptables deben ser solubles en agua. Los ejemplos ilustrativos incluyen la sal de disodio del ácido 5,5-indigoestañodisulfónico ("azul n.º 2 F.D. & C.") y la sal de monosodio de 4-[4-N-etil-p-sulfo-bencil]amino]difenilmetileno]-[1-(N-etil-N-p-sulfonio-bencil)-2,5-ciclohexadienimina ("verde n.º 1 F.D. & C."). Puede hacerse referencia a *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 3ª ed., en el volumen 6, para colorantes F.D. & C. adicionales y estructuras químicas correspondientes.

Los aromatizantes son opcionales, puesto que la incorporación de ácidos cítrico y/o ascórbico en la composición proporcionará, en ausencia de cualquier agente aromatizante adicional, un aroma cítrico agradable. Los aromatizantes adicionales pueden incluir otros aromas naturales o artificiales, por ejemplo, aceites de menta tales como menta piperita, gaulteria (salicilato de metilo), hierbabuena, eucalipto, etc., aceites de cítricos tales como aceite de limón, aceite de naranja, aceite de lima, aceite de pomelo, esencias de frutas tales como esencia de manzana, esencia de melocotón, esencia de frambuesa, y similares. Cuando se selecciona un agente aromatizante a base de aceite, se incluirán uno o más conservantes en la composición tal como se describió anteriormente. También pueden incorporarse diversos aromas sintéticos en la composición. El/los agente(s) aromatizante(s) estará(n) presente(s) en una cantidad que depende del agente individual seleccionado, pero, si está presente, oscilará normalmente entre aproximadamente el 0,5% en peso y aproximadamente el 5,0% en peso de la

composición.

En determinadas realizaciones, la composición para el cuidado bucal comprende además enzimas encontradas en la saliva incluyendo lactoperoxidasa, tiocianato y glucosaoxidasa.

5 La composición tal como acaba de describirse se administra preferiblemente como disolución acuosa, gel o pasta y se administra mediante un pulverizador bucal, colutorio, dentífrico, enjuague o gel.

10 La composición también puede prepararse como goma o pastilla para chupar, con los componentes preferidos y la composición relativa preferida en peso iguales que en la disolución acuosa descrita anteriormente.

15 En diversas realizaciones, se preparan composiciones de goma usando cualquier método convencional adecuado. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la PRG4 se mezcla con una base de goma masticable, uno o más edulcorantes y componentes adicionales opcionales tal como se describió anteriormente en el presente documento, presentes en las proporciones descritas anteriormente. En diversas realizaciones, una composición de goma descrita en el presente documento comprende aditivos aromatizantes, agentes emulsionantes y agentes colorantes tal como se describe en el presente documento.

20 La "base de goma" puede ser uno de varios tipos de composiciones, y se prepara normalmente calentando y combinando diversos componentes, por ejemplo, gomas naturales, resinas sintéticas, ceras, plastificantes, etc. Los ejemplos no limitativos de los componentes encontrados en una base de goma de mascar incluyen sustancias masticatorias de origen vegetal tales como chicle, goma corona, níspero, rosidinha, jelutong, pendare, perillo, niger gutta, tuno, etc., sustancias masticatorias de origen sintético tales como polímero de butadieno-estireno, copolímero de isobutileno-isopreno, parafina, cera de petróleo, polietileno, poliisobutileno, poli(acetato de vinilo), etc., plastificantes o suavizantes tales como lanolina, ácido esteárico, estearato de sodio, estearato de potasio, triacetato de glicerilo, glicerina, etc.

25 También pueden incorporarse ceras, incluyendo ceras naturales y sintéticas, ceras de petróleo, ceras de parafina y ceras microcristalinas en la base de goma con el fin de obtener textura y consistencia deseables.

30 Las pastillas para chupar descritas en el presente documento son sólidos opcionalmente conformados que contienen la PRG4 en una base de caramelo o gelatina glicerizada. En algunas realizaciones, se preparan formas de pastillas para chupar, por ejemplo, usando métodos adecuados descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences. En determinados casos, la PRG4 se mezcla con edulcorante y otros compuestos opcionales tal como se describió anteriormente, y se concentra el almíbar resultante y se conforma y/o comprime la mezcla, mientras que se calienta, para dar la forma deseada.

35 La cantidad de PRG4 administrada puede variar y depender del sujeto que está tratándose, la gravedad de la xerostomía y el criterio del profesional sanitario que la prescribe. Sin embargo, un régimen de dosificación eficaz será normalmente de 1-2 cucharaditas (o 1-20 ml, 2-15 ml, 3-10 ml, o similar) de una composición acuosa (o el equivalente en forma de goma o pastilla para chupar) administrada por vía oral una vez o 2-6 veces al día. Para la composición acuosa, se prefiere que la composición se mantenga en contacto con la mucosa bucal durante un tiempo suficiente para permitir el recubrimiento del interior de la boca con la PRG4. Se prefiere que la composición se mantenga en la boca durante 1-30, 2-20, 5-15 u 8-10 segundos. Además, la composición puede ser, y puede administrarse como, un colutorio, en el que la boca se enjuaga sencillamente con la disolución acuosa, o si se desea, la composición puede tragarse.

40 En diversas realizaciones, cualquier composición para el cuidado bucal tal como se describe en el presente documento es adecuada para ser beneficiosa o útil para tratar pacientes que padecen úlceras en el interior de la boca, ya sea la "afta" común o las úlceras más graves a menudo observadas como efecto secundario de terapia contra el cáncer descrita como mucositis bucal. El método y la composición se refieren a un medicamento que se administra por vía tópica a la lesión. En la realización preferida, la composición de la presente invención proporciona alivio prolongado de la molestia y el dolor asociados con aftas.

55 En una realización, la composición para tratar úlceras bucales comprende administrar por vía tópica PRG4 en una disolución aceptable por vía oral a la úlcera bucal que lo necesita. En otra realización, la composición de PRG4 comprende además hialuronato de sodio. En aún otra realización, la composición de PRG4 comprende además uno o más anestésicos locales seleccionados del grupo que consiste en lidocaína, lignocaína y prilocaína.

60 La presente invención proporciona además un método para tratar úlceras bucales que comprende administrar por vía tópica a la úlcera bucal que lo necesita, una cantidad eficaz de PRG4 en una disolución aceptable por vía oral (o en cualquier otra composición prevista en el presente documento) en el que dicha composición está en forma de un gel, un líquido, una crema, una pomada, una pulverización o una disolución viscosa.

65 *Quirúrgico*



Determinadas realizaciones de la presente invención proporcionan composiciones adecuadas para la lubricación de instrumentos y/u otras superficies implicadas en procedimientos médicos o quirúrgicos. En realizaciones específicas, en el presente documento se proporciona una disolución (o suspensión) viscoelástica que comprende PRG4 y/o hialuronato de sodio y, opcionalmente, excipientes y demulcentes adicionales. En algunas realizaciones, tales composiciones son disoluciones (o suspensiones) acuosas biocompatibles que son muy particularmente adecuadas como agentes auxiliares quirúrgicos y/o implantes temporales. Determinadas realizaciones de la presente invención se refieren además al uso de dichas composiciones (por ejemplo, disoluciones) como lubricantes quirúrgicos/médicos para su uso en la inserción de catéteres, endoscopios, instrumentos quirúrgicos, guantes en orificios corporales, como agentes auxiliares quirúrgicos y/o implantes temporales, como implantes de hidratación, y para su uso en extracción de cataratas, fotoqueratectomía, inserción y retirada de lentes intraoculares (IOL), cirugía de córnea, cirugía de glaucoma, cirugía de traumatismos, cirugía de segmento posterior, cirugía plástica ocular y cirugía de músculos.

En general, cada invasión quirúrgica provoca daño tisular. Para minimizar, reducir o prevenir el daño implicado, especialmente en zonas en las que los tejidos son particularmente frágiles y/o irremplazables, pueden usarse disoluciones viscoelásticas como agentes auxiliares quirúrgicos. Tales disoluciones protegen los tejidos frente a los instrumentos quirúrgicos y ayudan en la manipulación de dichos tejidos. También se usan para mantener espacios o volúmenes para prevenir que los tejidos se fusionen y destruyan dichos espacios o volúmenes. Se usan disoluciones de este tipo muy particularmente en cirugía oftálmica.

Con referencia a la cirugía de cataratas, hasta ahora ya se han propuesto los siguientes productos comerciales: Viscoat.RTM., de Alcon Surgical, Inc., que contiene hialuronato de sodio y sulfato de condroitina; este producto es actualmente el líder del mercado; Healon.RTM. y Healon GV.RTM., comercializados actualmente por A.M.O., Amvisc.RTM. y Amvisc Plus.RTM., comercializados actualmente por Bausch & Lomb, Vitrax.RTM., comercializado actualmente por A.M.O., y Viscorneal.RTM. y Biocorneal.RTM., comercializados por el solicitante, que contienen hialuronato de sodio (NaHA); Orolon.RTM., de Optical Radiation Corporation, que contiene una poliacrilamida y ahora no está disponible; y Occucoat.RTM., de Storz, que contiene hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

En una realización preferida, el lubricante quirúrgico/líquido viscoelástico está compuesto por PRG4 en una solución salina quirúrgicamente aceptable. En otra realización, el lubricante quirúrgico/líquido viscoelástico comprende además hialuronato de sodio. En aún otra realización, el lubricante quirúrgico/líquido viscoelástico comprende además excipientes y demulcentes adicionales, incluyendo, pero sin limitarse a, carboximetilcelulosa sódica, hidroxietilcelulosa, hipromelosa, metilcelulosa, dextrano 70, gelatina, glicerina, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400, polisorbato 80, propilenglicol, poli(alcohol vinílico) y povidona. En aún otra realización, el lubricante quirúrgico/líquido viscoelástico comprende además uno o más anestésicos locales seleccionados del grupo que consiste en lignocaína y prilocaína.

