

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 628**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.07.2012** **PCT/IB2012/001619**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.01.2013** **WO13005108**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2012** **E 12758888 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2016** **EP 2729173**

54 Título: **Terapia dirigida al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)**

30 Prioridad:

06.07.2011 US 201161504737 P

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

30.11.2016

73 Titular/es:

SYKEHUSET SORLANDET HF (100.0%)

Postboks 416

4604 Kristiansand, NO

72 Inventor/es:

KERSTEN, CHRISTIAN;

CAMERON, MARTE, GRONLIE y

MJALAND, SVEIN

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 592 628 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

Terapia dirigida al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

Campo de la invención

5 Se describen aquí composiciones y métodos para el tratamiento de trastornos neurológicos. En particular, la presente invención se relaciona con EGFR como un objetivo clínico para tratamiento de trastornos neurológicos.

Antecedentes de la invención

10 El dolor crónico y/o neuropático después de daño neuronal es un problema de salud mundial principal. El dolor neuropático (NP) es provocado por una lesión o enfermedad primaria del sistema somatosensorial (Jensen TS, Baron R, Haanpaa M, et al. A new definition of neuropathic pain. *pain* 2011;152:2204-5). No comúnmente, su severidad, cronicidad y efecto secundario deficiente para beneficiar la proporción de farmacoterapia actual para NP (Dworkin RH. An Overview of neuropathic pain: syndromes, symptoms, signs, and several mechanisms. *Clin J Pain* 2002; 18:343-9; Finnerup NB, Sindrup SH, Jensen TS. The evidence for pharmacological treatment of neuropathic pain. *pain* 2010;150:573-81) lleva a funcionamiento físico y psicológico dañado severamente entre los que la sufren (Jensen MP, Chodroff MHJ. Dworkin RH. The impact of neuropathic pain on health-related quality of life: review and implications. *Neurology* 2007;68:1178-82). En la población general, la incidencia de NP se estima que es del 1% (Dieleman JP, Kerklaan J, Huygen FJ, Bouma PA, Sturkenboom MC. Incidence rates and treatment of neuropathic pain conditions in the general population. *Pain* 2008;137:681-8) an rising (Dworking, supra). La prevalencia resultante de NP moderada a crónica severa es 5% (Bouhassira D, Lanteri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain* 2008;136:380-7), haciéndolo un tremendo y común problema de salud mundial.

25 A pesar de las numerosas etiologías de NP, el mecanismo de su perpetuación, independientemente del origen, parece implicar la interacción de células neuronales, gliales e inmunitarias (Scholz J, Wolf CJ. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci* 2007;10:1361-8). La comunicación entre estas células ha sido atribuido a señalización por medio de la familia de proteínas cinasa activadas por mitógeno (MAPK por sus siglas en inglés) (Ji RR, Gereau RWt, Malcangio M, Strichartz GR. MAP kinase and pain. *Brain Res Rev* 2009;60:135-48).

30 El dolor neuropático es un estado de dolor complejo, crónico que usualmente está acompañado por daño de tejido. Con dolor neuropático, las fibras nerviosas por sí mismas pueden ser dañadas, lesionadas o quedar disfuncionales. Estas fibras nerviosas dañadas envían señales incorrectas a otros centros de dolor. El impacto de daño a la fibra nerviosa incluye un cambio en función nerviosa tanto en el sitio de daño y áreas alrededor del daño. Algunos estudios de dolor neuropático sugieren el uso de fármacos anti inflamatorios no esteroideos, como Aleve o Motrin, que pueden aligerar el dolor. Alguna gente puede requerir un calmante de dolor más fuerte, como aquellos que contienen morfina. Los fármacos anticonvulsivos y antidepresivos parecen funcionar en algunos casos. Si otra condición, como diabetes, está implicada, mejor manejo de aquel trastorno puede aliviar el dolor.

35 En casos que son difíciles de tratar, un especialista en dolor puede usar terapias de dispositivos invasivos o implantables para manejar El dolor. La estimulación eléctrica de los nervios implicada en generación de dolor neuropático puede también controlar los síntomas de dolor.

40 Desafortunadamente, el dolor neuropático con frecuencia responde deficientemente a tratamientos de dolor estándar y ocasionalmente puede empeorar en lugar de mejorar con el paso del tiempo. Para algunas personas, puede llevar a discapacidad seria. Los tratamientos actuales se caracterizan por una relación beneficio a efecto secundario insatisfactoria.

De esta forma, se necesitan urgentemente terapias adicionales que se dirijan a trastornos neurológicos como dolor neuropático.

Resumen de la invención

45 Se describen aquí composiciones y métodos para tratamiento de trastornos neurológicos. En particular, la presente invención se relaciona con EGFR como un objetivo clínico para tratamiento de dolor neuropático.

50 Se describen aquí métodos para tratar un sujeto con un trastorno neurológico que comprende administrar al sujeto un agente que inhibe por lo menos una función biológica de un polipéptido EGFR. El sujeto puede exhibir síntomas de un trastorno neurológico y dicha administración de dicho agente reduce o modula los síntomas del trastorno neurológico. La presente invención se relaciona con un inhibidor de EGFR para uso en el tratamiento del dolor neuropático. En algunas realizaciones, el reactivo es una proteína de fijación a antígeno que se une específicamente al polipéptido de EGFR. En algunas realizaciones, la proteína de fijación a antígeno se selecciona del grupo que

consiste de bevacizumab, cetuximab, conatumumab, ganitumab, matuzumab, necitumumab, nimotuzumab, panitumumab, rilotumumab, trastuzumab y zalutumumab. En algunas realizaciones, la proteína de fijación a antígeno se selecciona preferentemente del grupo que consiste de Cetuximab o Panitumumab. En algunas realizaciones, el reactivo es un fármaco de molécula pequeña. En algunas realizaciones, el fármaco de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste de afatinib, erlotinib, gefitinib, lapatinib, neratinib y vandetanib. En algunas realizaciones, el fármaco de molécula pequeña se selecciona preferentemente del grupo que consiste de Gefitinib y Erlotinib. En algunas realizaciones, el sujeto es un animal. En algunas realizaciones, el animal es humano. En algunas realizaciones, el sujeto no tiene cáncer o no ha sido previamente tratado para cáncer. En algunas realizaciones, el trastorno neurológico es dolor neuropático. Se describe aquí el tratamiento de trastornos neurológicos del grupo que consiste de dolor de ciática, esclerosis múltiple, depresión, demencia, enfermedad de Parkinson, apoplejía, axotomía e isquemia o daño de reperusión, síndrome de Down y autismo. En algunas realizaciones, el agente que inhibe por lo menos una función biológica de un polipéptido EGFR es coadministrado con por lo menos agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, el por lo menos agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, fármacos antiinflamatorios esteroideos, medicamentos en base a opioides, antidepresivos, anticonvulsivos, antiepilepticos, fármacos antiansiedad, y cannabinoides y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento del dolor neuropático, que comprende administrar un inhibidor de EGFR a un sujeto que exhibe síntomas de un dolor neuropático, en donde dicha administración reduce, modula o elimina dichos síntomas. En algunas realizaciones, el inhibidor de EGFR se coadministra con el por lo menos agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, el por lo menos agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste de fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, fármacos anti-inflamatorios esteroideos, medicamentos en base a opioides, antidepresivos, anticonvulsivos, antiepilepticos, fármacos antiansiedad, y cannabinoides y combinaciones de los mismos.

Se describe aquí el uso de un agente que inhibe por lo menos una función biológica de un EGFR para el tratamiento de un trastorno neurológico. Los trastornos neurológicos se pueden seleccionar del grupo que consiste de dolor neuropático, ciática, esclerosis múltiple, depresión, demencia, enfermedad de Parkinson, apoplejía, isquemia o daño de reperusión, axotomía, síndrome de Down y autismo. El reactivo puede ser una proteína de fijación a antígeno que se une específicamente al polipéptido EGFR. La proteína de fijación a antígeno se selecciona del grupo que consiste de bevacizumab, cetuximab, conatumumab, ganitumab, matuzumab, necitumumab, nimotuzumab, panitumumab, ulolumumab, trastuzumab y zalutumumab. La proteína de fijación a antígeno se selecciona preferentemente del grupo que consiste de Cetuximab o Panitumumab. El reactivo se puede seleccionar de un fármaco de molécula pequeña. El fármaco de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste de afatinib, erlotinib, gefitinib, lapatinib, neratinib y vandetanib. El fármaco de molécula pequeña se selecciona preferentemente del grupo que consiste Gefitinib y Erlotinib. El agente que inhibe por lo menos una función biológica de un polipéptido EGFR se coadministra con por lo menos agente terapéutico adicional. El por lo menos un agente terapéutico adicional se puede seleccionar del grupo que consiste de fármacos no esteroideos antiinflamatorios, fármacos antiinflamatorios esteroideos, fármacos a base de opioides, antidepresivos, anticonvulsivos, antiepilepticos, fármacos antiansiedad, y cannabinoides y combinaciones de los mismos. La administración o coadministración puede reducir o modular síntomas del trastorno neurológico.

En la presente se describen realizaciones adicionales.

Descripción de las figuras

Las figuras 1a-d proporciona representaciones gráficas de tratamientos de acuerdo con la presente invención. a) Caso 2. Las fotografías representan la persistencia de anomalías típicas de CRPS1, en la mano derecha del paciente. El tratamiento con el inhibidor EGFR cetuximab libera su NP pero no tiene influencia en la patología vasomotora de la afección subyacente. b) Caso 3. Imagen de resonancia magnética tomada seis semanas postoperativamente, debido a la recurrencia de dolor de espalda NP, después de mejora inicial. La imagen demuestra formación de tejido de cicatriz patológica alrededor de la quinta raíz nerviosa de la parte lumbar del paciente. c y d) Caso 4. El barrido de tomografía computarizada de la pelvis del paciente antes de c) y después de d) inhibición de EGFR. En el intervalo entre barridos, el paciente se alivió completamente de su NP a pesar del crecimiento de tumor pélvico que invadió gradualmente los nervios sacros.

La figura 2 proporciona gráficas de mediciones BPI antes y después de introducción de inhibición EGFR.

Definiciones

Para facilitar el entendimiento de la presente invención, se define a continuación un número de términos y frases:

Como se utiliza en la presente, el término "dolor neuropático" se refiere a un estado de dolor crónico, complejo que usualmente está acompañado por daño al tejido. El dolor neuropático incluye, pero no se limita a los siguientes

síndromes y estados de enfermedad: Compresión nerviosa, síndromes de dolor regional complejos tipos I y II, neuralgia trigeminal, dolor fantasma, neuropatía diabética, daño de la médula espinal y daño neuronal, es decir, cáncer, quemaduras y trauma.

