

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 634 505**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 13/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.08.2010 PCT/US2010/045382**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.02.2011 WO11019963**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.08.2010 E 10808788 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2017 EP 2464375**

54 Título: **Tratamiento de PRG4 para la cistitis intersticial**

30 Prioridad:

13.08.2009 US 233810 P

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

28.09.2017

73 Titular/es:

**LUBRIS LLC (100.0%)
111 Speen Street, Suite 303
Framingham, MA 01701, US**

72 Inventor/es:

**SULLIVAN, BENJAMIN DAVID y
TRUITT, III, EDWARD R**

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 634 505 T3

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

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de PRG4 para la cistitis intersticial

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de PRG4 para SU uso en un método de tratamiento de cistitis intersticial.

10 ANTECEDENTES

La cistitis intersticial (IC) es una enfermedad crónica que ataca principalmente al sexo femenino, provocando un cambio en las paredes de la vejiga de tal manera que se produce una pérdida gradual de la función de dicho órgano. La etiopatogenia precisa de la enfermedad es aún desconocida y existen varias hipótesis postuladas. Una primera hipótesis es que existe un defecto en las capas de revestimiento que forman la mucosa de la vejiga. Esta capa mucosa está formada por los denominados GAG (glicosaminoglicanos), una capa de mucopolisacáridos con propiedades hidrófugas que recubren la pared interna de la vejiga, haciéndola impermeable a la orina. En condiciones patológicas, y por razones todavía en parte desconocidas, las paredes se vuelven permeables debido a una pérdida de GAG, por lo tanto, permitiendo que la orina penetre en la pared de la vejiga, causando irritación e inflamación. Este cambio puede ser evidente de diferentes maneras, desde un ligero adelgazamiento del urotelio hasta las úlceras reales (las llamadas úlceras de Hunners).

Los síntomas parecen ser los típicos de un ataque de cistitis: frecuencia, urgencia, incontinencia, disuria, quemazón y/o dolor suprapúbico, dolor pélvico, perineal, vaginal y anorrectal. La ausencia de bacterias en la orina es frecuente aunque, como resultado de los cambios adquiridos en la mucosa, se ven casos en los que los gérmenes se superponen a la inflamación. Esto complica aún más el diagnóstico y en consecuencia confunde el historial clínico.

Las dolencias pueden estar presentes individualmente, o en casos más graves, simultáneamente. A menudo asociado con el malestar funcional (hasta 60 micciones durante el día y una noche) se encuentra un dolor intenso que no responde a las terapias analgésicas comunes lo que impide al paciente ser capaz de tener una relación y vida sexual normales.

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas como se definen en las reivindicaciones adjuntas.

35 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El desarrollo crónico y progresivo de la cistitis intersticial y/o las afecciones del tracto urinario relacionadas justifica la necesidad de un diagnóstico correcto y rápido, permitiendo iniciar la terapia correcta. A pesar de estas consideraciones, se ha calculado que con un paciente afectado por cistitis intersticial, se requieren aproximadamente 5-7 años y un promedio de 4-5 especialistas antes de que se alcance el diagnóstico correcto. Como las causas de la cistitis intersticial son desconocidas, los tratamientos están dirigidos exclusivamente a aliviar los síntomas. La eficacia de la mayoría de los tratamientos sigue siendo baja y los síntomas suelen regresar después de un breve período de mejoría o recuperación momentánea.

El hialuronato sódico, una molécula que forma parte del grupo GAG, se utiliza actualmente con fines terapéuticos en forma de una solución muy diluida (aproximadamente un 0,08-0,5 % en peso) aplicada a través de un catéter. Como ejemplo, hay una solución actualmente en el mercado (con un 0,08 % de principio activo en peso) que comprende 40 mg de hialuronato sódico (CYSTISTAT®) en unidades de dosificación apropiadas de 50 ml que han de mantenerse dentro de la vejiga durante el mayor tiempo que posible. Aunque el contenido relativamente bajo de principio activo es desventajoso por una parte para los fines de terapia, esta limitación deriva, por otra parte, de las características fisicoquímicas del ácido hialurónico cuyas soluciones acuosas muestran un aumento sobreproporcional en la viscosidad con la concentración. Por lo tanto, un aumento indiscriminado de la concentración de principios activos (a pesar de su excelente solubilidad en agua) no es factible para los fines terapéuticos considerados en el presente documento, ya que el consiguiente aumento sustancial de la viscosidad haría difícil la aplicación de la solución a través de un catéter y cada vez más dolorosa. Por consiguiente, en la preparación de soluciones terapéuticas no es posible hacer uso de regiones extendidas del rango de solubilidad del ácido hialurónico; con el fin de intensificar la terapia conocida, por lo tanto, el aumento de la frecuencia de la extensión completa de las regiones extendidas de las aplicaciones de las soluciones diluidas sigue siendo la única opción.

- Los tratamientos con dimetilsulfóxido (DMSO), aprobados para la IC en 1977 sobre la base de los datos de ensayos no controlados, pueden ser útiles con instilaciones intravesicales semanales durante 6 a 8 semanas y luego cada dos semanas durante 3-12 meses para mantenimiento. Sin embargo, la terapia con DMSO da como resultado un beneficio para aproximadamente el 50 % de los pacientes de IC tratados y el tratamiento tarda mucho tiempo en reducir los síntomas. Además, esta terapia provoca dolor que no se alivia por los anestésicos locales por sí mismos debido a su falta de absorción en la pared de la vejiga. Los narcóticos se administran para el alivio inmediato de los síntomas, sin embargo, sólo son mínimamente eficaces. Algunos pacientes se benefician de un curso individual formal de modificación del comportamiento de 8 a 12 semanas. También se recomienda a los pacientes que eviten los alimentos ricos en potasio, particularmente los cítricos, los tomates, el chocolate y el café.
- 10 Por lo tanto, los tratamientos que beneficiarían a una porción más grande de la población de pacientes, proporcionan un alivio inmediato de los síntomas sin causar dolor adicional, sin requerir grandes alteraciones en la dieta, y además proporcionan la inversión del proceso de la enfermedad con el tiempo.
- 15 En el presente documento se describen composiciones adecuadas para instilación directa en la vejiga que es útil para el tratamiento y/o prevención de la cistitis intersticial, comprendiendo la composición una cantidad terapéutica de PRG4. Las composiciones descritas en el presente documento comprenden PRG4 en una concentración adecuada para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de PRG4 a la ubicación deseada y que es adecuada para la administración del PRG4 al lugar deseado (por ejemplo, directamente a la vejiga).
- 20 Se puede utilizar cualquier concentración adecuada de PRG4 en las composiciones descritas en el presente documento. En realizaciones específicas, la concentración farmacéuticamente eficaz de PRG4 está en un intervalo de 10-10.000 µg/ml, preferiblemente 50-5.000 µg/ml, y más preferiblemente 100-300 µg/ml.
- 25 En ciertas realizaciones, una composición descrita en el presente documento comprende además, o un método descrito en el presente documento, comprende además administrar a un individuo (por ejemplo, hombre o animal), un heparinoide. Se utiliza opcionalmente cualquier heparinoide adecuado. De hecho, se contemplan una variedad de heparinas y compuestos heparinoides relacionados, incluyendo, pero sin limitación, uno o más de los siguientes: heparina sódica, pentosano polisulfato sódico, sulfato de heparán, glicosaminoglicanos y similares. La presente invención no se limita a ninguna heparina particular.
- 30 Como se describe en el presente documento, dicha composición comprende, o dicho método comprende administrar, al menos 10 unidades, al menos 100 unidades, al menos 1.000 unidades, al menos 5.000 unidades, o al menos 10.000 unidades ("Unidad USP") de heparina por dosis unitaria. En una realización, dicha composición comprende, o dicho método comprende administrar, al menos 10.000 unidades de heparina por dosis unitaria. En una realización, dicha composición comprende, o dicho método comprende la administración de 10.000 a 40.000 unidades de heparina por dosis unitaria. Por consiguiente, en algunas realizaciones, dicha composición comprende, o dicho método comprende administrar, 100 unidades, 10.000 unidades, 40.000 unidades (o cualquier cantidad entre 100 unidades y 40.000 unidades) de heparina por dosis unitaria. En una realización, dicha composición comprende, o dicho método comprende la administración, de 100 mg a 600 mg de pentosano polisulfato sódico por dosis unitaria. Por consiguiente, en algunas realizaciones, dicha composición comprende, o dicho método comprende administrar 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg (o cualquier cantidad entre 100 mg y 600 mg) de pentosano polisulfato sódico por dosis unitaria. Los heparinoides pueden utilizarse en diversas realizaciones en el presente documento y pueden utilizarse en cualquier cantidad adecuada, tal como las descritas anteriormente.
- 45 Además, pueden utilizarse otros heparinoides y utilizarse en cantidades seleccionadas de acuerdo con su actividad y beneficio terapéutico en un método descrito en el presente documento.
- La heparina utilizada en los métodos y/o composición que se describe en el presente documento está en cualquier forma adecuada. En algunas realizaciones, la heparina es o comprende heparina de alto peso molecular, heparina de bajo peso molecular, o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la heparina es una especie de peso molecular superior que varía de 8.000-40.000 daltons. En algunas realizaciones, la heparina es heparina de peso molecular inferior, que tiene un peso molecular que varía de 2.000 a 8.000 daltons (por ejemplo, pentosano polisulfato sódico que varía de 4.000 a 6.000 daltons). Las heparinas HMW y LMW utilizadas en el presente documento pueden prepararse o adquirirse de cualquier manera adecuada. En algunas realizaciones, las heparinas LMW se preparan mediante hidrólisis enzimática o controlada químicamente de heparina no fraccionada y tienen una estructura química muy similar a la heparina no fraccionada excepto por algunos cambios que pueden haberse introducido debido al tratamiento enzimático o químico.