En aún otra realización, el lubricante quirúrgico/líquido viscoelástico comprende además uno o más antisépticos seleccionados del grupo que consiste en gluconato de clorhexidina, cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de bencetonio, alcohol, cloruro de sodio y bicarbonato de sodio.

La presente invención proporciona además un método para proporcionar lubricación para su uso en procedimientos médicos o quirúrgicos que comprende la aplicación de una cantidad eficaz de PRG4 (por ejemplo, en una disolución quirúrgicamente aceptable o en cualquier otra composición prevista en el presente documento) a un tejido o un dispositivo médico que lo necesita. En realizaciones específicas, tales métodos son métodos de reducción o prevención de daño tisular asociado con el procedimiento médico o quirúrgico. Tales procedimientos médicos o quirúrgicos incluyen la inserción de catéteres, endoscopios, instrumentos quirúrgicos, guantes en orificios corporales, como agentes auxiliares quirúrgicos y/o implantes temporales, como implantes de hidratación, extracción de cataratas, fotoqueratectomía, inserción y retirada de lentes intraoculares (IOL), cirugía de córnea, cirugía de glaucoma, cirugía de traumatismos, cirugía de segmento posterior, cirugía plástica ocular y cirugía de músculos.

#### *Lubricación deportiva*

La presente invención también proporciona, en determinadas realizaciones, composiciones y métodos novedosos de reducción de la fricción durante el movimiento ambulatorio, comprendiendo tales métodos administrar cualquier composición (por ejemplo, cualquier composición que comprende proteína PRG4) a una superficie que lo necesita (tal como una superficie sometida a rozamiento o una superficie susceptible de fricción y/o rozamiento). Los esfuerzos deportivos a menudo incluyen fricción y tensión de cizalladura significativas entre piel y ropa, piel y pelo, y pelo y piel. A menudo esto conduce al rozamiento, "frotamiento de la parte interior de los muslos", laceraciones en la piel, sangrado de los pezones, etc. Este tipo de lesión inducida por cizalladura es común durante competiciones de larga distancia tales como maratones o carreras *Ironman*. Los enfoques actuales incluyen la aplicación de polímeros y humectantes de la piel tales como BODYGLIDE. Sin embargo, los enfoques actuales no logran proporcionar alivio de larga duración y no proporcionan ningún mecanismo de reducción de la lubricación límite.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona una composición deportiva para su uso en la reducción de la fricción provocada por el movimiento ambulatorio que comprende PRG4. En realizaciones

específicas, la PRG4 se formula con o en un polímero de liberación retardada. En determinadas realizaciones, los polímeros de liberación retardada comprenden uno o más de los siguientes, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polipropileno, u otros excipientes o demulcentes comunes.

5 En determinadas realizaciones, la composición deportiva comprende además hialuronato de sodio.

En determinadas realizaciones, la composición deportiva comprende además alantoína (0,5%).

10 En determinadas realizaciones, la composición deportiva comprende además extracto de hojas de aloe (*Aloe Barbadensis*), triglicérido de ácido C<sub>18-36</sub>, triglicérido cáprico/caprílico/esteárico, tribehenina y/o acetato de tocoferilo.

En una realización opcional, se recubre un parche adhesivo de PRG4 y se coloca entre la zona de fricción y la causa de fricción. Los ejemplos de un parche adhesivo adecuado incluyen tirita o cinta deportiva. En otra realización, ácido hialurónico y PRG4 están contenidos dentro del parche adhesivo.

15 La presente invención proporciona además un método de reducción de la fricción durante el movimiento que comprende la aplicación de una cantidad eficaz de PRG4 en una disolución, gel, sol (o en cualquier otra composición o dispositivo previsto en el presente documento) a la zona que lo necesita.

## 20 *Relleno dérmico*

En un aspecto, la presente invención proporciona composiciones inyectables para la inyección en la dermis o la hipodermis (tejido subcutáneo) para restaurar la pérdida de tejido relacionada con la edad en el rostro y zonas seleccionadas del cuerpo, tales como cuello y manos. En algunos casos, el uso de PRG4 en una formulación de relleno dérmico aumenta la cantidad de tiempo que se conserva el relleno dérmico antes de la absorción.

30 El envejecimiento facial se produce como resultado de varios factores, por ejemplo: cambios inherentes dentro de la piel, efectos de la gravedad, músculos faciales que actúan sobre la piel (líneas dinámicas), pérdida de tejido blando o desplazamiento y pérdida ósea y pérdida de elasticidad tisular. La piel envejece cuando la epidermis empieza a adelgazarse, provocando que la unión con la dermis se aplane. El colágeno disminuye a medida que una persona envejece y los haces de colágeno, que proporcionan la turgencia cutánea, se vuelven más laxos y pierden resistencia. Cuando la piel pierde elasticidad, puede resistir menos estiramiento. Junto con la gravedad, la distensión muscular y los cambios tisulares, la piel empieza a arrugarse. La pérdida de agua y la rotura de enlaces entre células también reducen la función de barrera de la piel, lo que puede provocar que aumente el tamaño de poro de la piel.

A medida que una persona envejece, el rostro pierde volumen, tejido blando y grasa. La aparición de papada y pliegues están provocados habitualmente por la caída de tejidos faciales y el plegamiento de zonas en las que los músculos debajo están unidos a la piel. Como parte de la reducción en tejido blando, el rostro se vuelve más hueco.

40 Más específicamente, en diversas zonas faciales, tales como frente, ojos, nariz, parte central del rostro y parte inferior del rostro, se han documentado bien cambios relacionados con el envejecimiento. En la zona de la frente, la frente y el ceño caen a lo largo del tiempo, lo que baja las cejas y provoca que se acumule la piel del párpado superior. Aparecen líneas en la frente cuando se trata de mantener las cejas y los párpados arriba para contrarrestar estos cambios. Se conoce bien que los ojos a menudo son la primera característica facial que muestra signos de envejecimiento. Los cambios en la piel alrededor de los ojos se producen antes que en el resto del rostro puesto que la piel es más fina alrededor de los ojos. La piel en este caso contiene menos glándulas y está sometida a parpadeo, entornado, frotamiento y distensión constantes. La parte central del rostro envejece cuando las mejillas empiezan a caer, provocando pliegues nasolabiales. Los pliegues nasolabiales son las líneas que discurren desde los lados de la nariz a las comisuras de la boca. Se han tratado estos pliegues con rellenos faciales. En la zona de la nariz, a medida que una persona envejece, la nariz se alarga. Causas comunes de alargamiento son adelgazamiento del tejido blando y pérdida de elasticidad, lo que provoca "caída de la punta" y desenmascaramiento del hueso, lo que crea una nueva giba. En la zona de la parte inferior del rostro, a medida que el rostro envejece, los tejidos faciales descienden. Esto da como resultado las denominadas "líneas de expresión". Se han tratado pliegues y líneas en esta zona con rellenos faciales. Más abajo en el rostro, las comisuras de la boca pueden caerse y el descenso de la papada puede crear pliegues a menudo denominados líneas de "marioneta". Además, se forma papada cuando las mejillas se hunden alrededor de un punto fijo a lo largo de la quijada en la que los músculos faciales se unen a la mandíbula. Los músculos faciales continúan hacia abajo al cuello como una lámina denominada el músculo platisma. Este músculo a menudo presenta un hueco en el centro del cuello, creando dos bandas.

60 Se han usado diversos productos inyectables para restaurar la pérdida de tejido en el rostro. Desde la década de 1980, se ha usado colágeno inyectable como relleno de tejido blando para rellenar arrugas, líneas y cicatrices en el rostro. El colágeno es una proteína que se produce de manera natural que soporta diversas partes del cuerpo incluyendo piel, tendones y ligamentos. Se han usado inyecciones de grasa durante años para añadir volumen, rellenar arrugas, líneas y aumentar los labios. Las inyecciones de grasa implican tomar grasa de una parte del cuerpo del paciente (abdomen, muslos o nalgas) y reinyectarla debajo de la piel facial. Se han usado toxinas

botulínicas para espasmos de cuello, trastornos de nervios craneales y espasmos oculares. Con la reciente autorización de la FDA del Botox para uso cosmético en la región glabellar, el fármaco se usa para alisar arrugas. Cuando se inyecta a los músculos faciales las toxinas botulínicas bloquean los impulsos nerviosos, paralizando temporalmente los músculos y alisando las arrugas.

5 El ácido hialurónico es uno de los rellenos dérmicos cosméticos usados más comúnmente que añade volumen para minimizar arrugas y líneas. El ácido hialurónico es un polisacárido lineal que existe de manera natural en todos los organismos vivos y es un componente universal de los espacios extracelulares de tejidos corporales. La estructura idéntica del ácido hialurónico en todas las especies y tejidos hace que este polisacárido sea una sustancia ideal para su uso como biomaterial en la salud y la medicina. El ácido hialurónico está presente en muchos lugares en el cuerpo humano. Le da volumen a la piel, forma a los ojos y elasticidad a las articulaciones. Las concentraciones más altas se encuentran en tejidos conjuntivos, y la mayor parte del ácido hialurónico (aproximadamente el 56%) se encuentra en la piel.

15 Se proporcionan comercialmente diversas formas de ácido hialurónico por varios fabricantes. El ácido hialurónico usado más comúnmente es el ácido hialurónico estabilizado no animal (NASHA) en forma de gel claro, producido mediante fermentación bacteriana a partir de bacterias estreptococos. Diferente del ácido hialurónico derivado de animal, el ácido hialurónico no derivado de animal está libre de proteínas animales. Esto limita el riesgo de transmisiones de enfermedades de base animal o el desarrollo de reacciones alérgicas a proteínas animales. El ácido hialurónico estabilizado no animal más conocido se fabrica por Q-med, Seminariegatan, Uppsala, y está disponible comercialmente con el nombre comercial Restylane.RTM. Desde su comercialización en 1996, se estima que se han llevado a cabo más de 2.500.000 tratamientos a nivel mundial. Otros productos de ácido hialurónico estabilizado no animal incluyen Perlane.RTM. de Q-med, que tiene partículas más grandes que Restylane.RTM., y Captique.TM. de Genzyme Corporation. Otro relleno usado comúnmente es hialuronano fabricado por Genzyme Corporation y disponible comercialmente con el nombre comercial Hylaform Plus. Hylaform Plus es un implante de gel, transparente, incoloro, claro, viscoelástico, no pirógeno, estéril, que está compuesto por moléculas reticuladas de hialuronano. Aunque el ácido hialurónico y derivados son los rellenos dérmicos usados más comúnmente, tienen viabilidad limitada. La reinyección es necesaria cada de 4 a 12 meses, o incluso antes. Esto es una desventaja principal de rellenos dérmicos de HA.