Como se utiliza en la presente, el término “inhibe por lo menos una actividad biológica de EGFR” se refiere a cualquier agente que disminuye cualquier actividad de EGFR (por ejemplo, que incluye, pero no limitado a, las actividades descritas en la presente), por medio de poner en contacto directamente proteína EGFR, poner en contacto ARNm de EGFR o ADN genómico, provocar cambios conformacionales de polipéptidos EGFR, disminuir niveles de proteína EGFR o interferir con interacciones de EGFR con patrones de señalización como diferentes ligandos potenciales que incluyen, pero no se limitan a EGF, TGF-alfa, Neuregulin, NGF y/o homo y heterodímeros de receptores que incluyen, pero no se limitan a HER1, HER2, HER3 Y HER4 Y que afecta la expresión de genes objetivos de EGFR. Los inhibidores también incluyen moléculas que regulan indirectamente actividad biológica de EGFR al interceptar moléculas de señalización en la dirección 3’.

Como se utiliza en la presente, el término “siARN” se refiere a ARN pequeño de interferencia. En algunas realizaciones, los siARN comprenden una región dúplex o de doble hebra, de aproximadamente 18-25 nucleótidos de largo; con frecuencia los siARN contienen de aproximadamente dos a cuatro nucleótidos dañados en el extremo 3’ de cada hebra. Por lo menos una hebra de la región dúplex o de doble hebra de un siARN es substancialmente homólogo a, o substancialmente complementario a, una molécula de ARN objetivo. La hebra complementaria a una molécula de ARN objetivo es la “hebra antisentido”; la hebra homóloga a la molécula de ARN objetivo es la “hebra con sentido” y es también es complementaria a la hebra antisentido siARN. El siARN también puede contener secuencias adicionales; ejemplos no limitantes de dichas secuencias incluyen secuencias de enlace, o bucles, así como también el tallo y otras estructuras duplicadas. El siARN parece funcionar como intermediarios clave en accionar la interferencia de ARN en vertebrados e invertebrados, y en accionar degradación de ARN específico a secuencia durante silenciamiento de genes posttranscripcionales en plantas.

El término “interferencia de ARN” o “ARNi” se refiere a silenciar o disminuir la expresión de genes por siARN. Es el proceso de silenciamiento de genes posttranscripcionales, específicos a secuencia en animales y plantas, iniciados por siARN que es homólogo en su región dúplex a la secuencia del gen silenciado. El gen puede ser endógeno o exógeno para el organismo, presente integrado en un cromosoma o presente en un vector de transfección que no está integrado en el genoma. La expresión del gen es inhibida completa o parcialmente. También se puede considerar que el ARNi puede inhibir la función de un ARN objetivo; la función del ARN objetivo puede ser completa o parcial.

El término “epítipo” como se utiliza en la presente se refiere a aquella porción de un antígeno que hace contacto con un anticuerpo particular.

Cuando se utiliza una proteína o fragmento de una proteína para inmunizar un animal huésped, numerosas regiones de la proteína pueden inducir la producción de anticuerpos los cuales enlazan específicamente a una región dada o estructura tridimensional en la proteína; estas regiones o estructuras son denominadas como “determinantes antigénicos”. Un determinante antigénico puede competir con el antígeno intacto (es decir, el “inmunógeno” utilizado para producir la respuesta inmunológica) para enlazar a un anticuerpo.

Los términos “enlace específico” o “enlazar específicamente” cuando se utiliza en referencia a la interacción de un anticuerpo y una proteína o péptido significa que la interacción es dependiente de la presencia de una estructura particular (es decir, el determinante antigénico o epítipo) en la proteína; en otras palabras el anticuerpo reconoce y enlaza a una estructura de proteína específica más que a proteínas en general. Por ejemplo, si un anticuerpo es específico para epítipo “A”, la presencia de una proteína que contiene epítipo A (o A libre, no etiquetado) en una reacción que contiene etiquetado “A” y el anticuerpo reducirá la cantidad de etiquetado A enlazado al anticuerpo.

Como se utiliza en la presente, los términos “enlace no específico” y “enlace de fondo” cuando se utiliza en referencia a la interacción de un anticuerpo y una proteína o péptido se refiere a una interacción que es no dependiente sobre la presencia de una estructura particular (es decir, el anticuerpo es enlazado a proteínas en general más que una estructura particular como un epítipo).

Como se utiliza en la presente, el término “sujeto” se refiere a cualquier animal (por ejemplo un mamífero), que incluye, pero no se limita a, humanos, primates no humanos, roedores y similares, que va a ser el receptor de un tratamiento particular. Típicamente, los términos “sujeto” y “paciente” son utilizados intercambiabilmente en la presente en referencia a un sujeto humano.

Como se utiliza en la presente, el término “animales no humanos” se refiere a todos los animales no humanos que incluyen pero no se limitan a, vertebrados como roedores, primates no humanos, ovinos, bovinos, rumiantes, lagomorfos, porcinos, caprinos, equinos, caninos, felinos, aves, etc.

El término “gen” se refiere a una secuencia ácido nucleico (por ejemplo ADN) que comprende secuencias de codificación necesarias para la producción de un polipéptido, precursor, o ARN (por ejemplo, ARNr, ARNt). El polipéptido puede ser codificado por una secuencia de codificación de longitud completa o por cualquier porción de la secuencia de codificación siempre y cuando se retengan la actividad o propiedades funcionales deseadas (por ejemplo, actividad enzimática, enlace de ligando, transducción de señal, inmunogenicidad, etc.) de la longitud completa o fragmento. El término también comprende la región de codificación de un gen estructural y las secuencias ubicadas adyacentes a la región de codificación en tanto los extremos 5' y 3' para una distancia de aproximadamente 1 kb o más en cualquier extremo de tal forma que el gen corresponde a la longitud del ARNm de longitud completa. Las secuencias ubicadas 5' de la región de codificación y presentes en el ARNm son denominadas como secuencias 5' no traducidas. Las secuencias ubicadas 3' o en dirección 3' de la región de codificación y presentes en el ARNm son denominadas como secuencias no traducidas 3'. El término “gen” comprende tanto cADN y formas genómicas de un gen. Una forma genómica o clon de un gen contiene la región de codificación interrumpida con secuencias no codificantes denominadas “intrones” o “regiones de intervención” o “secuencias de intervención”. Los intrones son segmentos de un gen que son transcritos en el ARN nuclear (hnRNA); intrones pueden contener elementos reguladores como incrementadores. Los intrones son removidos o “empalmados” a partir de la transcripción nuclear o primaria; los intrones por lo tanto están ausentes en la transcripción de ARN mensajero (ARNm). El ARNm funciona durante la traducción para especificar la secuencia u orden de aminoácidos en un polipéptido naciente.

Como se utiliza en la presente, el término “expresión de gen” se refiere al proceso de convertir información genética codificada en un gen en ARN (por ejemplo, ARNm, ARNr, ARNt o ARNsn) a través de la “transcripción” del gen (es decir, por medio de la acción enzimática de una ARN polimerasa) y para genes codificadores de proteína, en proteína a través de “traducción” del ARNm. La expresión del gen puede ser regulada en muchas etapas en el proceso. La “regulación ascendente” o “activación” se refiere a regulación que incrementa la producción de productos de expresión de genes (es decir, ARN o proteína), mientras que “regulación descendente” o “represión” se refiere a regulación que disminuye la producción. Moléculas (por ejemplo factores de transcripción) o regulación que están implicadas en regulación ascendente o descendente son con frecuencia llamadas “activadores” y “represores” respectivamente.

“Secuencia de aminoácidos” y términos como “polipéptido” o “proteína” no significan que limitan la secuencia de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos natural, completa asociada con la molécula de proteína descrita.

El término “proteína natural” como se utiliza en la presente para indicar que una proteína no contiene residuos de aminoácidos codificados por secuencias de vector, es decir, la proteína natural contiene solamente aquellos aminoácidos encontrados en la proteína como se presentan en la naturaleza. Una proteína natural puede ser producida por medios recombinantes o puede ser aislada a partir de una fuente que ocurre en forma natural.

Como se utiliza en la presente el término “porción” cuando hace referencia a una proteína (como en “una porción de una proteína dada”) se refiere a fragmentos de esa proteína. Los fragmentos pueden estar en el intervalo en tamaño de cuatro residuos de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos natural menos un aminoácido.

Como se utiliza en el presente documento, el término “in vitro” se refiere a un ambiente artificial y a procesos o reacciones que ocurren dentro de un ambiente artificial. Los ambientes in vitro pueden consistir de, pero no se limitan a, tubos de prueba y cultivo celular. El término “in vivo” se refiere al ambiente natural (por ejemplo un animal o una célula) y a procesos o reacciones que ocurren dentro de un ambiente natural.

Los términos “compuesto de prueba” y “compuesto candidato” se refiere a cualquier entidad química, farmacéutica, fármaco y similares que es un candidato para usar tratar o evitar una enfermedad, padecimiento, alteración de la salud o trastorno de la función corporal (por ejemplo trastornos neurológicos). Los compuestos de prueba comprenden compuestos terapéuticos conocidos y potenciales. Un compuesto de prueba se puede determinar que es terapéutico al seleccionar utilizando los métodos de selección descritos en la presente. En algunas realizaciones, los compuestos de prueba incluyen compuestos antisentido.

Como se utiliza en la presente, el término “muestra” se utiliza en su sentido más amplio. En un sentido, significa incluir un espécimen o cultivo obtenido de cualquier fuente, así como también muestras biológicas y ambientales. Las muestras biológicas pueden ser obtenidas de animales (incluyendo humanos) y comprenden fluidos, sólidos, tejidos y gases. Las muestras biológicas incluyen productos sanguíneos, como plasma, suero y similares. Las muestras ambientales incluyen material ambiental como materia superficial, tierra, agua, cristales y muestras industriales. Sin embargo los ejemplos no se constituyen como limitantes de los tipos de muestra aplicables a las composiciones y métodos descritos.

Descripción detallada de la invención

Se describen composiciones y métodos para tratamiento de trastornos neurológicos. En particular, se describe aquí EGFR como un objetivo clínico para el tratamiento de trastornos neurológicos.

I. Aplicaciones Terapéuticas

La presente invención se relaciona con composiciones y métodos para tratamiento de dolor neuropático. En particular, la presente invención se relaciona con EGFR como un objetivo clínico para tratamiento de dolor neuropático.

Se activa la señalización EGF-MAPK en neuronas y células gliales en respuesta a daño o disfunción. La inhibición de EGFR puede interrumpir un circuito de retroalimentación negativa, por lo mismo aliviando síntomas de dolor neuropático, como (dolor, dolor neuropático, MS, depresión, demencia, enfermedad de Parkinson, infarto, axotomía, etc.). Especialmente en dolor neuropático, se inhibe la sensibilización patológica de fibras nerviosas por dolor.