En una realización, la heparina u otro heparinoide es una sal de heparina, por ejemplo, una sal farmacéuticamente

aceptable (por ejemplo, heparina sódica, pentosano polisulfato sódico, sulfato de heparán). Como se usan en el presente documento, las expresiones "sales farmacéuticamente aceptables", "una sal farmacéuticamente aceptable del mismo" o "complejo farmacéuticamente aceptable" para los fines de esta solicitud son equivalentes y se refieren a derivados preparados a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo ácidos y bases inorgánicas y ácidos y bases orgánicas. Dado que el compuesto de la presente invención es ácido, las sales pueden prepararse a partir de bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables. Un contraión farmacéuticamente aceptable adecuado para la heparina es un contraión cargado positivamente tal como sodio, calcio, amonio y amonio sustituido.

- 10 En algunas realizaciones, la cantidad de heparinoide en las composiciones de la invención variará dependiendo del sujeto, la gravedad y el curso de la enfermedad, la salud del sujeto y la respuesta al tratamiento y el criterio del médico tratante. Por consiguiente, en algunos casos, las dosificaciones de las moléculas deben valorarse para el sujeto individual. En ciertas realizaciones, un método descrito en el presente documento comprende además la valoración de la cantidad de composición, y/o la cantidad de PRG4, heparinoide o similar administrada a un individuo
- 15 (por ejemplo, en base a la respuesta del individuo a la terapia).

Como se ha analizado anteriormente, se pueden utilizar varias dosis unitarias de heparina USP en las composiciones y métodos descritos en el presente documento. Por ejemplo, en una realización, la heparina contiene al menos 130 unidades USP por mg. Como se usa en el presente documento, la unidad "USP" se refiere a la cantidad de heparina que evita que 1 ml de plasma de oveja citrado se coagule durante 1 hora después de la adición de 0,2 ml de CaCl_2 al 1 % a 20 grados C en comparación con un estándar de referencia de USP (definido como unidades/ml). Como se usa en el presente documento, "IU" se refiere a la cantidad de heparina que está activa en los ensayos según se lo establecido por el quinto estándar internacional para la heparina no fraccionada (WHO-5) (definida como unidades internacionales/ml) (Linhardt, R. J. & Gunay, N. S. (1999) Semin Thromb Hemost 25, 5-16.).

20 En una realización ejemplar adicional, el pentosano polisulfato sódico (PPS) se puede administrar a una dosis de 300 mg por día, aunque puede ser necesaria una dosis más alta para obtener un resultado satisfactorio en algunos casos. Por ejemplo, para los hombres con IC, el PPS puede prescribirse a aproximadamente 600 mg al día, en dos o tres dosis divididas.

30 De acuerdo con la práctica de la invención, meramente a modo de ejemplo, cuando el heparinoide es heparina, la cantidad de heparinoide en la composición puede ser cualquier cantidad adecuada, por ejemplo, entre aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1000 mg de heparina por dosis unitaria (por ejemplo, de aproximadamente 500 unidades de heparina a aproximadamente un máximo de 100.000 unidades de heparina (por ejemplo, de aproximadamente 1000 unidades USP a aproximadamente 100.000 unidades USP por dosis o 100 unidades USP a aproximadamente 600 unidades USP por dosis unitaria de heparina)).

40 De acuerdo con la práctica de la invención, sólo a modo de ejemplo, cuando el heparinoide es pentosano polisulfato sódico, la cantidad de heparinoide en la composición puede ser de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 600 mg de pentosano polisulfato sódico por dosis unitaria (por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 600 mg por unidad de dosis de pentosano polisulfato sódico).

45 De acuerdo con la práctica de la invención, meramente a modo de ejemplo, cuando el heparinoide es sulfato de heparán, la cantidad de heparinoide en la composición puede ser de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 10.000 mg de sulfato de heparán por dosis unitaria (por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg por dosis unitaria de sulfato de heparán).

50 De acuerdo con la práctica de la invención, sólo a modo de ejemplo, cuando el heparinoide es ácido hialurónico, la cantidad de heparinoide en la composición puede ser de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 600 mg de ácido hialurónico por dosis unitaria (por ejemplo, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg por unidad de dosis de ácido hialurónico).

55 De acuerdo con la práctica de la invención, meramente a modo de ejemplo, cuando el heparinoide es sulfato de condroitina, la cantidad de heparinoide en la composición puede ser de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10.000 mg de sulfato de condroitina por dosis unitaria (por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg por dosis unitaria de sulfato de condroitina).

De acuerdo con la práctica de la invención, meramente a modo de ejemplo, cuando el heparinoide es heparina sódica, la cantidad de heparinoide en la composición puede ser de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 600

mg de heparina sódica por dosis unitaria.

La composición puede comprender además un anestésico local. El anestésico (por ejemplo, el anestésico local) en las composiciones de la invención incluye, pero sin limitación, cualquiera de benzocaína, lidocaína, tetracaína, 5 bupivacaína, cocaína, etidocaína, flecainida, mepivacaína, pramoxina, prilocaína, procaína, cloroprocaína, oxiprocaína, proparacaína, ropivacaína, diclonina, dibucaína, propoxicaína, cloroxilenol, cincocaína, dexivacaína, diamocaína, hexilcaína, levobupivacaína, propoxicaína, pirrocaína, risocaína, rodocaína, y derivados y bioisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, o una combinación de los mismos. Preferiblemente, el anestésico (por ejemplo, anestésico local) se selecciona del grupo que consiste en lidocaína, bupivacaína, benzocaína, tetracaína, 10 etidocaína, flecainida, prilocaína, y dibucaína, o una combinación de los mismos. En una realización preferida, el anestésico local comprende al menos uno de lidocaína, bupivacaína y mepivacaína. Mucho más preferiblemente, el anestésico local es lidocaína. Los anestésicos descritos en el presente documento pueden utilizarse de cualquier manera adecuada. En algunos casos, la cantidad del anestésico en las composiciones o método puede variar o puede ajustarse dependiendo del sujeto, la gravedad y el curso de la enfermedad, la salud del sujeto y la respuesta 15 al tratamiento y el criterio del médico tratante. Por consiguiente, en algunas realizaciones, las dosificaciones de las moléculas se valoran opcionalmente con respecto al sujeto individual. Además, en ciertos casos, el anestésico local se proporciona en cantidades y concentraciones adecuadas para proporcionar alivio anestésico local. Por ejemplo, la cantidad de agente anestésico en las composiciones puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1 g, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 600 mg, de aproximadamente 10 mg a 20 aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 250 mg, o similares por dosis unitaria. Generalmente, se puede utilizar cualquier concentración adecuada de anestésico local, tal como, a modo de ejemplo no limitativo, de aproximadamente el 0,01 % en peso a aproximadamente el 20 % en peso, o más. En realizaciones más específicas, una concentración adecuada de anestésico incluye, por ejemplo, del 0,05 % en peso al 10 % en peso, del 0,1 % en peso al 5 % en peso, del 0,5 % en peso al 3 % en peso, o similares. En una realización ejemplar, 25 la cantidad de lidocaína puede ser de 10 ml de lidocaína al 1 % por dosis unitaria o de 16 ml de lidocaína al 2 % por dosis unitaria.

Las composiciones de la invención pueden comprender además fosfolípidos. Los ejemplos de fosfolípidos incluyen, pero sin limitación, L- α -dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomielina.

30 En ciertas realizaciones, la invención adicionalmente o como alternativa (es decir, como alternativa a PRG4), comprende un inductor de PRG4. Los compuestos que inducen PRG4 incluidos en la presente invención incluyen, pero sin limitación, un andrógeno, un análogo de andrógeno, un modulador selectivo del receptor de andrógenos, un modulador selectivo del receptor de estrógenos, un antagonista de estrógeno, un inhibidor de aromatasa, una 35 antiproteasa, un antagonista de citocina proinflamatoria, un inhibidor de la liberación de citocinas, una citocina antiinflamatoria, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de NF- κ B y un inhibidor de proteasoma.