30 En una realización, la composición inyectable comprende PRG4 en una disolución viscosa. En una realización adicional, la composición inyectable comprende PRG4 en combinación con una cantidad dermatológicamente eficaz de ácido hialurónico. En aún otra realización, la composición inyectable comprende PRG4 en combinación con una cantidad dermatológicamente eficaz de colágeno, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y/o poli(óxido de etileno). En una realización adicional, la composición inyectable comprende PRG4 en combinación con un fármaco seleccionado del grupo que consiste en fármacos anti-trombogénicos, fármacos antiinflamatorios, hormonas, factores quimiotácticos, analgésicos, factores de crecimiento, citocinas, factores osteogénicos y anestésicos. En una realización adicional, la composición inyectable comprende PRG4 en combinación con ácido retinoico y/o agua reducida con deuterio.

40 Un método de tratamiento para la restauración del volumen tisular, turgencia cutánea, textura y firmeza en el rostro o zonas seleccionadas del cuerpo de una persona que comprende las etapas de inyectar una composición de PRG4 (u otra composición dérmica prevista en el presente documento) en la dermis o la hipodermis en una o más zonas del rostro, o zonas seleccionadas del cuerpo de una persona. En otra realización, las zonas de tratamiento incluyen la zona periorbitaria, los labios, la zona malar, los pliegues nasolabiales, los pliegues labiomandibulares, el cuello o las manos.

#### *Administración de fármacos*

50 En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un método de administración de fármacos, comprendiendo el método un agente bioactivo en combinación (por ejemplo, mezclado) con proteína PRG4. En algunas realizaciones, se administra un agente bioactivo a un sujeto, y se administra en una composición que comprende: un agente bioactivo mezclado con un portador que comprende PRG4.

55 Materiales portadores para la administración de fármacos de productos farmacéuticos se basan en una amplia gama de materiales, tales como polímeros orgánicos o inorgánicos, metales y materiales cerámicos. Sin restringirse a ninguna teoría, se cree que el uso de PRG4 como método de administración de fármacos dará como resultado un aumento en el tiempo de residencia y localización superior de compuestos diana.

60 En una realización, el agente bioactivo comprende un fármaco, un péptido, una proteína, un anticuerpo o fragmento del mismo, un ácido nucleico o un agente de obtención de imágenes. En otra realización, el portador de administración comprende además hialuronato de sodio. En aún otra realización, el portador de administración comprende además un fosfolípido tensioactivo seleccionado del grupo que consiste en L- $\alpha$ -dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomiolina.

65 Puede lograrse la administración física de la mezcla mediante administración tópica, inyección o por vía oral.

*Lubricación para lactancia materna*

5 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método de lubricación para madres en periodo de lactancia, comprendiendo dicho método administrar a una superficie que lo necesita proteína PRG4. Durante la lactancia, el aferramiento incompleto puede provocar tensión de cizalladura significativa entre el paladar de la boca del bebé y el pezón de la madre. A lo largo del tiempo, los pezones se inflaman y se vuelven doloridos. Enfoques existentes, tales como parches de gel o pomada de lanolina, sólo pueden usarse durante un tiempo limitado y pueden ser molestos o irritar el pezón para determinadas personas, puesto que el mecanismo es la lubricación de película de líquido. La lubricación límite de PRG4, que funciona en una monocapa individual, ofrece tiempo de residencia superior sin el residuo que crean otras cremas. En determinadas realizaciones, puede ser útil la combinación de tanto película de líquido como lubricación límite.

15 En una realización preferida, el lubricante para la lactancia está compuesto por PRG4 en una disolución acuosa, gel, sol o parche adhesivo. En otra realización, el lubricante comprende además hialuronato de sodio. En aún otra realización, el lubricante comprende excipientes y demulcentes adicionales.

20 A lo largo de toda esta solicitud, se hace referencia a diversas publicaciones. Las divulgaciones de todas estas publicaciones y aquellas referencias citadas dentro de aquéllas publicaciones se incorporan por el presente documento como referencia en su totalidad a esta solicitud con el fin de describir más completamente el estado de la técnica a la que pertenece esta invención.

25 También debe entenderse que lo anterior se refiere a realizaciones preferidas de la presente invención y que pueden hacerse numerosos cambios en las mismas sin apartarse del alcance de la invención. La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no deben interpretarse de ninguna manera como que imponen limitaciones en el alcance de la misma. Por el contrario, debe entenderse claramente que puede recurrirse a diversas otras realizaciones, modificaciones y equivalentes de las mismas, que, tras leer la descripción en el presente documento, se les pueden ocurrir a los expertos en la técnica sin apartarse del espíritu de la presente invención y/o el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

30 Tal como se usa en el presente documento, el término "PRG4", "proteína PRG4" o proteína "proteoglicano 4", se usa de manera intercambiable con el término proteína "lubricina". También se usa PRG4 en el presente documento para abarcar el término factor estimulante de megacariocitos (MSF), que se ha aceptado para la base de datos de la Nomenclatura Génica Humana de UCL/HGNC/HUGO, y la proteína de la zona superficial (SZP). La proteína PRG4 o lubricina (usada de manera intercambiable en el presente documento con proteoglicano lubricina) tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier proteína lubricina aislada o purificada, nativa o recombinante, homólogos, fragmentos o motivos funcionales, isoformas y/o mutantes de la misma. En determinadas realizaciones, la proteína PRG4 aislada o purificada comprende una secuencia de aminoácidos para una proteína lubricina humana nativa o recombinante. En otras realizaciones, la proteína PRG4 aislada o purificada comprende una secuencia de aminoácidos codificada por exones del gen prg4 que codifican para la proteína PRG4 de longitud completa o estructuras primarias de isoformas. El gen de proteoglicano 4 (prg4) contiene 12 exones. La proteína PRG4 usada en el presente documento comprende una secuencia de aminoácidos codificada por los exones 1-12 del gen prg4, más preferiblemente, los exones 6-12, y lo más preferiblemente, los exones 9-12.

45 Tal como se usa en el presente documento, la proteína PRG4 incluye cualquier proteína PRG4 conocida actualmente o descrita más tarde. En determinadas realizaciones, se proporciona una secuencia de aminoácidos de la proteína PRG4 preferida en SEQ ID NO: 1. La proteína PRG4 comparte la estructura de aminoácidos primaria de cualquier proteína PRG4 o isoforma conocida con al menos el 60% de homología, preferiblemente el 75% de homología, más preferiblemente el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o más de homología. En determinadas realizaciones, una proteína PRG4 preferida tiene una masa molar promedio de entre 50 kDa y 400 kDa, que comprende una o más partes activas biológicas de la proteína PRG4, o fragmentos funcionales, tales como un fragmento lubricante, o un homólogo del mismo.

55 Tal como se usa en el presente documento, la proteína PRG4 comprende una parte activa biológica de la proteína. Tal como se usa en el presente documento, una "parte biológicamente activa" de la proteína PRG4 incluye un fragmento funcional de una proteína que comprende secuencias de aminoácidos suficientemente homólogas a, o derivadas de, la secuencia de aminoácidos de la proteína, que incluye menos aminoácidos que la proteína de longitud completa, y presenta al menos una actividad de la proteína de longitud completa. Normalmente, una parte biológicamente activa comprende un dominio o motivo funcional con al menos una actividad de la proteína. Una parte biológicamente activa de una proteína puede ser un polipéptido que tiene, por ejemplo, 10, 25, 50, 100, 200 o más aminoácidos de longitud. En una realización, puede usarse una parte biológicamente activa de la proteína PRG4 como agente terapéutico solo o en combinación con otros agentes terapéuticos para tratar lubricación límite vaginal indeseable o disminuida.

65 En aún otra realización, se usan fragmentos funcionales, multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrameros, etc.), homólogos u ortólogos de PRG4 en la composición para el cuidado bucal. Los fragmentos funcionales y

homólogos de PRG4 incluyen los que tienen menos repeticiones dentro del dominio de repetición de KEPAPTT similar a mucina central, formas glicosiladas y no glicosiladas de la proteína, variantes de corte y empalme, formas recombinantes, y similares. Un fragmento lubricante de PRG4 presenta al menos el 20%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 70%, el 80%, el 90% o el 95% del efecto lubricante de PRG4 humana, medido de manera cualitativa, mecánica, óptica, eléctrica o mediante ensayo bioquímico.

Se dan a conocer las secuencias de ácido nucleico y de aminoácidos de varias proteínas PRG4 o lubricina nativas y recombinantes, y la caracterización de las proteínas PRG4 y diversas isoformas, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.ºs 5.326.558; 6.433.142; 7.030.223; 7.361.738 de Turner *et al.*, y las patentes estadounidenses n.ºs 6.743.774 y 6.960.562 de Jay *et al.* La publicación estadounidense n.º 20070191268 de Flannery *et al.* también da a conocer moléculas de PRG4 o lubricina recombinantes útiles en la presente invención.

En la técnica se conocen bien métodos para el aislamiento, la purificación y la expresión recombinante de una proteína PRG4. En determinadas realizaciones, el método comienza con la clonación y el aislamiento de ARNm y ADNc que codifican para proteínas PRG4 o isoformas usando técnicas de biología molecular convencionales, tales como PCR o RT-PCR. Entonces se clona el ADNc aislado que codifica para la proteína PRG4 o isoforma en un vector de expresión, y se transforma adicionalmente y se expresa en una célula huésped para producir proteína PRG4 recombinante.