Se considera que el dolor debido a daño neuronal es generado y sostenido mediante señalización de MAPK por medio de tres rutas ERK, p38 Y JNK en nervios centrales, espinales y periféricos, así como también en células gliales periféricas y centrales como astrocitos y células Schwann (Ji RR, Gereau RWt, Malcangio M, Strichartz GR. MAP cinasa y dolor. *Brain Res Rev* 2009;60(1):135-48). Adicionalmente, la comunicación entre células neuronales, células gliales y células inmunitarias es un factor patogénico establecido en dolor neuropático (Scholz J, Wolf CJ. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat. Neurosci.* 2007;10(11):1361-8). Activación de y comunicación entre estas células después de daño neuronal se ha mostrado que es dependiente en señalización de MAPK, potencialmente activado por EGFR, lo cual es sobrerregulado en el sistema nervioso (Werner MH, Nanney LB, Stoscheck CM, King LE. Localization of immunoreactive epidermal growth factor receptors in human nervous system. *J. Histochem. Cytochem.* 1988; 36(1) :81-6; Maklad A, Nicolai JR, Bichsel KJ, Evenson JE, Lee TC, Threadgill DW, et al. The EGFR is required for proper innervation to the skin. *J. Invest. Dermatol.* 2009;129(3):690-8; JiRR. Mitogen-activated protein kinases as potential targets for pain killers. *Curr Opin Investig Drugs* 2004;5(1) :71-5).

La activación de rutas de señalización de MAPK es de importancia establecida en enfermedades neurológicas y dolor neuropático. La inhibición de EGFR bloquea varias de estas rutas efectivamente (JNK, RASMEK- ERK, STAT, etc.). Se describen aquí métodos para tratar dolor neuropático al inhibir EGFR. Por ejemplo, se describen métodos para inhibir el receptor EGF para tratar dolor, dolor neuropático, MS, depresión, demencia, enfermedad de Parkinson, apoplejía, isquemia y daño de reperusión, daño cerebral isquémico, y axotomía. Véase por ejemplo, Oyagi et al., *Neuroscience*, 2011 junio 30:185:116-24 y Chen-Plotkin et al., *Ann Neurol.* 2011 Apr; 69(4):655-63. También se contempla que la administración de los agentes de la presente invención sea útil para mejorar síntomas asociados con trastornos genéticos como síndrome de Down y autismo.

Experimentos realizados durante el curso de desarrollo de realizaciones de la presente invención demuestra una reducción de dolor dramático, inmediato y repetitiva sin regresión tumoral en un paciente con dolor neuropático. Este efecto es observado en un paciente tratado con Cetuximab.

Por consiguiente, la presente invención proporciona métodos para utilizar un reactivo que inhibe por lo menos una función biológica de un polipéptido EGFR para reducir, mejorar o modular o proporcionar profilaxis, para uno o más síntomas asociados con las siguientes enfermedades o trastornos; dolor, dolor neuropático, ciática, MS, depresión, demencia, enfermedad de Parkinson, apoplejía, isquemia y daño de reperusión, daño cerebral isquémico, axotomía, síndrome de Down y autismo.

A. Terapia anticorporal

En algunas realizaciones, la presente invención utiliza anticuerpos que se dirigen a EGFR. Cualquier anticuerpo adecuado (por ejemplo, monoclonal, policlonal o sintético) puede ser utilizado en los métodos terapéuticos descritos en la presente.

En algunas realizaciones, los trastornos neurológicos como dolor neuropático son tratados con una proteína de enlace de antígeno. Las proteínas de enlace a antígeno incluyen, pero no se limitan a, bevacizumab, cetuximab, conatumumab, ganitumab, matuzumab, necitumumab, nimotuzumab, panitumumab, rilotumumab, Trastuzumab, y zalutumumab. En algunas realizaciones preferidas, se utiliza el anticuerpo monoclonal Cetuximab (Eli Lilly and Company, New York, NY). Cetuximab es un anticuerpo de inmunoglobulina G1 de murino humano quimérico recombinante que enlaza al dominio extracelular de receptor de factor de crecimiento epidérmico con una afinidad superior que ya sea el ligando endógeno. Este enlace inhibe fosforilación del receptor y activación y lleva a internalización y degradación del receptor. (The biological properties of cetuximab. Vincenzi B, Schiavon G, Silletta M, Santini D, Tonini G. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008 Nov, 68(2):93-106. Epub 2008 Agosto 3. Review). Cetuximab es autorizado para tratar cáncer, y es utilizado con mayor frecuencia en cáncer colorrectal sin mutación de K-RAS en la ruta de señalización de EGF. El cetuximab es desarrollado para inhibir activación de EGFR, llevando a la

inhibición adicional de varias rutas, entre otras, señalización de MAPK. Este anticuerpo IgG1 es utilizado en cáncer colorrectal para inhibir la activación por ligando EGF, pero ya que bloque el EGFR inhibe enlace de otros ligandos de enlace a EGF también. En otras realizaciones preferidas, se utiliza el anticuerpo monoclonal panitumumab (Amgen, Thousand Oaks, CA).

- 5 En realizaciones preferidas, las proteínas de enlace de antígeno son anticuerpos humanizados. Los métodos para humanizar anticuerpos son bien conocidos en la técnica (Véase por ejemplo, Patentes U.S. No. 6,180,370, 5,585,089, 6,054,297 y 5,565,332).

10 En realizaciones preferidas, los terapéuticos basados en anticuerpos son formulados como composiciones farmacéuticas como se describe adelante. En realizaciones preferidas, la administración de una composición de anticuerpo de la presente invención resulta en una disminución medible en síntomas de un trastorno neurológico.

B. Interferencia de ARN y terapias antisentido

15 En algunas realizaciones, la presente invención utiliza agentes que modulan la expresión de EGFR. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la presente invención emplea composiciones que comprenden compuestos antisentido o ARNi oligoméricos, particularmente oligonucleótidos (por ejemplo, aquellos descritos en la presente), para uso en modular la función de moléculas de ácido nucleico que codifican EGFR, modulando por último la cantidad de EGFR expresado.

1. Interferencia por ARN (ARNi)

20 En algunas realizaciones, el ARNi es utilizado para inhibir la función de proteína EGFR. ARNi representa una defensa celular conservada evolucionada para controlar la expresión de genes extraños en la mayoría de los eucariotes, incluyendo humanos. ARNi es accionado típicamente por ARN de doble hebra (dsARN) y provoca degradación de ARNm específico a secuencia de ARN objetivo de hebra simple homólogo en respuesta a dsARN. Los mediadores de degradación de ARNm son dúplex de ARN de interferencia pequeña (siARN), los cuales son normalmente producidos a partir de dsARN largos por escisión enzimática en la célula. Los siARN tienen veintidós nucleótidos de longitud (por ejemplo, 21-23 nucleótidos de longitud) y tienen una estructura de pares de base caracterizados por dos nucleótidos 3' - salientes. Después de la introducción de un ARN pequeño, o ARNi, en la célula, se considera que la secuencia es suministrada a un complejo enzimático llamado RISC (complejo de silenciamiento inducido por ARN). RISC reconoce el objetivo y lo divide con una endonucleasa. Se observa que si se suministran secuencias de ARN más largas a una célula, la enzima ARNasa III (Dicer) convierte el dsARN más largo en fragmentos de siARN 21-23 nt ds.

30 Los siARN químicamente sintetizados han llegado a ser poderosos reactivos para análisis de genoma amplio de función de gen mamífero en células somáticas cultivadas. Más allá de su valor para validación de función de gen, siARN también mantienen gran potencial como agentes terapéuticos específicos a genes (Tschl and Borkhardt, Molecular Intervent. 2002; 2(3):158-67).

35 La transfección de siARN en células animales resulta en el silenciamiento post-transcripcional de larga duración de genes específicos (Caplen et al, Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 2001,98:9742-7, Elbashir et al., Nature, 2001; 411:494-8 Elbashir et al., Genes Dev. 2001 15: 188-200; y Elbashir et al., EMBO J. 2001: 20.6877-88). Se describen métodos y composiciones para realizar ARNi con siARN, por ejemplo, en la Patente U.S. 6,506,559.

40 Los siARN son extraordinariamente efectivos para disminuir las cantidades de ARN objetivo, y mediante proteínas de extensión, frecuentemente a niveles no detectables. El efecto de silenciamiento puede durar varios meses, y es extraordinariamente específico, ya que un emparejamiento incorrecto entre el ARN objetivo y la región central del siARN es frecuentemente suficiente para evitar el silenciamiento (Brummelkamp et al, Science 2002; 296:550-3; y Holen et al., Nucleic Acids. Res. 2002; 30:1757-66).

45 Un factor importante en el diseño de siARN es la presencia de sitios accesibles para enlace de siARN. Bahoia et al., (J. Biol. Chem., 2003; 278: 15991-15997) describe el uso de un tipo de disposición de ADN llamado una disposición de barrido para encontrar sitios accesibles en mRNA para diseñar siARN efectivos. Estas disposiciones comprenden oligonucleótidos en el intervalo en tamaño de monómeros a un cierto máximo, usualmente Corners, sintetizados utilizando una barrera física (máscara) por adición de forma de pasos de cada base en la secuencia. De esta forma las disposiciones representan un complemento de oligonucleótido total de una región del gen objetivo. La hibridación del ARNm objetivo a estas disposiciones proporciona un perfil de accesibilidad exhaustiva de esta región del ARNm objetivo. Los datos son útiles en el diseño de oligonucleótidos antisentido (en el intervalo de 7 mers a 25 mers), donde es importante lograr un compromiso entre longitud de oligonucleótido y afinidad de enlace, para retener eficacia y especificidad objetivo (Sohail et al, Nucleic Acids Res., 2001: 29(10): 2041-2045). Métodos adicionales y cuestiones para seleccionar siARN son descritos por ejemplo, en la solicitud WO 05054270, WO0503S054A1, WO03070966A2, J. Mol. Biol. 2005 Mayo 13:348(4):883-93, J Mol Biol. 2005 Mayo 13: 348(4):S71-81 y Nucleic

Acids Res. 2003 Agosto 1: 31(15):4417-24. Además, software (por ejemplo, la herramienta de diseño MWG online siMAX siARN) es disponible comercial o públicamente para uso en la selección de siARN.

En algunas realizaciones, la presente invención utiliza siARN que incluye extremos romos (Véase por ejemplo US20080200420), salientes (Véase por ejemplo, US20080269147A1, ácidos nucleicos cerrados (Véase por ejemplo la solicitud WO2008/006369, WO2008/043753 y WO2008/051306). En algunas realizaciones, siARN son suministrados por medio de expresión de genes o utilizando bacterias (Véase por ejemplo, Xiang et al., Nature 24:6 (2006) y WO06066048).

En otras realizaciones, se utilizan las técnicas shRNA (Véase por ejemplo, 20080025958). Una ARN horquilla pequeña o ARN horquilla corta (shRNA) es una secuencia de ARN que hace un cambio fuerte de horquilla que puede ser usada para silenciar expresión de genes por medio de interferencia de ARN. ShRNA utiliza un vector introducido en células y utiliza el promotor U6 para asegurar que shRNA es expresado siempre. Este vector es pasado usualmente a células hijas, permitiendo al gen silenciar ser heredado. La estructura de horquilla shRNA es dividida por la maquinaria celular en siARN, lo cual es entonces enlazado a complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC por sus siglas en inglés). Este complejo enlaza a y divide ARNm los cuales acoplan el siARN que es enlazado al shRNA se transcribe mediante ARN polimerasa III.