En ciertas realizaciones, los análogos de andrógenos incluyen, pero sin limitación, un derivado de 17 α -metil-17 β -hidroxi-2-oxa-5 α -androstano 3-ona, un andrógeno sustituido con nitrógeno, un derivado de testosterona, un derivado 40 de 5 α -dihidrotestosterona, un derivado de 19-nortestosterona, un derivado 17 β -hidroxi-5 α -androstano que contiene una insaturación del anillo A, o una subclase estructural de andrógenos que comprende compuestos androgénicos con características estructurales inusuales.

En ciertas realizaciones, los moduladores selectivos de receptor de andrógenos (SARM) incluyen, pero sin 45 limitación, un compuesto de aril-propionamida, tales como S-3-(4-acetilamino-fenoxi)-2-hidroxi-2-metil-N-(4-nitro-3-trifluorometil-fenil)-propionamida[S-4], o S-3-(4-fluorofenoxi)-2-hidroxi-2-metil-N-(4-nitro-3-trifluorometil-fenil)-propionamida[S-1]), hidantoína bicíclica, quinolina, tetrahidroquinolina, y análogos de los mismos, que tienen actividad androgénica y anabólica *in vivo* de un ligando no esteroideo para el receptor de andrógenos.

50 En ciertas realizaciones, los moduladores selectivos de receptores de estrógenos (SERM) incluyen, pero sin limitación, ligandos no esteroideos del receptor de estrógeno que son capaces de inducir una serie de cambios conformacionales en el receptor y provocar de este modo una diversidad de perfiles biológicos distintos (por ejemplo, prevención de la inflamación inducida por estrógenos), y antagonistas de estrógenos (esteroideos, no esteroideos) independientemente de la afinidad del receptor. En ciertas realizaciones, los compuestos inductores de PRG4 55 también incluyen inhibidores de la aromatasa, antiproteasas, antagonistas de citocinas pro-inflamatorias, tales como un anticuerpo anti-TNF α , un receptor de TNF α soluble, o un antagonista del receptor de IL-1, inhibidores de la liberación de citocinas, inhibidores de NF- κ B, citocinas (por ejemplo, TGF- β) agentes antiinflamatorios, tales como ciclosporina A, ácidos grasos omega 3 y 6, o inhibidores del proteasoma.

- La invención encuentra aplicación en métodos para reducir uno o más de los siguientes: frecuencia urinaria, urgencia urinaria y/o dolor pélvico. En una realización, la presente invención contempla el tratamiento de pacientes con cistitis intersticial (IC). En realizaciones adicionales, la presente invención contempla el tratamiento de pacientes con cistitis inducida por radiación, y cistitis bacteriana o síntomas asociados con la misma. La presente invención
- 5 contempla el tratamiento de pacientes con uno o más de los siguientes: frecuencia urinaria, urgencia urinaria y/o dolor pélvico. También se contempla la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de PRG4, inductor de PRG4, o cualquier composición que comprenda un PRG4 o un inductor de PRG4 descrito en el presente documento.
- 10 En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un anestésico local. La presente invención no se limita a ningún anestésico o formulación local particular. En algunas realizaciones, el anestésico local comprende lidocaína. Típicamente, el anestésico local se selecciona del grupo que consiste en benzocaína, lidocaína, tetracaína, bupivacaína, cocaína, etidocaína, flecainida, mepivacaína, pramoxina, prilocaína, procaína, cloroprocaína, oxiprocaína, proparacaína, ropivacaína, diclonina, dibucaína, propoxicaína, cloroxileno, cincocaína,
- 15 dexivacaína, diamocaína, hexilcaína, levobupivacaína, propoxicaína, pirrocaína, risocaína, rodocaína, y derivados y bioisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos. Preferiblemente, el anestésico local se selecciona del grupo que consiste en lidocaína, bupivacaína, benzocaína, tetracaína, etidocaína, flecainida, prilocaína, y dibucaína. Más preferiblemente, el anestésico local es lidocaína.
- 20 La composición que contiene PRG4 o inductor de PRG4 descrita en el presente documento se formula de cualquier manera adecuada para la administración fisiológica. En algunas realizaciones, dichas composiciones comprenden PRG4 (y/o inductor de PRG4) y un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, un vehículo adecuado para la administración del activo al urotelio, la vejiga o la mucosa de la vejiga). En algunas realizaciones, el vehículo es un líquido o sólido farmacéuticamente aceptable. En realizaciones específicas, los principios activos se suspenden en
- 25 tampón farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, a un pH fisiológicamente aceptable). Puede utilizarse cualquier compuesto tamponante adecuado en dichas composiciones. Por ejemplo, los compuestos tamponantes en las composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, tampón de bicarbonato, THAM o tampón Tris (hidroximetil)aminometano, tampón MOPS (ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico), tampón HEPES (ácido N-(2-hidroxi-etil)piperazin-N-(2-etanosulfónico), tampón ACES (ácido 2-[(2-amino-2-oxoetil)amino]etanosulfónico), tampón
- 30 ADA (ácido N-(2-acetamido)2-iminodiacético), tampón AMPSO (ácido 3-[(1,1-dimetil-2-hidroxi-etil)amino]-2-propanosulfónico), tampón BES (ácido N,N-bis(2-hidroxi-etil)-2-aminoetanosulfónico, tampón Bicine (N,N-bis(2-hidroxi-etil)glicina), tampón Bis-Tris (bis-(2-hidroxi-etil)imino-tris(hidroximetil)metano, tampón CAPS (ácido 3-(ciclohexilamino)-1-propanosulfónico), tampón CAPSO (ácido 3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propanosulfónico), tampón CHES (ácido 2-(N-ciclohexilamino)etanosulfónico), tampón DIPSO (ácido 3-[N,N-bis(2-hidroxi-etil)amino]-2-
- 35 hidroxipropanosulfónico), tampón HEPPS (ácido N-(2-hidroxi-etil)piperazin-N'-(3-propanosulfónico), tampón HEPPSO (ácido N-(2-hidroxi-etil)piperazin-N'-(2-hidroxi-propanosulfónico), tampón MES (ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico), tampón trietanolamina, tampón imidazol, tampón glicina, tampón etanolamina, tampón fosfato, tampón MOPSO (ácido 3-(N-morfolino)-2-hidroxi-propanosulfónico), tampón PIPES (ácido piperazin-N,N'-bis(2-etanosulfónico), tampón POPSO (ácido piperazin-N,N'-bis(2-hidroxi-propanosulfónico), tampón TAPS (ácido N-
- 40 tris(hidroximetil)metil-3-aminopropanosulfónico); tampón TAPSO (ácido 3-[N-tris(hidroximetil)metilamino]-2-hidroxi-propanosulfónico), tampón TES (ácido N-tris(hidroximetil)metil-2-aminoetanosulfónico), tampón tricina (N-tris(hidroximetil)metilglicina), tampón 2-amino-2-metil-1,3-propanodiol, y tampón 2-amino-2-metil-1-propanol. En una realización preferida, el tampón es tampón bicarbonato sódico, tampón Tris, tampón fosfato, tampón MOPS y tampón HEPES, o una combinación de los mismos. En una realización preferida, el compuesto tamponante
- 45 comprende al menos uno de bicarbonato sódico y THAM (trometamina o Tris hidroximetilpropilo). Más preferiblemente, el compuesto tamponante es bicarbonato sódico. La cantidad del compuesto tamponante en las composiciones de la invención variará dependiendo del sujeto, la gravedad y el curso de la enfermedad, la salud del sujeto y la respuesta al tratamiento y el criterio del médico tratante. Por consiguiente, las dosificaciones de las moléculas deben ser valoradas con respecto al sujeto individual. Por ejemplo, la cantidad de compuesto o
- 50 compuestos tamponantes en las composiciones de la invención es la cantidad suficiente para elevar el pH de la composición por encima de aproximadamente pH 7; preferiblemente por encima de pH 8; o en un intervalo entre aproximadamente pH 7-12. Por ejemplo, la cantidad de bicarbonato sódico puede ser de aproximadamente 3 ml de bicarbonato sódico al 8,4 % (p/v) por dosis unitaria. En ciertas realizaciones, la presente invención comprende además un componente osmolar que proporciona una solución isotónica o casi isotónica compatible con células
- 55 humanas y sangre. Típicamente, el componente osmolar es una sal, tal como cloruro de sodio, o un azúcar o una combinación de dos o más de estos componentes. El azúcar puede ser un monosacárido tal como dextrosa, un disacárido tal como sacarosa o lactosa, un polisacárido tal como dextrano 40, dextrano 60, o almidón, o un alcohol de azúcar tal como manitol. Todos los componentes de la composición contribuyen a la osmolaridad de la solución, pero para conseguir una solución isotónica o casi isotónica, se deben tener en cuenta las aportaciones de estos

componentes para asegurar que se añade el componente osmolar adecuado y no se añade en exceso, lo que daría como resultado una solución hipertónica.