Tal como se usa en el presente documento, “recombinante” se refiere a un polinucleótido sintetizado o manipulado de otro modo *in vitro* (por ejemplo, “polinucleótido recombinante”), a métodos de uso de polinucleótidos recombinantes para producir productos génicos en células u otros sistemas biológicos, o a un polipéptido (“proteína recombinante”) codificado por un polinucleótido recombinante. “Recombinante” también abarca el ligamiento de ácidos nucleicos que tienen diversas regiones o dominios o secuencias promotoras codificantes de diferentes fuentes para dar un casete o un vector de expresión para la expresión, por ejemplo, de la expresión inducible o constitutiva de una proteína de fusión que comprende un dominio activo del gen de PRG4 y una secuencia de ácido nucleico amplificada usando un cebador de la invención.

En determinadas realizaciones, el ácido nucleico que codifica para la proteína PRG4 puede contener una o más mutaciones, deleciones o inserciones. En tales realizaciones, el ácido nucleico que codifica para la proteína PRG4 tiene al menos el 60% de homología, preferiblemente el 75% de homología, más preferiblemente el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99%, o más de homología, con respecto a un ácido nucleico que codifica para proteína PRG4 de tipo natural.

Tal como se usa en el presente documento, el término “ADNc” incluye ADN que es complementario a moléculas de ARNm presentes en un ARNm de célula u organismo que puede convertirse en ADNc con una enzima tal como transcriptasa inversa. En determinadas realizaciones, el ADNc que codifica para una proteína PRG4 se aísla del ARNm de PRG4 expresado en células epiteliales conjuntivales o de córnea humanas usando un método de RT-PCR bien conocido en la técnica.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “polinucleótido”, “ácido nucleico/nucleótido” y “oligonucleótido” se usan de manera intercambiable, e incluyen formas poliméricas de nucleótidos de cualquier longitud, ya sean desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, o análogos de los mismos. Los polinucleótidos pueden tener cualquier estructura tridimensional, y pueden realizar cualquier función, conocida o desconocida. Los siguientes son ejemplos no limitativos de polinucleótidos: un gen o fragmento génico, exones, intrones, ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia, ARN ribosómico, ribozimas, ADN, ADNc, ADN genómico, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN aislado de cualquier secuencia, ARN aislado de cualquier secuencia, sondas de ácido nucleico y cebadores. Los polinucleótidos pueden ser recombinantes, sintéticos, producirse de manera natural o cualquier combinación de los mismos.

Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótido. Si están presentes, pueden conferirse modificaciones a la estructura del nucleótido antes o tras el ensamblaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede interrumpirse por componentes distintos de nucleótidos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente tras la polimerización, tal como mediante conjugación con un componente de marcaje. El término también incluye moléculas tanto bicatenarias como monocatenarias. A menos que se especifique o se requiera de otro modo, cualquier realización de esta invención que es un polinucleótido abarca tanto la forma bicatenaria como cada una de dos formas monocatenarias complementarias que se sabe o se predice que constituyen la forma bicatenaria.

Tal como se usa en el presente documento, el término “secuencia de polinucleótido” es la representación alfabética de una molécula de polinucleótido. Un polinucleótido está compuesto por una secuencia específica de cuatro bases de nucleótido: adenina (A); citosina (C); guanina (G); timina (T); y uracilo (U) en vez de timina cuando el polinucleótido es ARN, en lugar de ADN. Esta representación alfabética puede introducirse en bases de datos en un ordenador y usarse para aplicaciones bioinformáticas tales como, por ejemplo, genómica funcional y búsqueda de homología.

Tal como se usa en el presente documento, el término “polinucleótido/ADNc aislado” incluye moléculas de polinucleótido que están separadas de otras moléculas de polinucleótido que están presentes en la fuente natural del polinucleótido. Por ejemplo, con respecto a ADN genómico, el término “aislado” incluye moléculas de polinucleótido que están separadas del cromosoma con el que el ADN genómico está asociado de manera natural.

5 Preferiblemente, un polinucleótido “aislado” está libre de secuencias que flanquean de manera natural el polinucleótido (es decir, secuencias situadas en los extremos 5’ y 3’ del polinucleótido de interés) en el ADN genómico del organismo a partir del cual se deriva el polinucleótido. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la molécula de polinucleótido aislado que codifica para la proteína PRG4 usada en la invención, puede contener menos de aproximadamente 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb de secuencias de nucleótidos que flanquean de

10 manera natural la molécula de polinucleótido en el ADN genómico de la célula a partir de la cual se deriva el polinucleótido. Además, una molécula de polinucleótido “aislado”, tal como una molécula de ADNc, puede estar sustancialmente libre de otro material celular o medio de cultivo cuando se produce mediante técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente.

15 Tal como se usa en el presente documento, un “gen” incluye un polinucleótido que contiene al menos un marco de lectura abierto que puede codificar para un polipéptido o proteína particular tras transcribirse y traducirse. También puede usarse cualquiera de las secuencias de polinucleótido descritas en el presente documento para identificar fragmentos más grandes o secuencias codificantes de longitud completa del gen con el que se asocian. Los

20 expertos en la técnica conocen métodos de aislamiento de secuencias de fragmentos más grandes. Tal como se usa en el presente documento, una molécula de polinucleótido “nativa o que se produce de manera natural” incluye, por ejemplo, una molécula de ARN o ADN que tiene una secuencia de nucleótidos que se produce en la naturaleza (por ejemplo, codifica para una proteína natural).

25 Tal como se usa en el presente documento, el término “polipéptido” o “proteína” es intercambiable, e incluye un compuesto de dos o más subunidades de aminoácidos, análogos de aminoácido o peptidomiméticos. Las subunidades pueden unirse mediante enlaces peptídicos. En otra realización, la subunidad puede unirse mediante otros enlaces, por ejemplo, éster, éter, etc. Tal como se usa en el presente documento, el término “aminoácido” incluye aminoácidos o bien naturales y/o no naturales o bien sintéticos, incluyendo glicina y ambos de los isómeros

30 ópticos D o L, y análogos de aminoácido y peptidomiméticos. Un péptido de tres o más aminoácidos se denomina comúnmente oligopéptido. Cadenas peptídicas de más de tres o más aminoácidos se denominan polipéptido o proteína.

35 En determinadas realizaciones, la proteína PRG4 usada en el presente documento se refiere a proteínas PRG4 o diversos homólogos o isoformas de las mismas, que se expresan de manera natural o de manera recombinante en seres humanos u otras células huésped. Tal como se usa en el presente documento, “expresar” o “expresión” incluye el proceso mediante el cual se transcriben polinucleótidos para dar ARN y/o se traducen para dar polipéptidos. Si el polinucleótido se deriva a partir de ADN genómico, la expresión puede incluir corte y empalme del ARN, si se selecciona un huésped eucariota apropiado. Los elementos reguladores requeridos para la expresión

40 incluyen secuencias promotoras para unir ARN polimerasa y secuencias de iniciación de transcripción para la unión al ribosoma. Por ejemplo, un vector de expresión bacteriano incluye un promotor tal como el promotor *lac* y para la iniciación de transcripción la secuencia Shine-Dalgarno y el codón de iniciación AUG. De manera similar, un vector de expresión eucariota incluye un promotor heterólogo u homólogo para ARN polimerasa II, una señal de poliadenilación en el sentido de 3’, el codón de iniciación AUG y un codón de terminación para el desprendimiento

45 del ribosoma. Tales vectores pueden obtenerse comercialmente o ensamblarse mediante las secuencias descritas en métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, los métodos descritos a continuación para la construcción de vectores en general. Tal como se usa en el presente documento, el término “vector” incluye una molécula de ácido nucleico autorreplicativa que transfiere un polinucleótido insertado al interior de y/o entre células huésped. Se pretende que el término incluya vectores que funcionan principalmente para la inserción de una molécula de ácido

50 nucleico al interior de una célula, vectores de replicación que funcionan principalmente para la replicación de ácido nucleico y vectores de expresión que funcionan para la transcripción y/o la traducción del ADN o ARN. También se pretende que los vectores proporcionen más de una de las funciones anteriores.

55 Tal como se usa en el presente documento, se pretende que una “célula huésped” incluya cualquier célula individual o cultivo celular que puede ser, o ha sido, un receptor para vectores o para la incorporación de polinucleótidos y/o polipéptidos exógenos. También se pretende que incluya la progenie de una sola célula. La progenie puede no ser de manera necesaria completamente idéntica (en cuanto a morfología o a complemento de ADN genómico o total) a la célula madre original debido a mutación natural, accidental o deliberada. Las células pueden ser procariontas o eucariotas, e incluyen, pero no se limitan a, células bacterianas, células de levadura, células de insecto, células de animal y células de mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a, células murinas, de rata, de simio o humanas. Tal como se usa en el presente documento, una “célula huésped” también incluye células modificadas genéticamente. El término “células modificadas genéticamente” incluye células que contienen y/o expresan una secuencia de polinucleótido o un gen foráneo o exógeno que a su vez modifica el genotipo o fenotipo de la célula o su progenie.

60 “Modificada genéticamente” también incluye una célula que contiene o expresa una secuencia de polinucleótido o un gen que se ha introducido en la célula. Por ejemplo, en esta realización, a una célula modificada genéticamente se le ha introducido un gen, gen que también es endógeno para la célula. El término “modificada genéticamente” también

65

incluye cualquier adición, delección o alteración de nucleótidos endógenos de una célula. Tal como se usa en el presente documento, una "célula huésped" puede ser cualquier célula que expresa una proteína PRG4 humana.

5 Tal como se usa en el presente documento, se definen "homólogos" en el presente documento como dos ácidos nucleicos o péptidos que tienen secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos similares, o sustancialmente idénticas, respectivamente. El término "homólogo" abarca además moléculas de ácido nucleico que difieren de una de las secuencias de nucleótidos debido a una degeneración del código genético y por tanto codifican para las mismas secuencias de aminoácidos. En una de las realizaciones preferidas, los homólogos incluyen variantes alélicas, ortólogos, parálogos, agonistas y antagonistas de ácidos nucleicos que codifican para la proteína PRG4 (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, véase, por ejemplo, la figura 2).