2. Antisentido

En otras realizaciones, la expresión EGFR es modulada utilizando compuestos antisentido que hibridan específicamente con uno o más ácidos nucleicos que codifican EGFR y/o EGFR. La hibridación específica de un compuesto oligomérico con su ácido nucleico objetivo interfiere con la función normal del ácido nucleico. Esta modulación de función de un ácido nucleico objetivo por compuestos que lo hibridan específicamente es generalmente denominada como "antisentido". Las funciones de ADN a ser interferidas con ella incluyen replicación y transcripción. Las funciones de ARN a ser interferidas incluyen todas las funciones vitales como, por ejemplo, translocación del ARN al sitio de traducción de proteína, traducción de proteína a partir del ARN, empalme del ARN para producir una o más especies ARNm, y actividad catalítica que puede ser acoplada o facilitada por el ARN. El efecto total de la interferencia con función de ácido nucleico objetivo es modulación de la expresión de EGFR. En el contexto de la presente invención, "modulación" significa ya sea un incremento (estimulación) o una disminución (inhibición) en la expresión de un gen. Por ejemplo, puede ser inhibida expresión para tratar un trastorno neurológico.

Se prefiere direccionar ácidos nucleicos específicos para antisentido. "Dirigir" un compuesto antisentido a un ácido nucleico particular, en el contexto de la presente invención, es un proceso multietapas. El proceso usualmente inicia con la identificación de una secuencia de ácidos nucleicos cuya función se tiene que modular. Esto puede ser, por ejemplo, un gen celular (o ARNm transcrito del gen) cuya expresión es asociada con un trastorno particular o estado de enfermedad, o una molécula de ácido nucleico a partir de un agente infeccioso. En la presente invención, el objetivo es una molécula de ácido nucleico que codifica EGFR. El proceso de direccionamiento también incluye determinación de un sitio o sitios dentro de este gen para que la interacción antisentido ocurra de tal forma que resultará el efecto deseado, por ejemplo, detección o modulación de expresión de la proteína. Dentro del contexto de la presente invención, un sitio intragénico preferido es la región que comprende el inicio de traducción o codón de terminación de El marco de lectura abierta (ORF por sus siglas en inglés) del gen. Ya que el codón de inicio de traducción es típicamente 5'-AUG (en moléculas de ARNm transcritas; 5' -ATG en la molécula de ADN correspondiente), el codón de inicio de traducción es también referido como "codón AUG", el "codón de inicio" o "codón de inicio AUG". Una minoría de genes tienen un codón de inicio de traducción que tiene la secuencia de ARN 5'-GUG, 5'-UUG ó 5'-CUG, y 5'AUA, 5' -ACG y 5' -CUG han sido mostrados para funcionar in vivo. De esta forma, los términos "codón de inicio de traducción" y "codón de inicio" puede comprender muchas secuencias de codón, a pesar de que el aminoácido iniciador en cada caso es típicamente metionina (en eucariotes) o formilmetionina (en procariotes). Los genes eucarióticos y procarióticos pueden tener dos o más codones de inicio alternativos, cualquiera de los cuales pueden ser utilizados preferencialmente para inicio de traducción en un tipo de célula particular o tejido, o bajo un grupo particular de condiciones. En el contexto de la presente invención, "codón de inicio" y "codón de inicio de traducción" se refiere al codón o codones que se utilizan in vivo para iniciar traducción de una molécula ARNm transcrita a partir de un gen que codifica EGFR.

El codón de terminación de traducción (o "codón de detención") de un gen puede tener una de tres secuencias (es decir, 5'-UAA, 5'-UAG y 5'-UGA; las secuencias de ADN correspondientes son 5'-TAA, 5'-TAG y 5'-TGA, respectivamente). Los términos "región de codón de inicio" y "región de codón de inicio de traducción" se refiere a una porción de un ARNm o gen que comprende de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 nucleótidos contiguos en cualquier dirección (es decir, 5' ó 3') a partir de un codón de inicio de traducción. En forma similar, los términos "región de codón de detención" y "región de codón de terminación de traducción" se refiere a una porción de un ARNm o gen que comprende de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 nucleótidos contiguos en cualquier dirección (es decir, 5' o 3') a partir de un codón de terminación de traducción.

El marco de lectura abierta (ORF por sus siglas en inglés) o “región de codificación”, la cual se refiere a la región entre el codón de inicio de traducción y el codón de terminación de traducción, es también una región que puede ser direccionada efectivamente. Otras regiones objetivo incluyen la región no traducida 5' (5' UTR), con referencia a la porción de un ARNm en la dirección 5' a partir del codón de inicio de traducción, y de esta forma incluye nucleótidos entre el sitio de casquete 5' y el codón de inicio de traducción de un ARNm o nucleótidos correspondientes en el gen, y la región no traducida 3' (3' UTR), con referencia a la porción de un ARNm en la dirección 3' a partir del codón de terminación de traducción, y de esta forma incluye nucleótidos entre el codón de terminación de traducción y extremo 3' de un ARNm o nucleótidos correspondientes en el gen. El casquete en el extremo 5' de un ARNm comprende residuos de guanosina N7- metilado unido al residuo 5'-más extremo del ARNm por medio de un enlace 5'-5'-trifosfato. La región de casquete en el extremo 5' de un ARNm se considerado para incluir la estructura de corona en el extremo 5' por si misma así como también los primeros 50 nucleótidos adyacentes a al casquete en el extremo. La región de casquete en el extremo puede también ser una región objetivo preferida.

Aunque algunas transcripciones de ARNm eucarióticas son traducidas directamente, muchas contienen una o más regiones, conocidas como “intrones” que son divididas a partir de una transcripción antes de ser traducida. Las regiones restantes (y por lo tanto traducidas) son conocidas como “exones” y son empalmados juntos para formar una secuencia de ARNm continua. Los sitios de empalme ARNm (es decir “uniones de intrón-exon) pueden también ser regiones objetivo, y son particularmente útiles en situaciones donde está implicado empalme aberrante en enfermedad, o donde una sobreproducción de un producto de empalme ARNm particular está implicado en la enfermedad.

En algunas realizaciones, los sitios objetivos para inhibición antisentido son identificados utilizando programas de software comercialmente disponible (por ejemplo, Biognostik, Gottingen, Alemania; SysArris Software, Bangalore, India; Antisense Research Group, University of Liverpool, Liverpool, Inglaterra; GeneTrove, Carlsbad, CA). En otras realizaciones, los sitios objetivos para inhibición antisentido son identificados utilizando el método de sitio accesible descrito en la publicación de PCT No. WO0198537A2.

Una vez que se han identificado sitios objetivo, se eligen oligonucleótidos que son suficientemente complementarios al objetivo (es decir, hibridan suficientemente bien y con suficiente especificidad) para dar el efecto deseado. Por ejemplo, en realizaciones preferidas de la presente invención, se direccionan oligonucleótidos antisentido a o cerca del codón de inicio.

En el contexto de esta invención, “hibridación” con respecto a composiciones antisentido y métodos, significa enlace de hidrógeno, los cuales pueden ser Watson-Crick, Hoogsteen o enlace de hidrógeno Hoogsteen invertido, entre bases nucleósido o nucleótido complementarias. Por ejemplo, adenina y timina son nucleobases complementarias que emparejan a través de la formación de enlaces de hidrógeno. Se entiende que la secuencia de un compuesto antisentido no necesita ser 100% complementario a aquel de su ácido nucleico objetivo para ser hibridable específicamente. Un compuesto antisentido es hibridable específicamente cuando el enlace del compuesto a la molécula ADN o ARN objetivo interfiere con la función normal del ADN o ARN objetivo para provocar una pérdida de utilidad, y hay suficiente grado de complementariedad para evitar enlace no específico del compuesto antisentido a secuencias no objetivo bajo condiciones en las cuales se desea el enlace específico (es decir, bajo condiciones fisiológicas en el caso de ensayos in vi vo o tratamiento terapéutico, y en el caso de ensayos in vitro, bajo condiciones en las cuales se realizan los ensayos).

Los compuestos antisentido son utilizados comúnmente como reactivos de investigación y diagnósticos. Por ejemplo, oligonucleótidos antisentido, que son capaces de inhibir la expresión de genes con especificidad, pueden ser utilizados para elucidar la función de genes particulares. También se utilizan compuestos antisentido, por ejemplo, para distinguir entre funciones de varios miembros de una ruta biológica.

La especificidad y sensibilidad de antisentido es también aplicada para usos terapéuticos. Por ejemplo, se han empleado oligonucleótidos antisentido como porciones terapéuticas en enfermedad en animales y el tratamiento de seres humanos. Los oligonucleótidos antisentido han sido seguros y administrados efectivamente a humanos y numerosas pruebas clínicas están actualmente en operación. Se establece de esta forma que los oligonucleótidos son realizaciones terapéuticas útiles que pueden configurar para que sean útiles en regímenes de tratamiento para tratamiento de células, tejidos y animales especialmente humanos.

Mientras que los oligonucleótidos antisentido son una forma preferida del compuesto antisentido, la presente invención comprende compuestos antisentido oligoméricos diferentes. Los compuestos antisentido de acuerdo con esta invención comprenden preferentemente de aproximadamente 8 a aproximadamente 30 nucleobases (es decir, de aproximadamente 8 a aproximadamente 30 bases enlazadas), aunque tanto secuencias más largas y más cortas pueden encontrar uso con la presente invención. Compuestos antisentido particularmente preferidos son oligonucleótidos antisentido, incluso más preferentemente aquellos que comprenden de aproximadamente 12 a aproximadamente 25 nucleobases.

Los compuestos antisentido quiméricos de la presente invención pueden ser formados como estructuras compuestas modificadas, de dos o más oligonucleótidos, oligonucleótidos modificados o imitadores de oligonucleósidos y/u oligonucleótidos como se describió anteriormente.

- 5 La presente invención también incluye composiciones y formulaciones farmacéuticas que incluyen los compuestos antisentido de la presente invención como se describe adelante.

C. Terapia genética

- 10 La presente invención contempla el uso de cualquier manipulación genética para uso en modular la expresión de EGFR. Ejemplos de manipulación genética incluyen, pero no se limitan a, gen modificado (por ejemplo, eliminar el gen EGFR del cromosoma utilizando, por ejemplo, recombinación), expresión de construcciones antisentido con o sin promotores inducibles y similares. El suministro de construcción de ácido nucleico a células in vitro o in vivo puede ser realizado utilizando cualquier método adecuado. Un método adecuado es uno que introduce la construcción de ácido nucleico en la célula de tal forma que ocurre el evento deseado (por ejemplo, expresión de una construcción antisentido). También se puede utilizar terapia genética para suministrar siARN u otras moléculas interferentes que son expresadas in vivo (por ejemplo, ante estimulación por un promotor inducible).