Los individuos tratados de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento o con las composiciones 5 descritas en el presente documento, pueden padecer urotelio y/o vejiga inflamados. Por lo tanto, en algunos casos, debido a la naturaleza inflamada y permeable del urotelio, una solución o vehículo líquido preferido es isotónico o casi isotónico. Se sabe que las soluciones hipotónicas dan como resultado la lisis celular, particularmente de los glóbulos rojos, pero también pueden dañarse otras células, lo que conduce a un mayor daño celular en la vejiga y a las capas subyacentes accesibles. Las soluciones hipertónicas pueden dar como resultado un encogimiento celular 10 que puede aumentar los poros o debilitar las uniones celulares permitiendo que los solutos urinarios tengan más acceso a las capas celulares subyacentes, lo que conduce a más daño, dolor e inflamación. La adición de un componente osmolar a la composición para formar una solución isotónica o casi isotónica garantiza que ninguna de estas dos posibilidades se produzca. El componente osmolar se utiliza opcionalmente en cualquier cantidad adecuada. Por ejemplo, en una realización, el componente osmolar es cloruro sódico al 0,9 %, o algo menos, ya que 15 los otros componentes en la solución también contribuyen a la osmolaridad de la solución y, por lo tanto, deben tenerse en cuenta. En algunas realizaciones, el componente osmolar es una sal, tal como cloruro de sodio, o un azúcar o una combinación de dos o más de estos componentes. El azúcar puede ser un monosacárido tal como dextrosa, un disacárido tal como sacarosa o lactosa, un polisacárido tal como dextrano 40, dextrano 60, o almidón, o un alcohol de azúcar tal como manitol. Todos los componentes de la composición contribuyen a la osmolaridad de la 20 solución, pero para conseguir una solución isotónica o casi isotónica, se deben tener en cuenta las aportaciones de estos componentes para asegurar que se añade el componente osmolar adecuado y no se añade en exceso, lo que daría como resultado una solución hipertónica.

El componente osmolar de las composiciones de la invención incluye, pero sin limitación, cloruro sódico, dextrosa, 25 dextrano 40, dextrano 60, almidón y manitol, o una combinación de los mismos.

La cantidad del componente osmolar en las composiciones de la invención variará dependiendo del sujeto, la gravedad y el curso de la enfermedad, la salud del sujeto y la respuesta al tratamiento y el criterio del médico tratante. Por consiguiente, las dosificaciones de las moléculas deben ser valoradas con respecto al sujeto individual. 30 Por ejemplo, la cantidad de componente o componentes osmolares en las composiciones de la invención es de al menos 50 miliosmoles.

Los ejemplos de vehículos y adyuvantes farmacéuticos adecuados incluyen cualquier material que, cuando se combina con los componentes de las composiciones de la invención, conserva la actividad del componente y es no 35 reactivo con el sistema inmune del sujeto. Estos vehículos y coadyuvantes incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero, tales como albúmina sérica humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones (por ejemplo, emulsión aceite/agua), sales o electrolitos tales como, hidrogenofosfato disódico, cloruro sódico, sales de 40 cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa y polietilenglicol. Otros vehículos también pueden incluir soluciones estériles. Las composiciones que comprenden tales vehículos se formulan por métodos convencionales bien conocidos. Dichas composiciones también pueden formularse dentro de diversas composiciones lipídicas, tales como, por ejemplo, liposomas, así como en diversas composiciones poliméricas, tales como microesferas poliméricas.

45 En otra realización más, los fragmentos, multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros, tetrámeros, etc.), homólogos u ortólogos de PRG4 se consideran como sustitutos de PRG4. Los fragmentos y homólogos de PRG4 incluyen aquellos con menos repeticiones dentro del dominio de repetición KEPAPTT de tipo mucina central, formas glicosiladas y no glicosiladas de la proteína, variantes de corte y empalme, formas recombinantes y similares. Un 50 fragmento lubricante de PRG4 presenta al menos un 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o un 95 % del efecto lubricante del PRG4 humano, medido cualitativamente, mecánicamente, ópticamente, eléctricamente, o mediante un ensayo bioquímico.

Como se usa en el presente documento, el término "PRG4", "proteína PRG4" o "proteoglicano 4" se usa 55 indistintamente con el término proteína de "lubricina". PRG4 se utiliza en el presente documento también para incluir el término factor de estimulación de megacariocitos (MSF), que se ha aceptado para la base de datos de Nomenclatura de Genes Humanos de UCL/HGNC/HUGO, y la proteína de zona superficial (SZP). La proteína PRG4 o lubricina, como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier proteína, homólogo, fragmento funcional o motivo, isoforma de lubricina aislada o purificada nativa o recombinante, y/o mutantes de los mismos. En ciertas

realizaciones, la proteína PRG4 aislada o purificada comprende una secuencia de aminoácidos para una proteína lubricina humana o recombinante humana. En otras realizaciones, la proteína PRG4 aislada o purificada comprende una secuencia de aminoácidos codificada por los exones *prg4gene* que codifican la proteína PRG4 de longitud completa o las estructuras primarias de las isoformas. El gen del proteoglicano 4 (*prg4*) contiene 12 exones. La proteína PRG4 utilizada en el presente documento comprende una secuencia de aminoácidos codificada por los exones 1-12 de *prg4gene*, más preferiblemente los exones 6-12 y mucho más preferiblemente, los exones 9-12.

Como se usa en el presente documento, la proteína PRG4 incluye cualquier proteína PRG4 conocida ahora, o descrita más adelante. En ciertas realizaciones, se proporciona una secuencia preferida de aminoácidos de la proteína PRG4 en la SEQ ID NO: 1. La proteína PRG4 comparte la estructura de aminoácidos primaria de cualquier proteína o isoforma conocida de PRG4 con al menos un 60 % de homología, preferiblemente un 75 % de homología, más preferiblemente un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de homología.

Como se usa en el presente documento, la proteína PRG4 comprende una porción biológicamente activa de la proteína. Como se utiliza en el presente documento, una "porción biológicamente activa" de la proteína PRG4 incluye un fragmento de una proteína que comprende secuencias de aminoácidos suficientemente homólogas o derivadas de la secuencia de aminoácidos de la proteína, que incluye menos aminoácidos que la proteína de longitud completa, y muestra al menos una actividad de la proteína de longitud completa. Típicamente, una porción biológicamente activa comprende un dominio o motivo con al menos una actividad de la proteína. Una porción 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, una porción biológicamente activa de la proteína PRG4 puede usarse como un agente terapéutico en solitario o en combinación con otros agentes terapéuticos para tratar una lubricación del contorno ocular indeseable o disminuida.

Las secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos de varias proteínas PRG4 o lubricinas nativas y recombinantes, y la caracterización de las proteínas PRG4 y las diversas isoformas se desvelan, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos n.º 5.326.558; 6.433.142; 7.030.223; 7.361.738 de Turner et al., y las Patentes de Estados Unidos n.º 6.743.774 y 6.960.562 de Jay et al. La Publicación de Estados Unidos n.º 20070191268 de Flannery et al. también desvela moléculas de PRG4 o lubricina recombinantes útiles en la presente invención.

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

Como se usa en el presente documento descriptiva, "recombinante" se refiere a un polinucleótido sintetizado o manipulado de otra manera *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") codificada por un polinucleótido recombinante. "Recombinante" también incluye la ligación de ácidos nucleicos que tienen diversas regiones codificantes o dominios o secuencias promotoras de diferentes fuentes en un casete o vector de expresión para la expresión de, por ejemplo, la expresión inducible o constitutiva de una proteína de fusión que comprende un dominio activo del gen PRG4 y una secuencia de ácido nucleico amplificada utilizando un cebador de la invención.

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

Como se usa en el presente documento, el término "ADNc" incluye ADN que es complementario a las moléculas de ARNm presentes en un ARNm de una célula u organismo que puede ser convocado en ADNc con una enzima tal como la transcriptasa inversa. En ciertas realizaciones, el ADNc que codifica la proteína PRG4 se aísla de ARNm de PRG4 expresado en células epiteliales de la vejiga humana usando un método de RT-PCR bien conocido en la técnica.

Como se usa en el presente documento, los términos "polinucleótido", "ácido nucleico/nucleótido" y "oligonucleótido" se usan indistintamente, e incluyen formas poliméricas de nucleótidos de cualquier longitud, 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 de origen natural, sintéticos, recombinantes o cualquier combinación de los mismos.

Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótidos. Si está presente, se pueden impartir modificaciones a la estructura nucleotídica antes o después del ensamblaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede ser interrumpida por componentes no nucleotídicos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la polimerización, tal como por conjugación con un componente de marcado. El término también incluye moléculas bicatenarias y monocatenarias. A no ser que se especifique o se requiera otra cosa, cualquier realización de esta invención que sea un polinucleótido incluye tanto la forma bicatenaria como cada una de las dos formas monocatenarias complementarias conocidas o previstas para formar la forma bicatenaria.