15 Tal como se usa en el presente documento, el término "ortólogos" se refiere a dos ácidos nucleicos de especies diferentes, pero que han evolucionado a partir de un gen ancestral común mediante especiación. Normalmente, los ortólogos codifican para péptidos que tienen funciones iguales o similares. En particular, los ortólogos de la invención presentarán generalmente al menos el 80-85%, más preferiblemente el 85-90% o el 90-95%, y lo más preferiblemente el 95%, el 96%, el 97%, el 98% o incluso el 99% de identidad, o el 100% de identidad de secuencia, con la totalidad o parte de la secuencia de aminoácidos de cualquier proteína PRG4 conocida (por ejemplo, SEQ ID NO: 1), isoforma o análogo de la misma, y presentarán una función similar a estos péptidos. Tal como también se usa en el presente documento, el término "parálogos" se refiere a dos ácidos nucleicos que están relacionados mediante duplicación dentro de un genoma. Los parálogos tienen habitualmente funciones diferentes, pero estas funciones pueden estar relacionadas.

25 Para determinar el porcentaje de identidad de secuencia de dos secuencias de aminoácidos, se alinean las secuencias para fines de comparación óptima (por ejemplo, pueden introducirse huecos en la secuencia de un polipéptido para la alineación óptima con el otro polipéptido o ácido nucleico). Entonces se comparan los residuos de aminoácido en posiciones de aminoácido correspondientes. Cuando una posición en una secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido que la posición correspondiente en la otra secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. Puede hacerse el mismo tipo de comparación entre dos secuencias de ácido nucleico. El porcentaje de identidad de secuencia entre las dos secuencias es función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, porcentaje de identidad de secuencia = números de posiciones idénticas/números de posiciones totales x 100). Preferiblemente, los homólogos de aminoácido aislados incluidos en la presente invención son idénticos en al menos aproximadamente el 50-60%, preferiblemente al menos aproximadamente el 60-70%, y más preferiblemente al menos aproximadamente el 70-75%, el 75-80%, el 80-85%, el 85-90% o el 90-95%, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente el 96%, el 97%, el 98%, el 99%, o más a una secuencia de aminoácidos total de cualquier proteína PRG4 conocida (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

40 En determinadas realizaciones, un homólogo de ácido nucleico aislado que codifica para la proteína PRG4 comprende una secuencia de nucleótidos que es idéntica en al menos aproximadamente el 40-60%, preferiblemente al menos aproximadamente el 60-70%, más preferiblemente al menos aproximadamente el 70-75%, el 75-80%, el 80-85%, el 85-90% o el 90-95%, e incluso más preferiblemente al menos aproximadamente el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99%, o más a una secuencia de nucleótidos que codifica para secuencias de aminoácidos de tal proteína PRG4 (por ejemplo, SEQ ID NO: 1).

45 Se conoce bien en la técnica la determinación del porcentaje de identidad de secuencia entre dos secuencias de ácido nucleico o de péptidos. Por ejemplo, puede usarse el paquete de software Vector NTI 6.0 (PC) (InforMax, Bethesda, MD) para determinar el porcentaje de identidad de secuencia entre dos secuencias de ácido nucleico o de péptidos. En este método, se usan una penalización por apertura de hueco de 15 y una penalización por extensión de hueco de 6,66 para determinar el porcentaje de identidad de dos ácidos nucleicos. Se usan una penalización por apertura de hueco de 10 y una penalización por extensión de hueco de 0,1 para determinar el porcentaje de identidad de dos polipéptidos. Todos los otros parámetros se establecen a la configuración por defecto. Para fines de una alineación múltiple (algoritmo Clustal W), la penalización por apertura de hueco es de 10, y la penalización por extensión de hueco es de 0,05 con matriz blosum62. Debe entenderse que para los fines de la determinación de identidad de secuencia cuando se compara una secuencia de ADN con una secuencia de ARN, un nucleótido timidina es equivalente a un nucleótido uracilo.

55 Además, la proteína PRG4 usada en el presente documento incluye proteína PRG4 codificada por un polinucleótido que se hibrida con el polinucleótido que codifica para la proteína PRG4 en condiciones rigurosas. Tal como se usa en el presente documento, la "hibridación" incluye una reacción en la que uno o más polinucleótidos reaccionan para formar un complejo que se estabiliza mediante enlaces hidrógeno entre las bases de los residuos de nucleótido. Los enlaces hidrógeno pueden producirse mediante apareamiento de bases de Watson-Crick, unión de Hoogsteen, o de cualquier otra manera específica de secuencia. El complejo puede comprender dos hebras que forman una estructura de duplex, tres o más hebras que forman un complejo de múltiples hebras, una sola hebra de autohibridación, o cualquier combinación de éstas. Una reacción de hibridación puede constituir una etapa en un procedimiento más extenso, tal como la iniciación de una reacción PCR o la escisión enzimática de un polinucleótido por una ribozima.

Pueden realizarse reacciones de hibridación en diferentes condiciones rigurosas. La presente invención incluye polinucleótidos que pueden hibridarse en condiciones de rigurosidad reducida, más preferiblemente condiciones rigurosas, y lo más preferiblemente condiciones altamente rigurosas, con polinucleótidos que codifican para la proteína PRG4 descrita en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, el término “condiciones rigurosas” se refiere a la hibridación durante la noche a 60°C en 10x solución de Denhardt, 6xSSC, SDS al 0,5% y ADN de esperma de salmón desnaturalizado 100 mg/ml. Se lavan las transferencias de manera secuencial a 62°C durante 30 minutos cada vez en 3xSSC/SDS al 0,1%, seguido por 1xSSC/SDS al 0,1%, y finalmente 0,1xSSC/SDS al 0,1%. Tal como también se usa en el presente documento, en determinadas realizaciones, el término “condiciones rigurosas” se refiere a la hibridación en 6x disolución de SSC a 65°C. En otras realizaciones, “condiciones altamente rigurosas” se refiere a la hibridación durante la noche a 65°C en 10x solución de Denhardt, 6xSSC, SDS al 0,5% y ADN de esperma de salmón desnaturalizado 100 mg/ml. Se lavan las transferencias de manera secuencial a 65°C durante 30 minutos cada vez en 3xSSC/SDS al 0,1%, seguido por 1xSSC/SDS al 0,1%, y finalmente 0,1xSSC/SDS al 0,1%. En la técnica se conocen bien métodos para hibridaciones de ácido nucleico. Por consiguiente, las proteínas PRG4 codificadas por ácidos nucleicos usadas en el presente documento incluyen ácido nucleico que tiene al menos el 60% de homología, preferiblemente el 75% de homología, más preferiblemente el 85%, más preferiblemente el 90%, lo más preferiblemente el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% de homología con respecto a una secuencia de polinucleótido que codifica para una proteína PRG4 humana (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) o una isoforma u homólogo específico de la misma.

Además, las proteínas PRG4 usadas en el presente documento también pueden ser proteína quimérica o proteína de fusión. Tal como se usa en el presente documento, una “proteína quimérica” o una “proteína de fusión” comprende un primer polipéptido operativamente unido a un segundo polipéptido. Las proteínas quiméricas pueden comprender opcionalmente un tercer, cuarto o quinto u otro polipéptido operativamente unido a un primer o segundo polipéptido. Las proteínas quiméricas pueden comprender dos o más polipéptidos diferentes. Las proteínas quiméricas pueden comprender múltiples copias del mismo polipéptido. Las proteínas quiméricas también pueden comprender una o más mutaciones en uno o más de los polipéptidos. En la técnica se conocen bien métodos para preparar proteínas quiméricas. En determinadas realizaciones de la presente invención, la proteína quimérica es una quimera de proteína PRG4 con otras isoformas de proteína PRG4.

Tal como se usa en el presente documento, una proteína, un polinucleótido o una molécula “aislados” o “purificados” significa retirados del entorno en el que se producen de manera natural, o sustancialmente libres de material celular, tal como otras proteínas contaminantes de la fuente celular o tisular a partir de la que se deriva la proteína, el polinucleótido o la molécula, o sustancialmente libres de precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetizan químicamente. El término “sustancialmente libre de material celular” incluye preparaciones separadas de componentes celulares de las células a partir de las que se aíslan o se producen o sintetizan de manera recombinante. En determinadas realizaciones, el término “sustancialmente libre de material celular” incluye preparaciones de una proteína PRG4 que tienen menos de aproximadamente el 30% (en peso seco) de otras proteínas (también denominadas “proteína contaminante” en el presente documento), más preferiblemente menos de aproximadamente el 20%, todavía más preferiblemente menos de aproximadamente el 10%, y lo más preferiblemente menos de aproximadamente el 5% de otras proteínas. Cuando la proteína o el polinucleótido se produce de manera recombinante, también está de manera preferible sustancialmente libre de medio de cultivo, es decir, el medio de cultivo representa menos de aproximadamente el 20%, más preferiblemente menos de aproximadamente el 10%, y lo más preferiblemente menos de aproximadamente el 5% del volumen de la preparación de la proteína de interés.

Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción de las realizaciones preferidas de la misma y de las reivindicaciones. Estas y muchas otras variaciones y realizaciones de la invención resultarán evidentes para un experto en la técnica tras una revisión de la descripción y los ejemplos.

## 50 Ejemplos

### EJEMPLO 1

Tratamiento de lubricación límite deficiente de la cavidad bucal *in vivo*

55

### Xerostomía

Una composición de enjuague bucal adecuada para su uso como lubricante bucal tiene la siguiente composición:

Disolución de enjuague bucal de PRG4:	
PRG4	100 µg/ml
Sorbitol	2%
Glicerina	15%
Ácido benzoico	0,02%
Tinte verde n.º 3 FD&C	c.s.



Aromatizante de aceite de menta piperita	c.s.
Agua estéril	c.s.

Se prepara un enjuague bucal de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado adecuado para su uso en la lubricación de la cavidad bucal.