- 15 Se logra introducción de moléculas que portan información genética en célula por cualquiera de los varios métodos que incluyen, pero no se limitan a, inyección dirigida de construcciones de ADN desnudos, bombardeo con partículas de oro cargadas con las construcciones, y transferencia de gen mediada por macromolécula utilizando, por ejemplo, liposomas, biopolímeros y similares. Métodos preferidos utilizan vehículos de suministro de genes derivados de virus, pero no se limitan a, adenovirus, retrovirus, virus de vacunas y virus adenoasociados. Debido a la eficiencia superior como se compara con retrovirus, vectores derivados de adenovirus son los vehículos de suministro de genes preferidos para transferir moléculas de ácido nucleico en células huésped in vivo. Ejemplos de vectores adenovirales y métodos para transferencia de genes son descritos en publicaciones del PCT WO 00/12738 y WO 00/09675 y Solicitud de Patente U.S. No. 6,033,908, 5,994,106, 6,019,978, 5,981,225, 6,001,557, 5,885,808, 5,994,132, 5,994,128, 5,872,154, 5,830,730 y 5,824,544

- 25 Los vectores se pueden administrar a sujetos en una variedad de formas. Por ejemplo, en algunas realizaciones de la presente invención, se administran vectores en células utilizando inyección directa. En otras realizaciones, la administración se hace por medio de circulación sanguínea o linfática (Véase por ejemplo, publicación del PCT 99/02685). Niveles de dosis de ejemplo del vector adenoviral son preferentemente 10^8 a 10^{11} partículas de vector agregadas al perfusato.

- 30 D. Terapia de molécula pequeña

- Algunas realizaciones de la presente invención utilizan moléculas pequeñas que inhiben una o más actividades biológicas de EGFR. Los terapéuticos de molécula pequeña son identificados, por ejemplo, utilizando los métodos de cribado de fármacos descritos en la presente. En algunas realizaciones, los terapéuticos de molécula pequeña útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, afatinib, erlotinib, gefitinib, lapatinib, neratinib y vandetanib. En algunas realizaciones preferidas la molécula pequeña es gefitinib o erlotinib, marca Iressa (AstraZeneca, Londres, RU) y Tarceva (Genentech, South San Francisco, CA), respectivamente (Activation of epidermal growth factor receptors in astrocytes: from development to neural injury. Liu B, Neufeld AH. J. Neurosci Res. 2007 Dec; 85(16) 3523-9, Resumen),.

E. Composiciones farmacéuticas

- 40 La presente invención adicionalmente proporciona composiciones farmacéuticas (por ejemplo, que comprende agentes farmacéuticos que modulan la expresión o actividad del EGFR) para uso en los métodos descritos anteriormente. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden administrar en un número de formas dependiendo de si se desea tratamiento local o sistémico y sobre el área que se va a tratar. La administración puede ser tópica (incluyendo membranas oftálmicas y a mucosa que incluyen suministro vaginal y rectal), pulmonar (por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, que incluyen nebulizador, intratecal, intranasal, epidérmico y transdérmico), u oral o parenteral. La administración parenteral incluye inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; o intracraneal, por ejemplo, administración intratracqueal o intraventricular.

- 50 Composiciones y formulaciones farmacéuticas para administración tópica pueden incluir parches transdérmicos, ungüentos, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, dispersiones, líquidos y polvos. Los portadores farmacéuticos convencionales, bases acuosas, polvo o aceite, espesantes y similares pueden ser necesarios o deseables.

Composiciones y formulaciones para administración oral incluyen polvos o gránulos, suspensiones o soluciones en agua o medios no acuosos, cápsulas, sachet o comprimidos. Espesantes, agentes de saborización, diluyentes, emulsificantes, auxiliares de dispersión o enlazadores pueden ser deseables.

5 Las composiciones y formulaciones para administración parenteral, intratraqueal o intraventricular pueden incluir soluciones acuosas estériles que pueden también contener amortiguadores, diluyentes y otros aditivos adecuados como, pero no limitados a, potenciadores de penetración, compuestos portadores y otros portadores o excipientes aceptables farmacéuticamente.

10 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también incluyen, pero no se limitan a, soluciones, emulsiones, y formulaciones que contienen liposomas. Estas composiciones pueden ser generadas a partir de una variedad de componentes que incluyen, pero no se limitan a, líquidos preformados, sólidos de autoemulsificación y semisólidos de autoemulsificación.

15 Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, las cuales pueden estar convenientemente presentes en forma de dosis de unidad, pueden ser preparadas de acuerdo a técnicas convencionales bien conocidas en la industria farmacéutica. Las técnicas incluyen la etapa de llevar en asociación el agente farmacéutico activo con el portador o excipiente farmacéutico. En general las formulaciones son preparadas por llevar en asociación uniforme e íntimamente los ingredientes activos con portadores líquidos o portadores sólidos divididos finamente o ambos y entonces, si es necesario, conformar el producto.

20 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser formuladas en cualquiera de las muchas formas de dosis posibles como, pero no limitadas a, comprimidos, cápsulas, jarabes líquidos, geles suaves, supositorios y enemas. Las composiciones de la presente invención pueden también ser formuladas como suspensiones en medios acuosos, no acuosos y mixtos. Las suspensiones acuosas pueden además contener substancias que incrementan la viscosidad de la suspensión incluyendo, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol y/o dextrano. La suspensión puede también contener estabilizantes.

25 Las composiciones de la presente invención pueden adicionalmente contener otros componentes adjuntos encontrados convencionalmente en composiciones farmacéuticas. De esta forma, por ejemplo, las composiciones pueden contener materiales activos farmacéuticamente, compatibles, adicionales como, por ejemplo: antipruríticos, astringentes, anestésicos locales o agentes antiinflamatorios, o pueden contener materiales adicionales útiles para formar físicamente varias formas de dosis de las composiciones de la presente invención, como tintes, agentes saborizantes, conservadores, antioxidantes, opacificantes, agentes espesantes y estabilizantes. Sin embargo, los
30 materiales, cuando se agregan, no deben interferir indebidamente con las actividades biológicas de los componentes de las composiciones de la presente invención. Las formulaciones pueden ser esterilizadas y, si se desea, mezcladas con agentes auxiliares, por ejemplo, lubricantes, conservadores, estabilizantes, agentes de humectación, emulsificadores, sales para influir en la presión osmótica, amortiguadores, colorantes, saborizantes y/o substancias aromáticas y similares los cuales no interactúan dañinamente con los ácidos nucleicos de la formulación.

35 La dosificación es dependiente de la severidad y capacidad de respuesta del estado de enfermedad que se va a tratar, con el curso de tratamiento que dura de varios días a varios meses, o hasta que se efectúa una cura o se logra una disminución del estado de enfermedad. Los programas de dosificación óptimos pueden ser calculados de mediciones de acumulación de fármaco en el cuerpo del paciente. El médico que administra puede fácilmente determinar dosis óptimas, metodologías de dosificación y proporciones de repetición. Las dosis óptimas pueden
40 variar dependiendo de la potencia relativa de agentes individuales, y pueden generalmente ser estimadas en base a EC_{50} encontrado para ser efectivo en modelos de animales in vitro e in vivo o en base a los ejemplos descritos en la presente. En general, la dosis es de 0.01 μ g a 100 g por kg del peso corporal, y puede ser dado una vez o más diaria, semanal, mensual o anualmente. El médico que trata puede estimar las proporciones de repetición para dosificación en base a los tiempos de residencia medidos y concentraciones del fármaco en tejidos o fluidos
45 corporales. Después del tratamiento exitoso, puede ser deseable tener la terapia de mantenimiento que experimenta el sujeto bajo para evitar la recurrencia del estado de enfermedad, en donde se administra el agente en dosis de mantenimiento, en el intervalo de 0.01 μ g a 100 g por kg de peso corporal, una vez o más diariamente, a una vez cada 20 años.

F. Terapia de Combinación

50 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona métodos terapéuticos que comprenden una o más composiciones descritas en la presente (por ejemplo, inhibidores de EGFR) en combinación con un agente adicional (por ejemplo, un agente para tratar trastornos neurológicos o dolor neuropático). La presente invención no se limita a un agente particular. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a: agentes antiinflamatorios como NSAID o esteroides; opioides calmantes de dolor; antidepresivos como inhibidores de reabsorción de tricíclicos y serotonina-norepinefrina (SNRI por sus siglas en inglés); anticonvulsivos como gabapentina; antiepilépticos; benzodiazepinas; fármacos
55

antiansiedad como inhibidores de reabsorción de serotonina selectivos (SSRI por sus siglas en inglés); complementos dietéticos como ácido alfa lipoico y benfotiamina; cannabinoides y similares.

Clases de agentes útiles para terapia de combinación incluyen, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID por sus siglas en inglés) como aspirina (Anacin, Ascriptin, Bayer, Bufferin, Ecotrin, Excedrin), salicilatos de colina y magnesio (CMT, Tricosal, Trilisato) I salicilato de colina (Arthropan), Celecoxib (Celebrex), Diclofenac potásico (Cataflam); Diclofenac sódico (Voltaren, Voltaren XR), Diclofenac sódico con misoprostol (Arthrotec), Diflunisal XL), Fenoprofen sódico Ibuprofen (Advil, Motrin, (Dolobid), Etodolac (Lodine, Lodine (Nalfon), Flurbiprofen (Ansiad), Motrin IB, Nuprin), Indometacina (Indocin, Indocin SR), cetoprofen (Actron, Orudis, Orudis KT, Oruvail), salicilato de magnesio (Arthri tab, Bayer Select, píldoras de Doan, Magan, Mobidin, Mobogesic), meclofenamato sódico (Meclomen), ácido mefenámico (Ponstel), Meloxicam (Mobic), Nabumetona (Relafen), Naproxen (Naprosyn, Naprelan), Naproxeno sódico (Aleve, Anaprox), Oxaprozina (Daypro), Piroxicam (Feldene), Rofecoxib (Vioxx), Salsalate (Amigesic, Anaflex 750, Disalcid, Marthritic, Mono-Gesic, Salflex, Salsitab), salicilato sódico (varios genéricos), Sulindac (Clinoril), Tolmetin sódico (Tolectin), Valdecocix (Bextra); fármacos antiinflamatorios esteroideos que incluyen hidrocortisona, prednisona, metilprednisolona, beclometasona, beclometasona, budesonida, flunisolida, propionato de fluticasona, triamcinolona y similares; y calmantes de dolor a base de opioide que incluyen, pero no se limitan a, fentanilo, hidromorfona, metadona, morfina, oxicodón, y oximorfona; antidepresivos, tricíclicos como bupropiona, que incluyen nortriptilina, compuestos desipramina, amitriptilina, amitriptilinoxido, butriptilina, clomipramina, demexiptilina, dibenzepina, dosulepina/dotiepina, doxepina, imipramina, iprindol, opipramol, tianeptina, imipraminoxido, lofepramina, melitracina, nitroxazepina, noxiptilina, pipofezina, protriptina, y quinupramina y SNRI como dimetacrina, amineptina, trimipramina, metapramina, propizepina, duloxetine, venlafaxina, desvenlafaxina, milnaciipran, levomilnacipran, sibutramina, bicifadina y SEP-227162, anticonvulsivos como pregabalina, gabapentina, carbamazepina y oxcarbazepina y benzodiazepinas (por ejemplo, alprazolam, bretazenil, bromazepam, clonazepam, brotizolam, clordiazepoxido, clorazepato, clotiazepam, cinolazepam, cloxazolam, delorazepam, diazepam, estazolam, etizolam, flunitrazepam, flurazepam, flutoprazepam, halazepam, cetazolam, lopraxolam, lorazepam, lormetazepam, medazepam, midazolam, nemetazepam, nitrazepam, nordazepam, oxazepam, fenazepam, pinazepaam, prazepam, premarazepam, quazepam, temazepam, tetrazepam, triazolam, clobazam, DMCM, flumazenil, eszopiclona, zaleplon, zolpidem y zopiclona); inhibidores de reabsorción de serotonina selectivos (SSRI por sus siglas en inglés) como citalopram, dapoxetine, escitalopram, fluoxetine, fluvoxamina, indalprina, paroxetina, sertralina y zimelidina; y cannabinoides como delta-9-tetrahidrocanabinol y nabilona.