Como se usa en el presente documento, la expresión "secuencia polinucleotídica" es la representación alfabética de una molécula polinucleotídica. Un polinucleótido está compuesto por una secuencia específica de cuatro bases de nucleótidos: adenina (A); citosina (C); guanina (G); timina (T); y uracilo (U) en lugar de timina cuando el polinucleótido es ARN, en lugar de ADN. Esta representación alfabética puede ser introducida en bases de datos en un ordenador y utilizada para aplicaciones bioinformáticas tales como, por ejemplo, genómica funcional y búsqueda de homología.

Como se usa en el presente documento, la expresión "polinucleótido/ADNc aislado" incluye moléculas polinucleotídicas que están separadas de otras moléculas polinucleotídicas que están presentes en la fuente natural del polinucleótido. Por ejemplo, con respecto al ADN genómico, el término "aislado" incluye moléculas polinucleotídicas que están separadas del cromosoma con el que está asociado naturalmente el ADN genómico. Preferiblemente, un polinucleótido "aislado" está libre de secuencias que flanquean naturalmente el polinucleótido (es decir, secuencias situadas en los extremos 5' y 3' del polinucleótido de interés) en el ADN genómico del organismo del que se deriva el polinucleótido. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la molécula polinucleotídica aislada que codifica la proteína PRG4 utilizada en la invención puede contener secuencias de nucleótidos de menos de aproximadamente 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb que flanquean naturalmente la molécula polinucleotídica en el ADN genómico de la célula de la que se deriva el polinucleótido. Además, una molécula de polinucleótido "aislada", 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.

Como se usa en el presente documento, un "gen" incluye un polinucleótido que contiene al menos un marco de lectura abierto que es capaz de codificar un polipéptido o proteína particular después de ser transcrito y traducido. Cualquiera de las secuencias de polinucleótidos descritas en el presente documento también puede usarse para identificar fragmentos más grandes o secuencias de codificación de longitud completa del gen al que están asociadas. Se conocen métodos para aislar secuencias de fragmentos mayores. Como se usa en el presente documento, una molécula polinucleotídica "nativa o de origen natural" incluye, por ejemplo, una molécula de ARN o ADN que tiene una secuencia nucleotídica que se encuentra en la naturaleza (por ejemplo, codifica una proteína natural).

Como se utiliza en el presente documento, el término "polipéptido" o "proteína" es intercambiable, e incluye un compuesto de dos o más aminoácidos de subunidades, análogos de aminoácidos o peptidomiméticos. Las subunidades pueden estar unidas por enlaces peptídicos. En otra realización, la subunidad puede estar unida por otros enlaces, por ejemplo, éster, éter, etc. Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" incluye aminoácidos naturales y/o no naturales o sintéticos, incluyendo glicina y tanto los isómeros ópticos D como L, y análogos de aminoácidos y peptidomiméticos. Un péptido de tres o más aminoácidos se denomina comúnmente un oligopéptido. Las cadenas peptídicas de más de tres o más aminoácidos se denominan polipéptido o una proteína.

En ciertas realizaciones, la proteína PRG4 utilizada en el presente documento se refiere a proteínas PRG4 o a diversos homólogos o isoformas de las mismas, que se expresan de forma natural o recombinante en seres humanos u otras células huésped. Como se usa en el presente documento, "expresar" o "expresión" incluye el proceso mediante el cual los polinucleótidos se transcriben en ARN y/o se traducen en polipéptidos. Si el polinucleótido se deriva del ADN genómico, la expresión puede incluir el corte y empalme del ARN, si se selecciona

un huésped eucariota apropiado. Los elementos reguladores requeridos para la expresión incluyen secuencias promotoras para unirse a la ARN polimerasa y secuencias de iniciación de la 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 la transcripción la secuencia de Shine-Dalgarno y el codón de inicio AUG. De forma similar, un vector de expresión eucariótico incluye un promotor heterólogo u homólogo para ARN polimerasa II, una señal de poliadenilación aguas abajo, el codón de inicio AUG, y un codón de terminación para el desprendimiento 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 construir vectores en general. Como se usa en el presente documento, el término "vector" incluye una molécula de ácido nucleico autorreplicante que transfiere un polinucleótido insertado a y/o entre las células huésped. El término pretende incluir vectores que funcionan principalmente para la inserción de una molécula de ácido nucleico en una célula, vectores de replicación que funcionan principalmente para la replicación de ácidos nucleicos y vectores de expresión que funcionan para la transcripción y/o traducción del ADN o ARN. También se pretenden vectores que proporcionan más de una de las funciones anteriores.

Como se usa en el presente documento, se pretende que una "célula huésped" incluya cualquier célula o cultivo celular individual que pueda ser, o haya sido, un receptor para vectores o para la incorporación de polinucleótidos y/o polipéptidos exógenos. También se pretende incluir progenie de una sola célula. La progenie puede no ser necesariamente completamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN genómico o total) a la célula precursora original debido a mutación natural, accidental o deliberada. Las células pueden ser procariontas o eucarióticas, e incluyen, pero sin limitación, células bacterianas, células de levadura, células de insecto, células animales y células de mamífero, incluyendo, pero sin limitación, células murinas, de rata, simio o humanas. Como se usa en el presente documento, una "célula huésped" también incluye células genéticamente modificadas. La expresión "células modificadas genéticamente" incluye células que contienen y/o expresan una secuencia génica o polinucleotídica extraña o exógena que a su vez modifica el genotipo o fenotipo de la célula o su progenie. "Genéticamente modificado" también incluye una célula que contiene o que expresa una secuencia génica o polinucleotídica que se ha introducido en la célula. Por ejemplo, en esta realización, una célula genéticamente modificada ha introducido un gen cuyo gen es también endógeno a la célula. La expresión "genéticamente modificado" también incluye cualquier adición, delección o interrupción con respecto a los nucleótidos endógenos de una célula. Como se usa en el presente documento, una "célula huésped" puede ser cualquier célula que exprese una proteína PRG4 humana.

Como se usa en el presente documento, "homólogos" se definen en el presente documento como dos ácidos nucleicos o péptidos que tienen ácidos nucleicos, o secuencias de aminoácidos, similares, o sustancialmente idénticas, respectivamente. El término "homólogo" incluye además moléculas de ácido nucleico que difieren de una de las secuencias de nucleótidos debido a la degeneración del código genético y, por lo tanto, codifican 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 la proteína PRG4.

Como se utiliza en el presente documento, el término "ortólogos" se refiere a dos ácidos nucleicos de diferentes especies, pero que han evolucionado a partir de un gen ancestral común por especiación. Normalmente, los ortólogos codifican péptidos que tienen las mismas funciones o funciones similares. En particular, los ortólogos de la invención mostrarán generalmente al menos un 80-85 %, más preferiblemente un 85-90 % o 90-95 %, y mucho más preferiblemente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o incluso un 99 % de identidad, o un 100 % de identidad de secuencia, con toda o parte de la secuencia de aminoácidos de cualquier proteína PRG4 conocida, isoformas, o análogos de las mismas, y mostrarán una función similar a estos péptidos. Como también se usa en el presente documento, el término "parálogos" se refiere a dos ácidos nucleicos que están relacionados por duplicación dentro de un genoma. Los parálogos normalmente tienen diferentes funciones, pero estas funciones pueden estar relacionadas.

Para determinar el porcentaje de identidad de secuencia de dos secuencias de aminoácidos, las secuencias se alinean con fines de comparación óptima (por ejemplo, se pueden introducir espacios en la secuencia de un polipéptido para una alineación óptima con el otro polipéptido o ácido nucleico). A continuación se comparan los residuos de aminoácidos en las correspondientes posiciones de aminoácidos. 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. Se puede hacer el mismo tipo de comparación entre dos secuencias de ácido nucleico. El porcentaje de identidad de secuencia entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, el porcentaje de identidad de secuencia = números de posiciones idénticas/número total de posiciones x 100). Preferiblemente, los homólogos de aminoácidos aislados incluidos en la presente invención son al menos aproximadamente un 50-60 %, preferiblemente al menos

aproximadamente un 60-70 %, y más preferiblemente al menos aproximadamente un 70-75 %, 75-80 %, 80-85 %, 85-90 %, o un 90-95 %, y mucho más preferiblemente al menos aproximadamente un 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idénticos a una secuencia de aminoácidos completa de cualquier proteína PRG4 conocida.

5 En ciertas realizaciones, un homólogo de ácido nucleico aislado que codifica la proteína PRG4 comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos aproximadamente un 40-60 %, preferiblemente al menos aproximadamente un 60-70 %, más preferiblemente al menos aproximadamente un 70-75 %, 75-80 %, 80-85 %, 85-90 %, o un 90-95 %, e incluso más preferiblemente al menos aproximadamente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o más idéntico a una secuencia de nucleótidos que codifica secuencias de aminoácidos de dicha proteína PRG4.