- 5 Administración: se administran 20 ml de un enjuague bucal de la fórmula anterior a un paciente que padece xerostomía cada cuatro horas o según se necesite. El paciente debe hacer gárgaras con el enjuague bucal durante de 2 a 5 minutos y escupir completamente el enjuague.

Una goma de mascar adecuada para la administración de PRG4 a la cavidad bucal tiene la siguiente composición:

10

Goma de mascar de PRG4:	
PRG4	50 µg/pastilla de goma de mascar (~5%)
Mezcla de sorbitol/manitol (50:50)	30%
Aromatizante de menta	c.s.
Sucralosa	2%
Base de goma chicle	20%
Almidón	10%
Talco	30%

Se prepara una goma de mascar de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado que es eficaz en el alivio de los síntomas de sequedad de boca. En resumen, se preparan las formulaciones fundiendo en primer lugar la base de goma a una temperatura de desde 82° hasta 95°C y mezclando la base de goma en un reactor con el sorbitol/manitol, el almidón y los otros componentes, en el que se continuó el mezclado durante varios minutos y después se mezclaron el aroma y los edulcorantes artificiales en la mezcla durante aproximadamente 4 minutos. Tras enfriar hasta una temperatura adecuada, se añade PRG4 a la mezcla. Entonces se descarga la mezcla y se conforma para dar bloques.

15

- 20 Estudio clínico: Se lleva a cabo un estudio doble ciego, aleatorizado, para determinar la eficacia de la goma de mascar de PRG4 en comparación con goma de mascar sin PRG4. Se invita a individuos que padecen xerostomía a un panel de prueba. Los panelistas mastican o bien goma de mascar de PRG4 o bien una goma que no contiene PRG4. Se distribuye un cuestionario a los panelistas que entonces registran sus experiencias incluyendo observaciones acerca de la cantidad del aumento en la salivación experimentada.

25

#### EJEMPLO 2

Tratamiento de mucositis bucal en un paciente con cáncer

- 30 Un gel oral bioadherente concentrado adecuado para la administración de PRG4 a la cavidad bucal tiene la siguiente composición:

Gel oral de PRG4:	
PRG4	10%
Sacarina sódica	2%
Aromatizante	c.s.
Hialuronato de sodio	5%
Aceite de ricino hidrogenado con PEG-40	10%
Polivinilpirrolidona (PVP)	15%
Benzoato de sodio	0,02%
Propilenglicol	30%
Agua	c.s.

Se prepara un gel oral bioadherente concentrado de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado que es eficaz en el alivio de los síntomas de mucositis bucal. Se mezclan entre sí los componentes anteriores y se permite que se sequen para dar una forma sólida. Entonces se muele la forma sólida para dar un polvo fino.

35

Preparación y administración: se mezclan 15 g del polvo con 5 ml de agua en un vaso. Si la disolución resultante es demasiado espesa, puede añadirse agua adicional para conseguir un espesor deseado. Entonces se enjuaga la disolución resultante por la boca de un individuo que padece mucositis bucal durante al menos 2 minutos o según se necesite para recubrir meticulosamente la lengua, el paladar, la garganta, el interior de las mejillas y todo el tejido bucal. Tras el enjuague, se escupe la disolución. La dosificación es de tres veces al día o según se necesite.

40

#### 45 EJEMPLO 3

Uso de PRG4 en cirugía de cataratas

Una composición viscoelástica adecuada para la administración de PRG4 al ojo tiene la siguiente composición:

5

Composición viscoelástica de PRG4:	
PRG4	0,1-2%
Sulfato de condroitina de sodio	4%
Ácido hialurónico (sal de sodio)	3%
Cloruro de sodio	0,5%
Fosfato de sodio dibásico	0,3%
Fosfato de sodio monobásico (monohidratado)	0,04%
Agua	c.s.
HCl/NaOH	para ajustar a pH 7

Se prepara una composición viscoelástica de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado que es adecuado para su uso como adyuvante quirúrgico en procedimientos del segmento anterior incluyendo extracción de cataratas e implantación de lentes intraoculares. La composición se acondiciona en un conjunto de jeringa con una cánula de calibre 27.

10

Aplicación: Para cirugía de cataratas e implantación de lentes intraoculares, se introduce cuidadosamente la disolución viscoelástica de PRG4 en la cámara anterior. Puede inyectarse la disolución viscoelástica de PRG4 en la cámara antes de o tras la colocación de la lente de cristalino. Opcionalmente, la instilación de la disolución viscoelástica de PRG4 antes de la colocación de la lente protege el endotelio de la córnea frente a posible daño que se origina de los instrumentos quirúrgicos durante la cirugía de extracción de cataratas. También puede usarse la disolución viscoelástica de PRG4 para recubrir una lente intraocular así como las puntas de instrumentos quirúrgicos antes de la cirugía de implantación. Puede inyectarse disolución adicional durante la cirugía de segmento anterior para mantener completamente la cámara o reemplazar cualquier disolución perdida durante el procedimiento quirúrgico. Al final del procedimiento, puede retirarse del ojo irrigando meticulosamente y aspirando con una solución salina equilibrada. Alternativamente, puede dejarse la disolución viscoelástica de PRG4 en el ojo.

15

20

#### EJEMPLO 4

25 Reducción de la fricción durante una maratón

Una crema protectora de la piel antirrozamiento que contiene PRG4 tiene la siguiente composición:

Crema protectora de la piel antirrozamiento de PRG4:	
PRG4	2-4%
Triglicérido caprílico/cáprico	20%
Glicerina	8%
Pentilenglicol	5%
Alantoína	0,5%
Aceite de coco	3,5%
Manteca de karité	1,5%
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	0,5%
Ceramida	0,2%
Goma xantana	0,1%
Agua	c.s.

30 Se prepara una crema protectora de la piel antirrozamiento de la fórmula anterior mezclando entre sí en primer lugar el pentilenglicol, la glicerina y el agua. Se añade lentamente la HPMC y se homogeniza para evitar la espumación para formar una fase acuosa. Se añade PRG4 a la fase acuosa. Se prepara una fase oleosa mezclando el triglicérido caprílico/cáprico, la manteca de karité, el aceite de coco y la goma xantana mientras se calienta hasta una temperatura de aproximadamente 42°C. Mientras se agita, se añade rápidamente la fase acuosa a la fase oleosa a vacío y se emulsiona la mezcla resultante.

35

Aplicación: Antes de participar en una actividad deportiva, se aplica el protector de la piel antirrozamiento a zonas de la piel con alta tensión de cizalladura, incluyendo, pero sin limitarse a, zonas de la ingle, zonas de la cintura, muslos, pezones, axilas, zonas del sujetador, nalgas, pies y otras zonas de fricción entre piel y ropa, piel y piel y/o piel y cabello. La nueva aplicación se realiza cada hora o según se necesite.

40

#### EJEMPLO 5

Tratamiento de arrugas periorbitarias

Una disolución acuosa que contiene PRG4 tiene la siguiente composición:

Disolución de PRG4:	
PRG4	1 mg/ml
Ácido hialurónico	20 mg/ml
Solución salina tamponada con fosfato pH 7,0	c.s.

- 5 Se prepara una disolución acuosa de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado que es adecuado para inyección.

10 Estudio clínico: Un estudio clínico controlado doble ciego, aleatorizado, de 12 semanas evalúa la eficacia de la disolución inyectable de PRG4/ácido hialurónico bisemanal en comparación con una inyección de ácido hialurónico 20 mg/ml sola y un placebo.

15 Se incluyen 150 pacientes con arrugas periorbitarias de moderadas a intensas. Se evalúa la intensidad de las arrugas con una escala de clasificación de la intensidad de las arrugas validada de cinco etapas (WSRS) (es decir, ninguna, leve, moderada, intensa, extrema) por un evaluador ciego *in situ*.

15 Criterio de valoración primario: El criterio de valoración de estudio primario fue la intensidad de las arrugas 12 semanas tras conseguirse la reparación óptima. Se define el éxito del paciente como que mantiene una mejora de al menos un punto en la WSRS a las 12 semanas tras conseguirse la reparación óptima.

20 Criterio de valoración secundario: Se valora la WSRS a las 2, 6 y 24 semanas tras la reparación óptima.

25 Las valoraciones de seguridad incluyen la recogida de síntomas de pacientes en un diario de 14 días, la evaluación por parte del investigador de experiencias adversas a las 72 horas, y a las 2, 6, 12 y 24 semanas y el desarrollo de inmunidad humoral o mediada por células.

#### EJEMPLO 6

Administración de fármacos transdérmica

- 30 Un gel de diclofenaco al 3% que contiene PRG4 tiene la siguiente composición:

Gel de diclofenaco al 3%	
Diclofenaco sódico	3%
PRG4	2%
Monometil éter de polietilenglicol	20%
Alcohol bencílico	0,01%
Agua	c.s.

35 Se prepara un gel de diclofenaco en un portador de PRG4 de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado que es adecuado para la administración tópica.

40 Estudio clínico: Un estudio clínico controlado, doble ciego, aleatorizado, de 12 semanas, evalúa la eficacia del diclofenaco en gel portador de PRG4 en comparación con un vehículo de gel solo sobre queratosis actínicas (AK).

40 200 pacientes con no menos de cinco lesiones de AK en una zona corporal principal, definida como una región de 5 cm por 5 cm del cuero cabelludo, frente, rostro, frente y mano. Los pacientes se someten a un periodo de lavado de 60 días de medicamentos no permitidos (masoprocol, 5-fluorouracilo, retinoides, ciclosporina, etc.).

45 Se instruye a los pacientes para que apliquen el gel de diclofenaco sobre la piel afectada a lo largo de la lesión. Al final del estudio de tratamiento, se evalúa el aclaramiento completo de lesiones de queratosis actínica. Se realiza una evaluación de seguimiento 30 días después del tratamiento.