III. Aplicaciones de cribado de fármacos

Se describen aquí ensayos de cribado de fármacos (por ejemplo, para cribar fármacos que inhiben EGFR). Los métodos de cribado descritos aquí utilizan EGFR. Por ejemplo, se describen aquí métodos de cribado para compuestos que alteran (por ejemplo, disminuyen) la expresión de EGFR. Los compuestos o agentes pueden interferir con transcripción, por interactuar, por ejemplo, con la región promotora. Los compuestos o agentes pueden interferir con ARNm producido de EGFR (por ejemplo por interferencia de ARN, tecnologías antisentido, etc.). Los compuestos o agentes pueden interferir con rutas que están en dirección 3' o dirección 5' de la actividad biológica de EGFR. Los compuestos candidato pueden ser agentes ARN antisentido o interferentes (por ejemplo, oligonucleótidos) dirigidos contra EGFR. Los anticuerpos de compuestos candidato o moléculas pequeñas que enlazan específicamente a EGFR e inhiben su función biológica.

En un método de cribado, los compuestos candidatos son evaluados para detectar su capacidad para alterar expresión de EGFR al poner en contacto un compuesto con una célula que expresa EGFR y entonces ensayar para el efecto de los compuestos candidato sobre la expresión. El efecto de compuestos candidato en expresión de EGFR puede ser ensayado para detectar el nivel de ARNm de EGFR expresado por la célula. La expresión de ARNm puede ser detectada por cualquier método adecuado.

El efecto de compuestos candidato sobre la expresión de EGFR puede ser ensayado al medir el nivel de polipéptido codificado por EGFR. El nivel de polipéptido expresado puede ser medido utilizando cualquier método adecuado.

Específicamente, se describen aquí métodos para identificar moduladores, es decir, compuestos candidato o prueba (por ejemplo, anticuerpos, proteínas, péptidos, imitadores de péptidos, peptoides, moléculas pequeñas u otros fármacos) los cuales enlazan a EGFR, tienen un efecto inhibitorio en, por ejemplo, expresión o actividad de EGFR, o tienen un efecto estimulador o inhibidor, por ejemplo, la expresión o actividad de un sustrato EGFR. Compuestos de esta forma identificados pueden ser utilizados para modular la actividad de productos de gen objetivo (por ejemplo, EGFR) ya sea directa o indirectamente en un protocolo terapéutico, para elaborar la función biológica del producto de gen objetivo, o para identificar compuestos que alteran interacciones de genes objetivos normales. Compuestos que inhiben la actividad o expresión de EGFR son útiles en el tratamiento de trastornos neurológicos.

Los compuestos de prueba de la presente invención pueden ser obtenidos utilizando cualquiera de los numerosos procedimientos en métodos de biblioteca combinatoria conocidos en la técnica, incluyendo bibliotecas biológicas; bibliotecas peptoides (bibliotecas de moléculas que tienen las funcionalidades de péptidos, pero con una estructura

no peptídica, novedosa, las cuales son resistentes a degradación enzimática pero la cual sin embargo permanece bioactiva; véase, por ejemplo Zuckermann et al., J. Med. Chem. 37:2678-85 [1994]); bibliotecas de fase sólida o fase de solución paralelas manejables espacialmente; métodos de biblioteca sintética que requieren desconvolución; el método de biblioteca de "una perla un compuesto"; y métodos de biblioteca sintética utilizando selección de cromatografía de afinidad. La biblioteca biológica y procedimientos de biblioteca peptoides son preferidos para uso con bibliotecas de péptido, mientras que los otros cuatro procedimientos son aplicables a péptido, oligómero no peptídico o bibliotecas de molécula pequeña de compuestos (Lam (1997) *Anticancer Drug Des.* 12:145).

Ejemplos de métodos para la síntesis de bibliotecas moleculares pueden ser encontrados en la técnica, por ejemplo en: DeWitt et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6909 (1993); Erb et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* utiliza 91:11422 (1994); Zuckermann et al., J. Med. Chem. 37:2678 (1994); Cho et al., *Science* 261: 1303 (1993) Carrell et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059 (1994); Carrell et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061 (1994); y Gallop et al., J. Med. Chem. 37:1233 (1994).

Las bibliotecas de compuestos pueden estar presentes en solución (por ejemplo, Houghten, *Biotechniques* 13:412-421 (1992)) o en perlas (Lam, *Nature* 354:82-84 (1991)); chips (Fodor, *Nature* 364:555-556 (1993)), bacterias o esporas (Patente U.S. No. 5,223,409; incorporado en la presente para referencia), plásmidos (Cull et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* utiliza 89:18651869 (1991)) o en fagos (Scott and Smith, *Science* 249:386-390 (1990)); Devlin *Science* 249:404-406 (1990); Cwirla et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:6378-6382 (1990); Felici, J. Mol. Biol. 222: 301 (1991)).

Experimentos

Se proporcionan los siguientes ejemplos con el fin de demostrar y además ilustrar ciertas realizaciones preferidas y aspectos de la presente invención y no se constituyen como limitantes del alcance de los mismos.

Ejemplo 1

Un hombre de 68 años de edad con cáncer de colon metastásico sufre de dolor neuropático debido a la afectación de recurrencia pélvica en su nervio ciático. Sobre el curso de varios años se trata con analgésicos opioides potentes, antiepilépticos, antidepresivos, antiinflamatorios, radioterapia, quimioterapia; oxígeno hiperbárico y acupuntura, en un intento por aliviar este dolor. Estos tratamientos fueron solamente efectivos marginalmente y el aumento de dosis se limitó por efectos secundarios.

Después de aproximadamente tres años, se da al paciente la combinación de quimioterapia XELOX (capecitabina y oxaliplatina) y el anticuerpo EGFR, Cetuximab, en aún otro esfuerzo para disminuir su tumor pélvico y por lo mismo mejorar su dolor. En el inicio de este tratamiento el paciente requiere 200 mg de dolotina por 24 horas. En su primera cita seguida, después de dos tratamientos, reporta que ha detenido prácticamente todo el uso de opioides. Un MRI pélvico, toma cuatro meses más, no muestra cambio en el tamaño de tumor pélvico aunque el dolor pélvico neuropático se ha ido en ese punto.

Durante descansos subsecuentes de tratamiento, el dolor del paciente recurre y requiere dosis superiores de opioides. Sin embargo; en cada reintroducción de XELOX y Cetuximab, se repite la respuesta analgésica y el dolor completamente, o casi completamente, desaparece dentro de cuatro a cinco horas.

Después de 22 meses de tratamiento con XELOX y Cetuximab, la metástasis pulmonar del paciente progresa y se discontinúa el tratamiento de quimioterapia y anticuerpo. En los meses subsecuentes, el dolor del paciente se incrementa dramáticamente y su dosis de opioide de depósito aumenta a 320 mg/24 horas, sin efecto satisfactorio. Después de aproximadamente cuatro meses de empeoramiento de dolor, sin ningún tratamiento dirigido a tumor, es restableció monoterapia de cetuximab 450 mg i.v./250 mg por m² en un intento para mejorar este dolor. Una vez más, dentro de horas después de la primera infusión de Cetuximab, el dolor del paciente mejora dramáticamente y es capaz de cortar su dosis de opioide de depósito a la mitad dentro de cuatro semanas subsecuentes.

Por los siguientes 20 meses, mientras su cáncer está claramente en progreso, el paciente continúa recibiendo infusiones de Cetuximab aproximadamente cada 12 días para mejora de dolor. A pesar del desarrollo de síntomas y complicaciones a partir de su enfermedad metastásica, el dolor neuropático pélvico crónico continua para ser mejor controlado con Cetuximab.

Con el fin de probar si el efecto analgésico de este medicamento más caro es dependiente de dosis, se da al paciente 20% de la dosis normal de Cetuximab (el paciente no fue consciente de este cambio) lo cual resulta en ningún efecto analgésico. La dosis de cetuximab se incrementa por lo tanto a la dosis efectiva previa y continúa recibiendo infusiones aproximadamente cada 12 días, con analgesia efectiva que alcanza dentro de 4 - 5 horas, durando solo bajo 2 semanas. Durante pocos días antes de una nueva infusión, el paciente requiere dosis superiores de opioides, pero se puede reducir otra vez aproximadamente 1/3 parte de la dosis inmediatamente después de infusión de Cetuximab subsecuente.

Ocho meses después de inicio de monoterapia de Cetuximab para analgesia, MRI de la pelvis muestra un incremento en la lesión. A pesar de este descubrimiento, Cetuximab continua teniendo la respuesta analgésica dramática descrita y el paciente es capaz de mantener una calidad de vida mucho mejor.

Ejemplo 2

- 5 Se reporta recientemente la presente experiencia para tratar NP en un paciente de cáncer rectal con cetuximab, (Kersten C, Cameron MG. Cetuximab alivia dolor neuropático a pesar de la progresión de tumoral. BMJ Case rep 2012:2012) un anticuerpo monoclonal contra el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF, por sus siglas en inglés), el cual inhibe consecuentemente señalización de MAPK (Vincenzi B, Zoccoli A, Pantano F, Venditti O, Galluzzo S. Cetuximab: from bench to bedside. Curr Cancer Drug Targets 2010; 10:80-95). El paciente experimenta
10 repetidamente mejora dramática de NP justo horas después de infusión de cetuximab a pesar de la invasión de tumor pélvica progresiva de nervios del plexo sacro, sugiriendo un efecto anti NP directo.

- Ya que los inhibidores EGFR han sido probados ampliamente en pruebas clínicas y son fármacos oncológicos aprobados con efectos secundarios transitorios y manejables, se ha ofrecido este tratamiento a cinco pacientes con NP crónica, debilitante y resistente a terapia (Holt K. Common side effects and interactions of colorectal cancer therapeutic agents. J. Pract Nurs 2011; 61:7-20; Petrelli F, Borgonovo K, Cabiddu M, Barni S. Efficacy of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients With EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer: A Meta-analysis of 13 Randomized Trials. Clin Lung Cancer 2012; 13:107-14; Brown T, Boland A, Bagust A, et al. Gefitinib for the first-line treatment of locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer. Health Technol Assess 2010;14:71-9).
- 15

Series de casos:

- 20 Desde diciembre de 2011, se han tratado tres pacientes sin cáncer, un paciente de cáncer de vejiga, y un paciente con cáncer pancreático con inhibidores de EGFR intravenoso (cetuximab, panitumumab) y oral (gefitinib) para NP lacerante y de larga duración, véase Tabla 1. Dos de tres pacientes sin cáncer (casos 2 y 3) y ambos pacientes con cáncer (casos 4 y 5) responden dentro de 24 horas, con una disminución promedio en empeoramiento de dolor de 9 a 1 como se documenta en Brief Pain Inventory, abreviado (BPI) (21,22) véase figura 2. Tres pacientes (casos 2, 4 y
25 5) quienes están tomando analgésicos para su NP en el momento de la primera inhibición de EGFR, han sido capaces de reducir las dosis significativamente. El seguimiento a la fecha es 7- 148 días para aquellos quienes han respondido al tratamiento.