10

La determinación del porcentaje de identidad de secuencia entre dos secuencias de ácido nucleico o peptídicas se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, se puede usar 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 peptídicas. En este método, se usa una penalización de apertura de huecos de 15 y una penalización de extensión de huecos de 6,66 para determinar el porcentaje de identidad de dos ácidos nucleicos. Para determinar el porcentaje de identidad de dos polipéptidos se utilizan una penalización de apertura de huecos de 10 y una penalización de extensión de huecos de 0,1. Todos los demás parámetros se ajustan a los ajustes predeterminados. Para fines de una alineación múltiple (algoritmo de Clustal W), la penalización de apertura de huecos es de 10, y la penalización de extensión de huecos es de 0,05 con la matriz blosum62. Debe entenderse que para los fines de determinar la identidad de secuencia cuando se compara una secuencia de ADN con una secuencia de ARN, un nucleótido de timidina es equivalente a un nucleótido de uracilo.

Además, la proteína PRG4 utilizada en el presente documento incluye la proteína PRG4 codificada por un polinucleótido que hibrida con el polinucleótido que codifica la proteína PRG4 en condiciones rigurosas. Como se utiliza 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 de hidrógeno entre las bases de los residuos nucleotídicos. El enlace de hidrógeno puede producirse por el emparejamiento de bases de Watson-Crick, unión de Hoogstein, o de cualquier otra manera específica de la secuencia. El complejo puede comprender dos hebras que forman una estructura dúplex, tres o más hebras que forman un complejo de múltiples hebras, una única hebra de auto-hibridación, o cualquier combinación de éstas. Una reacción de hibridación puede constituir una etapa en un proceso más extenso, tal como el inicio de una reacción de PCR, o la escisión enzimática de un polinucleótido por una ribozima.

Las reacciones de hibridación pueden realizarse bajo diferentes condiciones rigurosas. La presente invención incluye polinucleótidos capaces de hibridar bajo condiciones de restricción reducida, más preferiblemente condiciones rigurosas, y mucho más preferiblemente condiciones altamente rigurosas, en polinucleótidos que codifican la proteína PRG4 descrita en el presente documento. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "condiciones rigurosas" se refiere a la hibridación durante una noche a 60 °C en una solución de Denhart 10x, 6 x SSC, SDS al 0,5 % y 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Las transferencias se lavan secuencialmente a 62 °C durante 30 minutos cada vez en 3 x SSC/SDS al 0,1 % seguido de 1 x SSC/SDS al 0,1 %, y finalmente 0,1 x SSC/SDS al 0,1 %. Como también se usa en el presente documento, en ciertas realizaciones, la expresión frase "condiciones rigurosas" se refiere a la hibridación en una solución 6 x SSC a 65 °C. En otras realizaciones, las "condiciones altamente rigurosas" se refieren a la hibridación durante una noche a 65 °C en una solución de Denhart 10x, 6 x SSC, SDS al 0,5 % y 100 mg/ml de ADN de esperma de salmón desnaturalizado. Las transferencias se lavan secuencialmente a 65 °C durante 30 minutos cada vez en 3 x SSC/SDS al 0,1 % seguido de 1 x SSC/SDS al 0,1 %, y finalmente 0,1 x SSC/SDS al 0,1 %. Los métodos para hibridaciones de ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. Por consiguiente, las proteínas PRG4 codificadas por los ácidos nucleicos utilizados en el presente documento incluyen ácido nucleico que tiene al menos un 60 % de homología, preferiblemente un 75 % de homología, más preferiblemente un 85 %, más preferiblemente un 90 %, mucho más preferiblemente un 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 99 % de homología con una secuencia polinucleotídica que codifica una proteína PRG4 humana o una isoforma específica o un homólogo de la misma.

Además, las proteínas PRG4 usadas en el presente documento también pueden ser una proteína quimérica o proteína de fusión. Como se usa en el presente documento, una "proteína quimérica" o "proteína de fusión" comprende un primer polipéptido unido operativamente a un segundo polipéptido. Las proteínas quiméricas pueden comprender opcionalmente un tercer, cuarto o quinto u otro polipéptido unido operativamente 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. Los métodos para preparar proteínas

quiméricas se conocen bien en la técnica. En ciertas realizaciones de la presente invención, la proteína quimérica es una quimera de proteína PRG4 con otras isoformas de proteína PRG4.

5 Como se usa en el presente documento, un medio de proteína, polinucleótido o molécula "aislado" o "purificado" se elimina del entorno en el que aparece de forma natural, o sustancialmente libre de material celular, tal como otras proteínas contaminantes de la fuente de células o tejido de la que se obtiene el polinucleótido o molécula de proteína, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente. El lenguaje "sustancialmente libre de material celular" incluye preparaciones separadas de componentes celulares de las células de las que se aísla o se produce o se sintetiza de forma recombinante. En 10 ciertas realizaciones, el lenguaje "sustancialmente libre de material celular" incluye preparaciones de una proteína PRG4 que tiene menos de aproximadamente el 30 % (en peso seco) de otras proteínas (también denominadas en el presente documento un "proteína contaminante"), más preferiblemente menos de aproximadamente el 20 %, aún más preferiblemente menos de aproximadamente el 10 %, y mucho más preferiblemente menos de aproximadamente el 5 % de otras proteínas. Cuando la proteína o polinucleótido se produce de forma recombinante, 15 también está preferiblemente 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 mucho más preferiblemente menos de aproximadamente el 5 % del volumen de la preparación de la proteína de interés.

20 Como se usa en el presente documento, "cistitis intersticial" e "IC" se refiere a un trastorno progresivo del tracto urinario inferior que causa los síntomas de frecuencia urinaria, urgencia y/o dolor pélvico en una amplia variedad de patrones de presentación. Un ejemplo de una revisión reciente es Parsons, Clin Obstet Gynecol, 45(1):242-249 (2002).

25 Como se usa en el presente documento, "frecuencia urinaria" se refiere al número de veces de micción al día.

Como se usa en el presente documento, "urgencia urinaria" se refiere a una incapacidad para retrasar la micción.

30 Como se utiliza en el presente documento, "dolor pélvico" se refiere al dolor en la región pélvica de origen genital y no genital y de etiología orgánica o psicogénica.

Como se usa en el presente documento, "miccionar", "orinar", "evacuar" y "evacuación" se refiere a la liberación de orina desde la vejiga hacia el exterior del cuerpo.

35 Como se usa en el presente documento, "orina" se refiere a un producto de desecho líquido filtrado de la sangre por los riñones, almacenado en la vejiga y expulsado del cuerpo a través de la uretra mediante el acto de orinar.

Como se usa en el presente documento, "oral" y "por administración oral" se refiere a la introducción de una composición farmacéutica en un sujeto a través de la cavidad oral (por ejemplo, en forma líquida o sólida acuosa).

40 Como se usa en el presente documento, "agente oral" se refiere a un compuesto que se puede administrar por vía de la cavidad oral (por ejemplo, en forma líquida acuosa o sólida).

45 Como se utiliza en el presente documento, "instilar", "instilado", "instilación", se refiere a uno o más de los siguientes; introducir por goteo, verter gota a gota, impartir gradualmente, infundir lentamente, hacer que se embeba, (por ejemplo infundir lentamente una solución intravesical).

50 Como se utiliza en el presente documento, "intravesical", se refiere al interior de la vejiga. Como tal, "instilación intravesical", "terapia intravesical", "instilar" e "instilación" se refiere a soluciones que se administran directamente en la vejiga. En algunas realizaciones, la instilación se realiza mediante cateterización. Además, "solución intravesical", "agente intravesical", "producto terapéutico intravesical" y "compuesto intravesical" se refieren a un tratamiento que se puede administrar a la vejiga. Por ejemplo, en una realización, un agente intravesical es heparina intravesical. En otra realización, un agente intravesical es PPS. En una realización, la terapia intravesical es una combinación de un agente oral e intravesical. No se pretende que la presente invención se limite a una combinación de un agente oral e intravesical. Por ejemplo, en una realización, la terapia intravesical es un agente intravesical. En otra realización, la 55 terapia intravesical es una combinación de agentes intravesicales.

Como se usa en el presente documento, "extravesical" se refiere fuera de la vejiga.

Como se usa en el presente documento, "examen cistoscópico" y "cistoscopia" se refieren a un examen que usa un

citoscopio.

Como se usa en el presente documento, "cistoscopio" se refiere a un instrumento endoscópico para visualizar el tracto urinario inferior, que incluye la vejiga y la uretra.

5

Como se utiliza en el presente documento, "uretra" se refiere a un tubo que drena la orina hacia el exterior. Como se usa en el presente documento, "vejiga" se refiere a un órgano muscular hueco que almacena la orina hasta que se excreta del cuerpo.

10 Como se usa en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a cualquier animal, tal como un mamífero como un perro, gato, ganado y un ser humano (por ejemplo, un ser humano con una enfermedad). En una realización, un paciente tiene uno o más de urgencia urinaria, frecuencia urinaria, dolor pélvico, infecciones recurrentes del tracto urinario, dispareunia, vejiga hiperactiva, seca, etc.

15 Como se usa en el presente documento, "infecciones del tracto urinario" se refiere a una afección que incluye una uretra inflamada y micción dolorosa. En algunas realizaciones, una infección del tracto urinario es causada por bacterias. En algunas realizaciones, una infección del tracto urinario no está causada por bacterias.