#### EJEMPLO 7

50 Lubricación durante la lactancia

Una crema lubricante que contiene PRG4 tiene la siguiente composición:

Crema lubricante de PRG4	
PRG4	2-5%

## ES 2 532 526 T3

Raíz de malva	2%
Aceite de coco	10%
Manteca de karité	c.s.

Se prepara una crema lubricante que contiene PRG4 de la fórmula anterior mezclando entre sí los componentes indicados anteriormente para preparar un producto terminado que es adecuado para la administración tópica.

- 5 Aplicación: Se aplica una crema lubricante que contiene PRG4 a zonas de sensibilidad, dolor o sequedad tras la lactancia materna.

### Lista de secuencias

- 10 <110> LUBRIS, LLC SCHEPENS EYE RESEARCH INSTITUTE  
<120> APLICACIÓN Y USOS DE PRG4 Y MODULACIÓN TERAPÉUTICA DE LA MISMA  
<140> Documento EP 10778522.2  
15 <141> 24-05-2010  
<150> Documento US 61/180.525  
<151> 22-05-2009  
20 <160> 3  
<170> PatentIn versión 3.5  
<210> 1  
25 <211> 1404  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
<400> 1  
30

ES 2 532 526 T3

Met Ala Trp Lys Thr Leu Pro Ile Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Val  
 1 5 10 15

Phe Val Ile Gln Gln Val Ser Ser Gln Asp Leu Ser Ser Cys Ala Gly  
 20 25 30

Arg Cys Gly Glu Gly Tyr Ser Arg Asp Ala Thr Cys Asn Cys Asp Tyr  
 35 40 45

Asn Cys Gln His Tyr Met Glu Cys Cys Pro Asp Phe Lys Arg Val Cys  
 50 55 60

Thr Ala Glu Leu Ser Cys Lys Gly Arg Cys Phe Glu Ser Phe Glu Arg  
 65 70 75 80

Gly Arg Glu Cys Asp Cys Asp Ala Gln Cys Lys Lys Tyr Asp Lys Cys  
 85 90 95

Cys Pro Asp Tyr Glu Ser Phe Cys Ala Glu Val His Asn Pro Thr Ser  
 100 105 110

Pro Pro Ser Ser Lys Lys Ala Pro Pro Pro Ser Gly Ala Ser Gln Thr  
 115 120 125

Ile Lys Ser Thr Thr Lys Arg Ser Pro Lys Pro Pro Asn Lys Lys Lys  
 130 135 140

Thr Lys Lys Val Ile Glu Ser Glu Glu Ile Thr Glu Glu His Ser Val  
 145 150 155 160

Ser Glu Asn Gln Glu Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser  
 165 170 175

ES 2 532 526 T3

Ser Thr Ile Arg Lys Ile Lys Ser Ser Lys Asn Ser Ala Ala Asn Arg  
180 185 190

Glu Leu Gln Lys Lys Leu Lys Val Lys Asp Asn Lys Lys Asn Arg Thr  
195 200 205

Lys Lys Lys Pro Thr Pro Lys Pro Pro Val Val Asp Glu Ala Gly Ser  
210 215 220

Gly Leu Asp Asn Gly Asp Phe Lys Val Thr Thr Pro Asp Thr Ser Thr  
225 230 235 240

Thr Gln His Asn Lys Val Ser Thr Ser Pro Lys Ile Thr Thr Ala Lys  
245 250 255

Pro Ile Asn Pro Arg Pro Ser Leu Pro Pro Asn Ser Asp Thr Ser Lys  
260 265 270

Glu Thr Ser Leu Thr Val Asn Lys Glu Thr Thr Val Glu Thr Lys Glu  
275 280 285

Thr Thr Thr Thr Asn Lys Gln Thr Ser Thr Asp Gly Lys Glu Lys Thr  
290 295 300

Thr Ser Ala Lys Glu Thr Gln Ser Ile Glu Lys Thr Ser Ala Lys Asp  
305 310 315 320

Leu Ala Pro Thr Ser Lys Val Leu Ala Lys Pro Thr Pro Lys Ala Glu  
325 330 335

Thr Thr Thr Lys Gly Pro Ala Leu Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro  
340 345 350

Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Ser Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro  
355 360 365

Thr Thr Ile Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr  
370 375 380

Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr  
385 390 395 400

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr  
405 410 415

Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser Ala Pro Thr Thr Pro  
420 425 430

ES 2 532 526 T3

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro  
 435 440 445

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Thr Pro Thr Thr Pro  
 450 455 460

Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys  
 465 470 475 480

Glu Pro Ala Pro Thr Ala Pro Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys  
 485 490 495

Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys  
 500 505 510

Glu Pro Ser Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys  
 515 520 525

Ser Ala Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Thr Lys Ser  
 530 535 540

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ser Pro Thr Thr Thr Lys Glu Pro  
 545 550 555 560

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro  
 565 570 575

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro  
 580 585 590

Ala Pro Thr Thr Thr Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro  
 595 600 605

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Leu  
 610 615 620

Thr Pro Thr Thr Pro Glu Lys Leu Ala Pro Thr Thr Pro Glu Lys Pro  
 625 630 635 640

Ala Pro Thr Thr Pro Glu Glu Leu Ala Pro Thr Thr Pro Glu Glu Pro  
 645 650 655

Thr Pro Thr Thr Pro Glu Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Ala Ala  
 660 665 670

Ala Pro Asn Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro  
 675 680 685

ES 2 532 526 T3

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr  
690 695 700

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Gly Thr Ala Pro Thr Thr Leu Lys Glu Pro  
705 710 715 720

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Lys Glu Leu Ala Pro Thr  
725 730 735

Thr Thr Lys Glu Pro Thr Ser Thr Thr Cys Asp Lys Pro Ala Pro Thr  
740 745 750

Thr Pro Lys Gly Thr Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr  
755 760 765

Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Gly Thr Ala Pro Thr  
770 775 780

Thr Leu Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Lys  
785 790 795 800

Glu Leu Ala Pro Thr Thr Thr Lys Gly Pro Thr Ser Thr Thr Ser Asp  
805 810 815

Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr Ala Pro Thr Thr Pro Lys  
820 825 830

Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Lys Pro Ala Pro Thr Thr Pro Glu  
835 840 845

Thr Pro Pro Pro Thr Thr Ser Glu Val Ser Thr Pro Thr Thr Thr Lys  
850 855 860

Glu Pro Thr Thr Ile His Lys Ser Pro Asp Glu Ser Thr Pro Glu Leu  
865 870 875 880

Ser Ala Glu Pro Thr Pro Lys Ala Leu Glu Asn Ser Pro Lys Glu Pro  
885 890 895

Gly Val Pro Thr Thr Lys Thr Pro Ala Ala Thr Lys Pro Glu Met Thr  
900 905 910

Thr Thr Ala Lys Asp Lys Thr Thr Glu Arg Asp Leu Arg Thr Thr Pro  
915 920 925

Glu Thr Thr Thr Ala Ala Pro Lys Met Thr Lys Glu Thr Ala Thr Thr  
930 935 940

Thr Glu Lys Thr Thr Glu Ser Lys Ile Thr Ala Thr Thr Thr Gln Val



ES 2 532 526 T3

945                                      950                                      955                                      960  
 Thr Ser Thr Thr Thr Gln Asp Thr Thr Pro Phe Lys Ile Thr Thr Leu  
     965                                      970                                      975  
  
 Lys Thr Thr Thr Leu Ala Pro Lys Val Thr Thr Thr Lys Lys Thr Ile  
     980                                      985                                      990  
  
 Thr Thr Thr Glu Ile Met Asn Lys Pro Glu Glu Thr Ala Lys Pro Lys  
     995                                      1000                                      1005  
  
 Asp Arg Ala Thr Asn Ser Lys Ala Thr Thr Pro Lys Pro Gln Lys  
     1010                                      1015                                      1020  
  
 Pro Thr Lys Ala Pro Lys Lys Pro Thr Ser Thr Lys Lys Pro Lys  
     1025                                      1030                                      1035  
  
 Thr Met Pro Arg Val Arg Lys Pro Lys Thr Thr Pro Thr Pro Arg  
     1040                                      1045                                      1050  
  
 Lys Met Thr Ser Thr Met Pro Glu Leu Asn Pro Thr Ser Arg Ile  
     1055                                      1060                                      1065  
  
 Ala Glu Ala Met Leu Gln Thr Thr Thr Arg Pro Asn Gln Thr Pro  
     1070                                      1075                                      1080  
  
 Asn Ser Lys Leu Val Glu Val Asn Pro Lys Ser Glu Asp Ala Gly  
     1085                                      1090                                      1095  
  
 Gly Ala Glu Gly Glu Thr Pro His Met Leu Leu Arg Pro His Val  
     1100                                      1105                                      1110  
  
 Phe Met Pro Glu Val Thr Pro Asp Met Asp Tyr Leu Pro Arg Val  
     1115                                      1120                                      1125  
  
 Pro Asn Gln Gly Ile Ile Ile Asn Pro Met Leu Ser Asp Glu Thr  
     1130                                      1135                                      1140  
  
 Asn Ile Cys Asn Gly Lys Pro Val Asp Gly Leu Thr Thr Leu Arg  
     1145                                      1150                                      1155  
  
 Asn Gly Thr Leu Val Ala Phe Arg Gly His Tyr Phe Trp Met Leu  
     1160                                      1165                                      1170  
  
 Ser Pro Phe Ser Pro Pro Ser Pro Ala Arg Arg Ile Thr Glu Val  
     1175                                      1180                                      1185  
  
 Trp Gly Ile Pro Ser Pro Ile Asp Thr Val Phe Thr Arg Cys Asn  
     1190                                      1195                                      1200