Caso	Edad, Sexo						
1	53, Hombre	Historia de seis años de polineuropatía periférica progresiva de etiología no clara (posiblemente relacionada con Borrelia)	30/38	Actividad general:	9	Neurólogo	Paracetamol
				Humor:	9	Reumatólogo	NSIAD
				Capacidad para Caminar:	10	Anestesiólogo	Esteroides
				Trabajo normal:	10	Unidad terciaria de cuidado de dolor	Antiepilépticos
				Relaciones:	8		Antidepresivos *
				Sueño:	9		Curación
				Disfrute de la vida:	8		KIOIH (Mg) Ejercicio físico (terapia de distracción) *
2	53, Mujer	Historia de ocho meses de síndrome de dolor regional complejo tipo 1 (CRPS1) de la mano derecha.	31/38	Actividad general:	10	Cirujano ortopédico	Paracetamol *
				Humor:	5	Neurólogo	NSIAD *
				Capacidad para Caminar:	0	Reumatólogo	Esteroides *
				Trabajo normal:	10	Anestesiólogo	opiáceos débiles*
				Relaciones:	5	Unidad terciaria de cuidado de dolor	Antiepilépticos *
				Sueño:	10		Antidepresivos
				Disfrute de la vida:	7		Bloque Neuronal Clonidina
3	63, Hombre	Historia de ocho meses de radiculopatía debido a síndrome de cirugía de retrofalla (FBS) con formación de tejido de cicatriz en el nivel L4/LS	26/38	Actividad general:	10	Neurocirugía	Terapia física
				Humor:	8	Medico de cuidado primario	Antiepilépticos
				Capacidad para Caminar:	9		Opiáceos
				Trabajo normal:	9		
				Relaciones:	8		
				Sueño:	8		
				Disfrute de la vida:	8		

4	57, Hombre	Historia de veinte meses de recurrencia de cáncer de vejiga que invade órganos pélvicos, músculos y raíces del nervio sacro	24/38	Actividad general:	9	Oncólogo Especialista de cuidado paliativo	Paracetamol*
				Humor:	7		Esteroides*
				Capacidad para Caminar:	7		opiáceos *
				Trabajo normal:	9		Antiepilépticos*
				Relaciones:	7		Antidepresivos*
				Sueño:	3		Quimioterapia *
				Disfrute de la Vida:	10		Radiación pélvica paliativa
				Actividad general:	5		Paracetamol*
5	72, Mujer	Historia de once meses de dolor de extremidades fantasma después de una amputación de rodilla inferior debido a úlceras sin curación de enfermedad vascular periférica	16/38	Humor:	5	Cirujano ortopédico Médico de rehabilitación	NSAID
				Capacidad para Caminar:	5		Esteroides
				Trabajo normal:	6		Opiáceos *
				Relaciones:	5		Antiepilépticos *
				Sueño:	5		Benzodiazepinas *
				Disfrute de la vida:	5		Terapia médica *

Tabla 1. Características iniciales de los pacientes.

* Tratamientos todavía en uso en el momento de la primera infusión de cetuximab a los pacientes

de acuerdo con la herramienta de Detección de Dolor, una clasificación entre 19 y 38 hace un componente neuropático de dolor de más de 90% probable (16)

5 Respuesta a tratamiento:

Se pide a los pacientes completar una forma diaria corta de BPI, justo antes y durante la inhibición de EGFR, con el fin de documentar su dolor neuropático y de esta forma, ayudar a juzgar sus respuestas y decisiones de tratamiento guía. Las clasificaciones de pacientes son resumidas en la figura 2.

10 Caso 1 se dan tres infusiones semanalmente de cetuximab. El tratamiento no tiene efecto en NP del paciente y después de la tercera dosis, se discontinúa el tratamiento (datos no mostrados).

15 Caso 2 se da un total de seis infusiones semanales de cetuximab (figura 2, flechas rojas). Dentro de 24 horas después de la primera dosis de cetuximab, el paciente experimenta mejora de dolor completa lo cual persiste hasta la siguiente infusión. Después de tres infusiones semanalmente de cetuximab, con respuesta continua, se intenta el tratamiento con panitumumab de anticuerpo monoclonal (figura 2, flecha azul). Debido a sus propiedades farmacocinéticas, se administra este inhibidor de EGFR extracelular bisemanalmente. Por lo tanto se da un intento para simplificar el procedimiento de tratamiento para el paciente. Sin embargo, el paciente reporta recurrencia de dolor severo en la misma tarde de la infusión de panitumumab. Recibe una infusión terapéuticamente exitosa de cetuximab al siguiente día. Después de un total de seis infusiones de cetuximab, la inhibición de EGFR se convierte al inhibidor de molécula pequeña oral, gefitinib, de modo que el paciente puede tener la libertad de viajar al exterior en un día festivo.

20 Gefitinib se inicia siete días después de la última infusión de cetuximab y el paciente no experimenta recurrencia de dolor después de conversión a comprimidos. En el tiempo actual, el cual es de 15 semanas después de su primera dosis de gefitinib, y 21 semanas después de su primera infusión de cetuximab, la NP del paciente continúa para ser resuelto completamente. La inhibición de EGFR no tiene efecto en los síntomas vasomotores que acompañan a CRPS 1. Sin embargo, la mejora del dolor ha permitido al paciente cumplir con fisioterapia intensa, lo cual ha sido obstaculizado por niveles extremos de dolor. Como una consecuencia, parece ser una mejora indirecta en el edema que de otra forma complica su condición y que puede llevar a discapacidad permanente.

25 Caso 3 se le da dos infusiones semanalmente de cetuximab (figura 2, flechas rojas). De nuevo dentro de horas después de la primera infusión, se reduce significativamente el dolor severo y persistente del paciente y en los siguientes días, el NP desaparece completamente. Después de su segunda dosis de cetuximab, el paciente espera para iniciar un nuevo tratamiento hasta recurrencia de dolor. Después de un lavado de cetuximab de once días, su NP empieza a recaer.

30 En esa etapa, el paciente convierte los comprimidos de gefitinib (figura 2, flecha verde). Su dolor continúa aumentado por los primeros dos días de tratamiento oral. Sin embargo, a partir de la tercera dosis de gefitinib, el dolor mejora gradualmente a niveles tan buenos como aquellos que han experimentado con cetuximab. El NP del paciente es por lo tanto bien controlado por tanto cetuximab y gefitinib que puede resumir su estilo de vida físicamente activa al aire libre. Sin embargo, el paciente desarrolla neumonía un mes después del inicio de gefitinib. La disnea persiste después del tratamiento de la neumonía y enfermedad pulmonar intersticial (ILD por sus siglas en inglés) no puede ser excluida. Gefitinib es por lo tanto discontinuada (véase figura 2) y NP recurre después de tres días. Una dosis de panitumumab se proporciona posteriormente y el NP disminuye en la misma tarde y está otra vez libre de dolor. Cuando, después de aproximadamente tres semanas, recurre el dolor, se intenta pregabalina, un fármaco aprobado para el tratamiento de NP. Él no ha sido tratado exitosamente previamente con gabapentina, también probada para el tratamiento de NP, pero debido a incertidumbre alrededor de la posibilidad de ILD, un intento en tratamiento convencional se consideró justificado antes de tratamiento adicional con un inhibidor EGFR oral. El paciente responde a pregabalina, y sigue estando libre de dolor en 19 semanas de seguimiento.

35 Caso 4 se da cetuximab después de tratamiento con la combinación de gabapentina, amitriptilina, paracetamol, esteroides, y titulación a una dosis equivalente a 24 horas de morfina de 1800 mg falla en controlar su NP. Dentro de horas después de la infusión del inhibidor de EGFR, el paciente experimenta mejora completa de su NP por primera vez en más de seis meses. Justo tres días después del primer tratamiento con cetuximab, se reducen sus dosis de opioide y gabapentina al 50%, limitado por el temor de síntomas de abstinencia y efectos de reenlace que pueden estar asociados con discontinuación abrupta de estas sustancias. Se convierte cetuximab a gefitinib oral en el momento del siguiente tratamiento planeado (figura 2, flecha verde). Se mantiene mejora completa de NP a través y más allá de esta transición, y a pesar de invasión de tumor progresiva de nervios pélvicos (Véase figura 1). Su dolor

neuropático continua para ser aliviado completamente por gefitinib en el momento actual (seguimiento de 18 semanas).

Caso 5 recibe panitumumab mientras es tratado con gemcitabina paliativa para cáncer pancreático metastásico. A pesar de tener cáncer sintomático, dolor crónico de extremos fantasmas irradiado hacia debajo de su pierna izquierda es su principal queja. La paciente desarrolla atrofia de muñón, contracturas y dolor, los cuales prohíben el uso de su prótesis. Consecuentemente, se confina a una silla de ruedas. Dentro de horas después de la infusión de panitumumab, su dolor de extremidad fantasma disminuye al 50% (véase figura 2). La paciente requiere menos medicamento para el dolor innovador, que sea capaz de dormir toda la noche y mejore su calidad de vida (QOL, por sus siglas en inglés). La intensidad de dolor empeorada pasa a niveles iniciales después de fisioterapia más intensiva, pero es otra vez aliviado efectivamente dentro de un día después de la segunda infusión de panitumumab (seguimiento 3 semanas a la fecha).

Discusión

Se sugiere el alivio efectivo de NP por ser un efecto de clase potencial de inhibidores de EGFR, ya que todos los tres fármacos probados fueron efectivos. El tratamiento analgésico exitoso de NP en dos pacientes sin cáncer y dos pacientes con cáncer con diferentes mecanismos subyacentes de dolor es consistente con el efecto descrito en el reporte anterior. Cuatro de los cinco pacientes a los que se les ofrece este tratamiento experimentan respuestas analgésicas dramáticas y rápidas después de NP de larga duración refractaria a tratamientos estándar.

Tanto la inhibición de EGFR extracelular (cetuximab y panitumumab) e intracelular (gefitinib) lleva a mejora de NP completa.