20 Como se usa en el presente documento, "infecciones recurrentes del tracto urinario" se refieren a episodios frecuentes de infecciones del tracto urinario.

Como se usa en el presente documento, "vejiga hiperactiva" se refiere a una contracción involuntaria repentina de la pared muscular de la vejiga que provoca urgencia urinaria, una necesidad inmediata imparables de orinar y una forma de incontinencia urinaria.

25

Como se usa en el presente documento, "incontinencia urinaria" se refiere a la pérdida involuntaria de orina e incapacidad para controlar la micción o evitar su fuga.

30 Como se usa en el presente documento, "continencia urinaria" se refiere a una capacidad general para controlar la micción.

Como se usa en el presente documento, "catéter" se refiere a un tubo que pasa a través del cuerpo para drenar fluidos o inyectarlos en cavidades corporales. Puede estar hecho elástico, de una banda elástica, goma, vidrio, metal o plástico.

35

Como se utiliza en el presente documento, "cateterización" se refiere a la inserción de un tubo delgado a través de la uretra o a través de la pared abdominal anterior en la vejiga, el depósito urinario o el conducto urinario para permitir el drenaje de la orina.

40 Como se utiliza en el presente documento, "cateterizado" se refiere a la recogida de una muestra mediante un cateterismo. Los términos "muestra" y "espécimen" se usan en su sentido más amplio e incluyen muestras o especímenes obtenidos de cualquier fuente.

45 Como se usa en el presente documento, la expresión "muestras biológicas" se refiere a muestras o especímenes obtenidos de animales (incluyendo seres humanos), e incluye células, fluidos, sólidos, tejidos y gases. Las muestras biológicas incluyen tejidos (por ejemplo, material de biopsia), orina, células, mucosas, sangre y productos sanguíneos tales como plasma, suero y similares. Sin embargo, estos ejemplos no deben interpretarse como limitativos de los tipos de muestras que encuentran uso con la presente invención.

50 Como se utiliza en el presente documento, la expresión "citología de orina" se refiere a un examen de una muestra de orina que se procesa en el laboratorio y se examina bajo el microscopio por un patólogo que busca la presencia de células anormales.

55 Como se usa en el presente documento, "disfunción urinaria" y "disfunción del tracto urinario" se refieren a micción anormal, patrones o hábitos de la vejiga, incluyendo incontinencia, goteo y otros problemas de control de orina.

Como se usa en el presente documento, "heparinoide" se refiere a cualquier molécula que comprende un "glicosaminoglicano" que se refiere a una molécula que comprende una red de cadenas largas y ramificadas de azúcares (por ejemplo, sulfato de condroitina, sulfato de heparán, ácido hialurónico, sulfato de queratina, sulfato de

- dermatano, hialuronano y similares) y comprende óptimamente además moléculas menores que contienen nitrógeno (por ejemplo, moléculas de bajo peso molecular). No se pretende limitar la presente invención a ningún glicosaminoglicano (GAG) o fuente de GAG. Las moléculas de GAG incluyen, pero sin limitación, GAG de bajo peso molecular (LMW), GAG de origen natural, GAG preparados biotecnológicamente, GAG modificados químicamente,
- 5 GAG sintéticos y similares. No se pretende limitar la presente invención a ninguna molécula heparinoide o fuente de molécula heparinoide. Como se utiliza en el presente documento, "heparina" se refiere a un grupo heterogéneo de glicosaminoglicanos aniónicos de cadena lineal, como se ha descrito anteriormente, que tiene propiedades anticoagulantes con un peso molecular que varía de 2.000 a 40.000 Da. La heparina se mide por su actividad anticoagulante específica en unidades.
- 10 Como se utiliza en el presente documento, "anestesia" se refiere a una pérdida de sensación o incapacidad para sentir dolor.
- Como se usa en el presente documento, "anestesia local" se refiere a un método de prevención del dolor en una
- 15 pequeña área del cuerpo.
- Como se usa en el presente documento, "heparinas de bajo peso molecular" se refiere a una especie de peso molecular inferior (LMW) que varía de 2.000 a 8.000 daltons (por ejemplo, pentosano polisulfato sódico que varía de 4.000 a 6.000 daltons).
- 20 Como se usan en el presente documento, las expresiones "sales farmacéuticamente aceptables", "una sal farmacéuticamente aceptable del mismo" o "complejo farmacéuticamente aceptable" para los fines de esta solicitud son equivalentes y se refieren a derivados preparados a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo ácidos y bases inorgánicas y ácidos y bases orgánicas.
- 25 Como se usa en el presente documento, "disfunción epitelial urinaria inferior" se refiere a trastornos con pruebas positivas de sensibilidad al potasio (por ejemplo, IC, prostatitis y similares).
- Como se usa en el presente documento, "disfunción urinaria" se refiere a micción anormal, patrones o hábitos de la
- 30 vejiga, incluyendo incontinencia, goteo y otros problemas de control de orina.
- Como se usa en el presente documento, "anticoagulante" se refiere a retrasar o prevenir la coagulación de la sangre. No se pretende limitar los tipos de azúcares presentes en una heparina de la presente invención. Cinco ejemplos de azúcares que se producen en heparina son: (1) 2-sulfato de ácido alfa-L-idurónico, (2) 6-sulfato de 2-desoxi-2-
- 35 sulfamino-a-D-glucosa, (3) ácido beta-D-glucurónico, (4) 2-acetamido-2-desoxi-a-D-glucosa, y (5) ácido alfa-L-idurónico. La heparina se mide por su actividad anticoagulante específica en unidades.
- Como se usa en el presente documento, la expresión "concentración o cantidad eficaz" o "concentración o cantidad terapéuticamente eficaz" pretende significar una concentración o cantidad no tóxica pero suficiente de una proteína
- 40 PRG4 u otros agentes terapéuticos para proporcionar los efectos terapéuticos deseados. La concentración o cantidad que es eficaz variará de sujeto a sujeto, dependiendo de la edad y estado general del individuo, de los agentes particulares y similares. Por lo tanto, no siempre es posible especificar una concentración o cantidad eficaz exacta. Además, la concentración o cantidad eficaz exacta de una proteína PRG4 y otro agente terapéutico incorporado en una composición o forma de dosificación de la presente invención no es crítica, siempre y cuando la
- 45 concentración esté dentro de un intervalo suficiente para permitir la aplicación rápida de la solución o formulación con el fin de suministrar una cantidad de la proteína PRG4 y otros agentes activos que esté dentro de un intervalo terapéuticamente eficaz.
- La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender además uno o más portadores o vehículos
- 50 farmacéuticamente aceptables que comprenden cualquier material aceptable, y/o uno o más aditivos conocidos en la técnica. Como se utiliza en el presente documento, el término "portador" o "vehículo" se refiere a materiales portadores adecuados para la administración tópica de fármacos. Los portadores y vehículos útiles en el presente documento incluyen cualquiera de dichos materiales conocidos en la técnica, los cuales son no tóxicos y no interaccionan con otros componentes de la composición de manera perjudicial. En la composición se incluyen
- 55 opcionalmente varios aditivos. Por ejemplo, pueden usarse disolventes, incluyendo cantidades relativamente pequeñas de alcohol, para solubilizar ciertas sustancias de fármacos. Otros aditivos opcionales incluyen opacificantes, antioxidantes, fragancia, colorantes, agentes gelificantes, agentes espesantes, estabilizadores, tensioactivos y similares. También se pueden añadir otros agentes, tales como agentes antimicrobianos, para evitar el deterioro durante el almacenamiento, es decir, para inhibir el crecimiento de microbios tales como levaduras y

mohos. Los agentes antimicrobianos adecuados se seleccionan típicamente del grupo que consiste en los ésteres metílico y propílico del ácido p-hidroxibenzoico (es decir, metil y propil parabeno), benzoato de sodio, ácido sórbico, imidurea y combinaciones de los mismos. Los potenciadores de la permeación y/o los aditivos que mitigan la irritación también pueden incluirse en la composición farmacéutica de la presente invención.

5

Los sujetos tratados por la presente invención incluyen sujetos mamíferos, incluyendo un humano, mono, simio, perro, gato, vaca, caballo, cabra, cerdo, conejo, ratón y rata.

Ejemplos

10

Ejemplo 1: Formulaciones de PRG4

Una solución de 100 µg/ml de PRG4 adecuada para la instilación directa tiene la siguiente composición:

Solución de PRG4 para instilación por ml	
PRG4, purificado	100 µg
Cloruro sódico, USP	8,5 mg
Fosfato sódico dibásico ·7H ₂ O, USP	0,42 mg
Fosfato sódico monobásico ·2H ₂ O, USP	0,04 mg
Agua estéril para inyección, USP o agua estéril para irritación, USP	c.s.