ES 2 532 526 T3

Cys Glu Gly Lys Thr Phe Phe Phe Lys Asp Ser Gln Tyr Trp Arg  
 1205 1210 1215

Phe Thr Asn Asp Ile Lys Asp Ala Gly Tyr Pro Lys Pro Ile Phe  
 1220 1225 1230

Lys Gly Phe Gly Gly Leu Thr Gly Gln Ile Val Ala Ala Leu Ser  
 1235 1240 1245

Thr Ala Lys Tyr Lys Asn Trp Pro Glu Ser Val Tyr Phe Phe Lys  
 1250 1255 1260

Arg Gly Gly Ser Ile Gln Gln Tyr Ile Tyr Lys Gln Glu Pro Val  
 1265 1270 1275

Gln Lys Cys Pro Gly Arg Arg Pro Ala Leu Asn Tyr Pro Val Tyr  
 1280 1285 1290

Gly Glu Thr Thr Gln Val Arg Arg Arg Arg Phe Glu Arg Ala Ile  
 1295 1300 1305

Gly Pro Ser Gln Thr His Thr Ile Arg Ile Gln Tyr Ser Pro Ala  
 1310 1315 1320

Arg Leu Ala Tyr Gln Asp Lys Gly Val Leu His Asn Glu Val Lys  
 1325 1330 1335

Val Ser Ile Leu Trp Arg Gly Leu Pro Asn Val Val Thr Ser Ala  
 1340 1345 1350

Ile Ser Leu Pro Asn Ile Arg Lys Pro Asp Gly Tyr Asp Tyr Tyr  
 1355 1360 1365

Ala Phe Ser Lys Asp Gln Tyr Tyr Asn Ile Asp Val Pro Ser Arg  
 1370 1375 1380

Thr Ala Arg Ala Ile Thr Thr Arg Ser Gly Gln Thr Leu Ser Lys  
 1385 1390 1395

Val Trp Tyr Asn Cys Pro  
 1400

<210> 2

<211> 18

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: cebador sintético

10

<400> 2

gatgcagggt accccaaa 18

5 <210> 3  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Descripción de secuencia artificial: cebador sintético

<400> 3

15 cagactttgg ataaggtctg cc 22

## REIVINDICACIONES

1. Composición para el cuidado bucal para su uso en un método de tratamiento de un trastorno o síntomas asociados con lubricación límite de la cavidad bucal disminuida o úlceras bucales, comprendiendo la composición una cantidad o concentración eficaz de PRG4 aislada, purificada o recombinante o un fragmento de la misma.
2. Composición para el cuidado bucal según la reivindicación 1, en la que la PRG4: (i) está en una concentración de 10-10.000 µg/ml y/o (ii) tiene una masa molar promedio de entre 50 kDa y 400 kDa.
3. Composición para el cuidado bucal según la reivindicación 1, en la que la PRG4 se formula en una solución salina acuosa equilibrada osmóticamente, emulsión multifásica, gel, líquido, crema, pomada, pulverización, pasta, disolución viscosa, dispositivo de liberación lenta, pastilla para chupar o goma.
4. Composición para el cuidado bucal según la reivindicación 1, en la que el trastorno o los síntomas asociados con lubricación límite de la cavidad bucal disminuida es xerostomía, síndrome de Sjögren, alergia, trastornos de la superficie bucal, inflamación crónica, hiperosmolaridad, envejecimiento o daño nervioso; o efectos secundarios asociados con fármacos de venta con receta o de venta sin receta, radioterapia, quimioterapia, o cualquier combinación de los mismos.
5. Composición para el cuidado bucal según la reivindicación 1 que comprende además:
- (a) hialuronato de sodio o ácido hialurónico, opcionalmente en una concentración de 10-100.000 µg/ml o 500-5.000 µg/ml;
- (b) aproximadamente del 0,25% en peso al 10% en peso de extracto líquido de *Eriodictyon*;
- (c) aproximadamente del 1,0% en peso al 30% en peso de agente edulcorante o aromatizante;
- (d) un compuesto estimulante seleccionado del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido ascórbico, y mezclas de los mismos, en una cantidad eficaz para estimular la secreción de glándulas salivales;
- (e) uno o más anestésicos locales seleccionados del grupo que consiste en lidocaína, lignocaína y prilocaína, y/o
- (f) una o más enzimas encontradas en la saliva, opcionalmente en la que la enzima es lactoperoxidasa, tiocianato y glucosaoxidasa.
6. Composición para el cuidado bucal según la reivindicación 1, en la que la composición es una composición de goma de mascar para mejorar la lubricación límite de la cavidad bucal que comprende:
- (a) aproximadamente del 0,25% en peso al 10% en peso de extracto líquido de *Eriodictyon*, aceite de cítricos, aceite de limón, aceite de lima, aceite de azahar, aceite de naranja, un aceite de menta, aceite de menta piperita, aceite de hierbabuena, aceite de anís, aceite de cardamomo, aceite de canela, aceite de clavo, aceite de cilantro, aceite de eucalipto, aceite de hinojo, aceite de citronela, aceite de nuez moscada, extracto líquido de *Eriodictyon* o extracto de glicirrizia;
- (b) aproximadamente del 1,0% en peso al 30% en peso de agente edulcorante o aromatizante;
- (c) un compuesto estimulante seleccionado del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido ascórbico, y mezclas de los mismos, en una cantidad eficaz para estimular la secreción de glándulas salivales;
- (d) una base de goma;
- (e) una cantidad terapéuticamente eficaz de PRG4; y
- (f) una cantidad terapéuticamente eficaz de hialuronato de sodio.
7. Composición para el cuidado bucal según la reivindicación 1, en la que la composición es una composición de pastilla para chupar para mejorar la lubricación límite de la cavidad bucal que comprende un sólido conformado que comprende:
- (a) aproximadamente del 0,25% en peso al 10% en peso de extracto líquido de *Eriodictyon*;
- (b) aproximadamente del 1,0% en peso al 30% en peso de edulcorante;
- (c) un compuesto estimulante seleccionado del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido ascórbico, y mezclas de los mismos, en una cantidad eficaz para estimular la secreción de glándulas salivales; y

(d) una base de gelatina;

(e) una cantidad terapéuticamente eficaz de PRG4; y

5

(f) una cantidad terapéuticamente eficaz de hialuronato de sodio.

FIGURA 1



N.º de banda	
1- Marcadores de ADN	9- Marcadores de ADN
2- Sin control de molde	10- Sin control de molde
3- Lagrimal de la hembra 1	11- Submandibular de la hembra 1
4- Lagrimal de la hembra 2	12- Submandibular de la hembra 2
5- Lagrimal de la hembra 3	13- Submandibular de la hembra 3
6- Lagrimal del macho 1	14- Submandibular del macho 1
7- Lagrimal del macho 2	15- Submandibular del macho 2
8- Lagrimal del macho 3	16- Submandibular del macho 3

FIGURA 2

SEQ ID NO:1

MAWKTLPIYLLLLLSVFVIQQVSSQDLSSCAGRCGEGYSRDATCNC DYNQCQHMEC  
CPDFKRVCTAELSCKGRCFESFERGRECDCAQCKKYDKCCPDYESFCAEVHNPTSP  
PSSKKAPPPSGASQTIKSTTKRSPKPPNKKKTKKVIIESEEITEEHSVSENQESSSSSSSS  
SSSTIRKIKSSKNSAANRELQKKLKVKDNKKNRRTKKKPTPKPPVVDEAGSGLDNGDF  
KVTTTPTDSTTQHNVSTSPKITTAKPINRPSLPPNSDTSKETS LTVNKETT VETKETT  
TNKQSTSDGKEKTTS AKETQSIEKTS AKDLAPT SKVLAKPTPKAETT TKGPA LTT PKE  
PTPTTPKEPASTTPKEPTPTTIKSAPTTPKEPAPTTT KSAPTTPKEPAPTTTKEPAPTT P  
EPAPTTTKEPAPTTT KSAPTTPKEPAPTTPKKAPTTTPKEPAPTTTPKEPTPTTPKEPAPT  
KEPAPTTTPKEPAPTAPKKAPTTTPKEPAPTTTPKEPAPTTT KEPSPTTPKEPAPTTT KSAP  
TTTKEPAPTTT KSAPTTPKEPSPTTTKEPAPTTTPKEPAPTTPKKAPTTTPKEPAPTTTPKE  
APTTT KKAPTTTPKEPAPTTPKETAPTTPKLTPTTPEKLAPTTPEKAPTTPEELAPTT  
PEEPTPTTPEEPAPTTPKAAAPNTPKEPAPTTTPKEPAPTTTPKEPAPTTPKETAPTTPKGT  
APTTLKEPAPTTPKKPAKELAPTTTKEPTSTTCDKAPTTPKGTAPTTTPKEPAPTTPKE  
PAPTTPKGTAPTTLKEPAPTTPKKPAKELAPTTTKGPTSTTSDKAPTTPKETAPTTPK  
EPAPTTPKKAPTTPETPPPTTSEVSTPTTTKEPTTIHKSPDESTPELSA EPTPKALENSP  
KEPGVPTTKTPAATKPEMTTAKDKTTERDLRTPETTTAAPKMTKETATTTEKTTES  
KITATTTQVTSTTTQDTPFKITTLKTTTLAPKVTTTKKTTTTTEIMNKPEETAKPKDRA  
TNSKATTPKPQKPTKAPKKPTSTKKPKTMPRVKPKTTPTPRKMTSTMPELNPTSRIA  
EAMLQTTTRPNQTPNSKLVEVNPKSEDAGGAEGETPHMLLRPHVFMPEVTPDMDYL  
PRVNPQIIINPMLSDETNICNGKPV DGLTTLRNGTLVAFRGHYFWMLSPFSPSPARR  
ITEVWGPSPIDTVFTRCNCEGKTFFFKDSQYWRFTNDIKDAGYPKPIFKGFGGLTGQI  
VAALSTAKYKNWPESVYFFKRGGSIQQYIYKQEPVQKCPGRRPALNYPVYGETTQVR  
RRRFERAIGPSQHTTIRIQYSPARLAYQDKGVLHNEVKVSILWRGLPNVV TSAISLPNI  
RKPDGYDYYAFSKDQYYNIDVPSRTARAITTRSGQTL SKVWYNCP

SEQ ID NO:2: GATGCAGGGTACCCCAA (humano, sentido)

SEQ ID NO:3: CAGACTTTGGATAAGGTCTGCC (humano, antisentido)