Además soporta que un efecto de fármaco genuino se deriva de la correlación entre farmacocinéticas de inhibidor de EGFR y observaciones clínicas en el caso 3. El hecho de que el dolor del paciente recurre 11 días después de su última infusión de cetuximab y aproximadamente 20 días después de panitumumab es consistente con la vida útil de estos fármacos (Ramanathan RK. Alternative dosing schedules for cetuximab: a Colorectal Cancer role for biweekly 2008; 7:364-8; administration? Saadeh CE, Lee Clin HS. Panitumumab: a fully human monoclonal antibody with activity in metastatic colorectal cancer. Ann Pharmacother 2007; 41:606-13) y con observaciones a partir del caso reportado previamente (Kersten C, Cameron MG. Cetuximab alleviates neuropathic pain despite tumour progression. BMJ Case Rep. 2012:2012). Adicionalmente, el hecho de que el dolor del paciente responde más lentamente al fármaco oral que a la administración intravenosa tanto de cetuximab como de panitumumab, soporta la hipótesis del efecto causal y directo de inhibición EGFR.

Caso 2 reporta un aumento dramático en dolor solo horas después de infusión del anticuerpo anti EGFR panitumumab. Un estudio reciente ha demostrado que cetuximab y panitumumab obstaculiza entre si el enlace de EGFR (Alvarenga ML, Kikhney J, Hannewald J, et al. In-depth biophysical análisis of interactions between therapeutic antibodies and the extracellular domain of the epidermal growth factor receptor. Anal Biochem 2012; 421:138-51). Esto puede posiblemente haber llevado al desplazamiento de cetuximab por panitumumab y por lo mismo provoca la recurrencia de dolor rápido observada en el caso 2. Todos los fármacos anti-EGFR empleados en estos pacientes son desarrollados para inhibir la activación de EGFR1 y, entre otros, señalización de MAPK por EGF en cánceres. El efecto observado se puede deber a inhibición de EGF, pero al bloquear EGFR1, estos fármacos también tienen el potencial de inhibir otros ligandos de enlace EGFR1 (Wheeler DL, Dunn EF, Harari PM. Understanding resistance to EGFR inhibitors-impact on future treatment strategies. Nature reviews Clinical oncology 2010;7:493-507), ya sea directamente o por inhibición de receptor de heterodimerización de la familia del factor de crecimiento epidérmico humano (HER por sus siglas en inglés) (Nautiyal J, Rishi AK, Majumdar AP. Emerging therapies in gastrointestinal cancers. World Journal of gastroenterology. WJG 2006; 12:7440-50; Schamel WW, Dick TP. Signal transduction: specificity of growth factors explained by parallel distributed processing. Med Hypotheses 1996;47:249-55; Ise N, Omi K, Nambara D, Higashiyama S, Goishi K. Overexpressed HER2 in NSCLC is a possible therapeutic target of EGFR inhibitors. Anticancer Res 2011; 31:4155-61). Es en ese aspecto de interés, que el complejo de neuregulina 1-ErbB3- ErbB2 ha sido sugerido recientemente por ser un mecanismo causal en dolor neuropático trigeminal inducido por daño del nervio en ratas (Ma F, Zhang L, Westlund KN. Trigeminal Nerve Injury ErbB3/ErbB2 Promotes Mechanical Hypersensitivity. Anesthesiology 2012).

Varias tirosina cinasas del receptor (RTK por sus siglas en inglés) tienen el potencial para activar la señalización de MAP, lo cual ha sido propuesto como un objetivo para terapias dirigidas contra NP, así como también otras enfermedades neurológicas crónicas (Ji 2009, supra: Ji RR. Mitogen-activated protein kinases as potential targets for pain killers. Curr Opin Investig Drugs 2004;5:71-5, Yasuda S, Sugiura H, Tanaka H, Takigami S, Yamagata K. p38 MAP kinase inhibitors as potential therapeutic drugs for neural diseases. Cent Nerv Syst Agents Med Chem 2011;11:45-59). Después de daño neuronal, las neuronas sobre regulan miembros de la familia HER de receptores (Scholz, supra: Liu B, Neufeld AH. Activation of epidermal growth factor receptors in astrocytes: from development to neural injury. J Neurosci Res 2007; 89:3523-9; Carrol SL, Miller ML, Frohnert PW, Kim SS, Corbett JA. Expression of neuregulins and their putative receptors, ErbB2 and ErbB3, es inducido durante degeneración de Waller. J. Neurosci 1997; 17:1642-59), por lo mismo incrementado potencialmente su activación de la cascada de señalización

de MAPK (Ji, 2009, supra). Esto puede llevar a interacción adicional entre las células en la trilogía de dolor neuropático (Scholz, supra). Se ha hecho hipótesis previamente por lo tanto de una inhibición directa de señalización de MAPK por cetuximab en células neuronales o gliales (Kersten C, Cameron MG. Cetuximab alleviates neuropathic pain despite tumor progression. BMJ Case Rep 2012).

- 5 La neuregulina es un regulador importante de la trilogía de dolor neuropático (Calvo M, Zhu N, Grist J. Ma Z, Loeb JA, Bennett DL. Following nerve injury neuregulin-1 drives microglial proliferation and neuropathic pain via the MEK/ERK pathway. *Glia* 2011;59:554-68). Cambios de expresión en isoformas de neuregulina 1 en ratas de modelo NP sugiere un enlace entre el EGFR y NP (Kanzaki H, Mizobuchi S, Obata N, et al. Expression changes of the neuregulin 1 isoforms in neuropathic pain model rats. *Neurosci Lett* 2012;508:78-83). Adicionalmente, se han
- 10 mostrado las rutas de señalización de neuregulina por ser biomarcadores de eficacia de cetuximab (Oliveras-Ferreras C, Vazquez-Martin A, Queralt B, et al. Interferon/STAT1 and neuregulin signaling pathways are exploratory biomarkers of cetuximab (Erbix®) efficacy in KRAS wild-type squamous carcinomas: a pathway-based analysis of whole human-genome microarray data from cetuximab-adapted tumor cell-line models. *Int. J. Oncol* 2011;39:1455-79).
- 15 Después de muchos meses de NP lacerante, que lleva a funcionamiento físico y psicosocial severamente dañado, todos los cuatro pacientes que responden casi inmediatamente ganan calidad de vida que era previamente inimaginable

Ejemplo 3

- 20 Un paciente de 72 años de edad con cáncer de colon metastásico (metastásico solamente en sus pulmones) es iniciado en el tratamiento de tercera línea con monoterapia de panitumumab. La paciente llega a su primera cita de seguimiento 14 días después de la primera infusión y reporta espontáneamente que ha experimentado mejora completa en su ciática intermitente la cual tiene por más de seis meses, dentro de 24 horas de su primera infusión de panitumumab. Recibe subsecuentemente dos dosis adicionales (en intervalos de 2 semanas) y permanece libre de dolor, en cinco semanas de seguimiento. La paciente describe retrospectivamente que su ciática es intermitente,
- 25 grado 6 a 8 en una escala de 10 puntos y hasta que inicia el tratamiento con inhibidor de EGFR, está presente en la mayoría de los días, en tiempo que limitan bastante sus actividades y movilidad. Desde que el tratamiento inicia, no recurre el dolor y la paciente reporta que su calidad de vida ha mejorado significativamente. Tratamientos previos para esta condición incluyen paracetamol, NSAID y benzodiazepinas. No requiere más analgésicos y no hay intervenciones concurrentes u otros cambios en el medicamento.
- 30 Aunque la invención ha sido descrita en relación con realizaciones específicas, se debe entender que la invención como se reivindica no debe ser limitada indebidamente a las realizaciones específicas. En efecto, diversas modificaciones y variaciones de las composiciones y métodos descritos de la invención llegarán a ser evidentes para aquellos de experiencia normal en la técnica y se proponen estar dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor EGFR para uso en el tratamiento de dolor neuropático.
2. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sujeto tratado exhibe síntomas de dolor neuropático y dicho tratamiento reduce o modula los síntomas de dolor neuropático.
- 5 3. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el inhibidor EGFR provoca cambios conformacionales de un polipéptido EGFR.
4. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el inhibidor EGFR interfiere con una interacción de ligando EGFR.
- 10 5. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho inhibidor EGFR es una proteína de unión a antígeno que se une específicamente a un polipéptido EGFR.
6. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha proteína de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste de cetuximab, matuzumab, necitumumab, nimotuzumab, panitumumab, y zalutumumab.
- 15 7. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha proteína de unión a antígeno se selecciona del grupo que consiste de Cetuximab o Panitumumab.
8. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho inhibidor EGFR es un fármaco de molécula pequeña.
9. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho fármaco de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste de afatinib, erlotinib, gefitinib, lapatinib, neratinib y vandetanib.
- 20 10. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que dicho fármaco de molécula pequeña se selecciona del grupo que consiste de Gefitinib y Erlotinib.
11. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sujeto tratado es un animal.
12. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho animal es un humano.
13. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho inhibidor EGFR se coadministra con por lo menos un agente terapéutico adicional.
- 25 14. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dicho por lo menos un agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste de fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, fármacos anti-inflamatorios esteroideos, fármacos a base de opioides, antidepresivos, anticonvulsivos, antiepilépticos, fármacos antiansiedad, y canabinoides y combinaciones de los mismos.
- 30 15. El inhibidor EGFR para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el sujeto tratado no tiene cáncer o no ha sido tratado previamente para el cáncer.

Figura 1

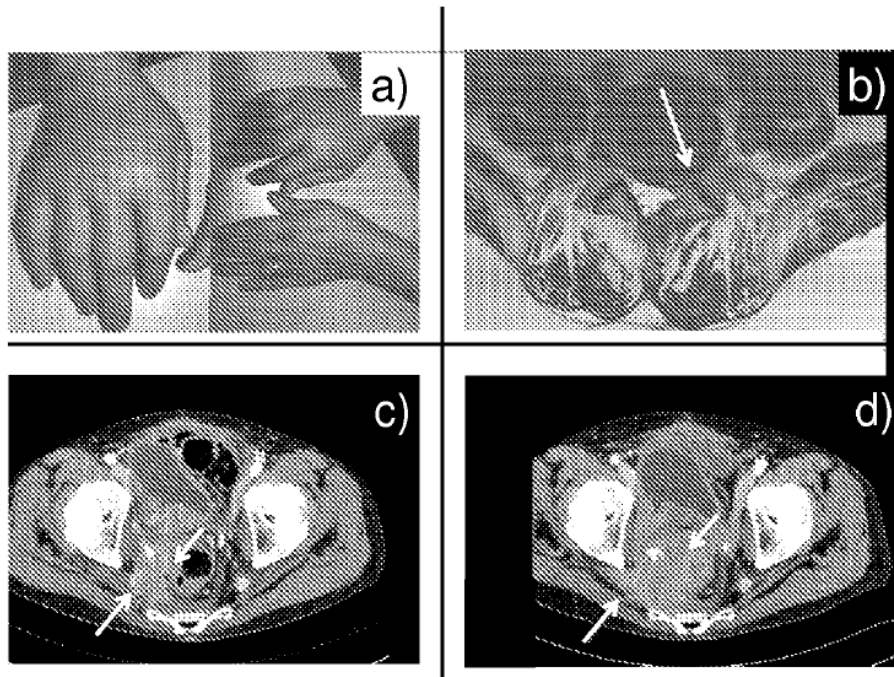


Figura 2