15

Para una forma de dosificación de 20 ml, se añade la cantidad requerida de cloruro sódico (20 veces la cantidad indicada en la tabla anterior) y se mezcla hasta que se disuelve completamente (aproximadamente 15 minutos o más) en aproximadamente 20 ml de agua para inyección o irrigación, USP. Posteriormente, se añade a la solución la cantidad requerida de fosfato sódico monobásico y dibásico. Entonces se añade PRG4 y se mezcla hasta que se disuelve completamente. Si es necesario, el pH se ajusta a 7,2 con sodio 1 N en agua para inyección, USP o ácido fosfórico 1 N en agua para inyección, USP o equivalentes. Se añade una cantidad suficiente al volumen final con agua estéril y se mezcla a fondo.

20

En algunas realizaciones, el método anterior es adecuado para producir diferentes dosis unitarias de PRG4, simplemente alterando el volumen de tampón y/o alterando la cantidad de PR4 y otros componentes señalados, por ejemplo, 10-10.000 µg/ml. En otras realizaciones, la formulación puede comprender además un conservante, por ejemplo, alcohol bencílico o parabenos (metilparabeno, propilparabeno, bencilparabeno y mezclas de los mismos). En realizaciones específicas, la mezcla es alcohol bencílico al 1,5 % p/v.

25

La formulación anterior se llena entonces de forma estéril como 10-40 ml, por ejemplo, 20 ml, alícuotas en 50 ml, viales tipo Flint I moldeados previamente esterilizados a 250 °C durante 180 minutos, y se tapan usando tapones de caucho sintético al 100 % del tipo de 20 mm. Los viales se etiquetan entonces como solución estéril de PRG4.

30

Ejemplo 2: Formulaciones de PRG4/sulfato de heparina

35

Una solución de 100 µg/ml de PRG4, 100 U/ml de heparina adecuada para la instilación directa tiene la siguiente composición:

Solución de PRG4/heparina para instilación por ml	
PRG4, purificado	100 µg
Sulfato de heparina, USP	100 U
Cloruro sódico, USP	8,5 mg
Fosfato sódico dibásico ·7H ₂ O, USP	0,42 mg
Fosfato sódico monobásico ·2H ₂ O, USP	0,04 mg
Agua estéril para inyección, USP o agua estéril para irritación, USP	c.s.

Los componentes de la tabla anterior se mezclan de modos similares a los descritos anteriormente en el Ejemplo 1.

40

Ejemplo 3: Modelo murino de dolor pélvico de cistitis intersticial y tratamiento

Fundamento: Se evalúa el PRG4 para determinar la eficacia de la reducción del dolor pélvico inducido por el virus de la pseudorrabia.

45

Animales: Se obtienen ratones C57BL/6J hembra adultos (10-14 semanas de edad) de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Los ratones se alojan y se mantienen en un ciclo regular de luz:oscuridad de 12:12 horas con alimento y agua *ad libitum*.

5

Inducción de cistitis neurogénica: Se prepara el virus de la pseudorrabia (PRV) y se valora como se indica por Chen et al., J. Urol. 2006; 175(2): 754-759. La cistitis neurogénica se induce mediante la inyección de $2,29 \times 10^6$ unidades formadoras de placa de PRV de Bartha en el músculo abductor caudalis dorsalis (ACD) con una jeringa Hamilton de calibre 26 mientras se mantienen los animales bajo anestesia con isoflurano. Las reservas de PRV irradiadas con UV/inactivadas por calor se emplean como inóculos de control negativo en ratones tratados simuladamente. Tanto los ratones simulados como los infectados con PRV se hidratan a diario mediante inyección subcutánea de 3 ml de solución salina en la región del hombro.

Ensayo conductual: Los ratones se ensayan antes de la administración de PRV (inicial) y después de la infección (PID) después de la inoculación con PRV. La hiperalgesia recomendada y la alodinia táctil se ensayan usando filamentos de von Frey aplicados al abdomen y a la región plantar de la pata trasera. Los ratones se ensayan en cámaras de Plexiglás individuales (6 cm x 10 cm x 12 cm) con un suelo de rejilla de alambre de acero inoxidable (período de aclimatación del ratón de ~10 minutos antes del ensayo). La frecuencia de las respuestas de retirada a la aplicación de filamentos de von Frey en el abdomen se ensaya utilizando cinco fibras individuales con fuerzas de 0,04, 0,16, 0,4, 1 y 4 gramos (Stoelting, Estados Unidos). Cada filamento se aplica durante ~1 segundo con un intervalo de inter-estímulo de 2-5 s para un total de 10 veces, y los pelos se ensayan en orden ascendente de la fuerza. La estimulación se limita a la zona abdominal inferior en la proximidad general de la vejiga y se tiene cuidado al estimular diferentes áreas dentro de esta región para evitar la desensibilización o efectos de "enrollamiento". Se consideran tres tipos de conductas como respuestas positivas a la estimulación del filamento: (1) retracción aguda del abdomen; (2) lamer o rascar inmediatamente el área de estimulación del filamento; o (3) saltar.

Tratamiento terapéutico: Se administra la terapia con PRG4 1 hora antes de la inoculación con PRV y se repite cada 24 horas hasta PID 4. Se administra PRG4 (50 μ l) en forma de una solución de 100 μ g/ml en agua destilada y se instila en la vejiga a través de un catéter de jeringa Hamilton (tubo P10 de 1 cm de largo) mientras que el ratón se mantiene bajo anestesia con isoflurano. Todos los ratones se someten a ensayo para determinar la hiperalgesia referida y la alodinia táctil usando filamentos de von Frey antes y 45 minutos después del tratamiento.

Histología: Los ratones se sacrifican en PID 5 y se perfunden con formalina tamponada neutra al 10 %. Los tejidos de la vejiga se retiran y se procesan mediante fijación y sección. Los tejidos teñidos con hematoxilina y eosina se evalúan por microscopía óptica.

Ejemplo 4: Modelo murino de inflamación de la vejiga en cistitis intersticial y tratamiento

Fundamento: Examinar el efecto del PRG4 sobre la inflamación de la vejiga y la excreción urinaria de glicosaminoglicanos.

Animales: Se obtienen ratas adultas hembra Wistar (180 a 200 g) en Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Los ratones se alojan y se mantienen en un ciclo regular de luz:oscuridad de 12:12 horas con alimento y agua *ad libitum*.

Inducción de inflamación de la vejiga: Las ratas se anestesian con una inyección intraperitoneal de xilazina (4 mg/kg) y ketamina (90 mg/kg). Los genitales externos se limpian con povidona-yodo y se aplica una cantidad pequeña de lubricante de lidocaína al 2 % a la uretra externa. Se inserta un catéter de 3/4 de pulgada de calibre 24 en la vejiga y se dreña la orina. La lesión de la vejiga se induce con sulfato de protamina grado X (Sigma, St. Louis, MO), 10 mg en 200 μ l de solución salina estéril al 0,9 % aplicada por vía intravesical. Después de 30 minutos, la vejiga se dreña y se lava con 200 μ l de solución salina al 0,9 %. Se retira el catéter y se deja que las ratas se recuperen. Las ratas de control se inyectan inicialmente con 200 μ l de solución salina y se sigue el mismo procedimiento.

Tratamiento terapéutico: Para evaluar el efecto de PRG4, 6 horas después de la instilación de sulfato de protamina o de solución salina, los animales se incuban por vía intravesical con 200 μ l de solución PRG4 100 μ g/ml en agua destilada o solución salina cada día hasta PID 7. Cada día, los animales a sacrificar (n = 5 por día) se alojan 24 horas antes del sacrificio en una jaula metabólica para recoger la orina. Después del sacrificio, se retiran las vejigas y se fijan en formalina normal tamponada al 10 % y la orina se centrifuga inmediatamente para eliminar las células exfoliadas y se almacena a -20 °C para un análisis posterior.

Histopatología: Las secciones de parafina de aproximadamente 5 µm de grosor se tiñen con hematoxilina y eosina para determinar la morfología general. El edema y la congestión vascular se clasifican como 0 (ausente), 1 (leve), 2 (moderado) y 3 (grave). Cada tipo de células inflamatorias se cuenta (polimorfonuclear - PMN, mastocito y linfomononuclear - LMN) en 5 secciones transversales con una ampliación X400, en el área más infiltrada.

5

Medición de ácido hialurónico urinario y glicosaminoglicanos sulfatados (GAG): Los niveles de ácido hialurónico (HA) urinario se miden mediante un fluoroensayo no competitivo y no isotópico. Las placas se recubren con proteínas de unión a hialuronano (HABP) y se incuban sucesivamente con muestras que contienen soluciones estándar de HA o muestras de orina de los diferentes grupos, HABP conjugado con biotina y estreptavidina marcada con europio (Amersham Life Science, Buckinghamshire, Inglaterra). Después de la liberación de europio de estreptavidina con una solución de mejora (Perkin-Elmer Life Sciences-Wallac Oy, Turku, Finlandia), la fluorescencia final se mide en un fluorómetro. A continuación, los niveles de HA se normalizan a las concentraciones de creatinina.

10

Para los GAG sulfatados urinarios, se aplican 2 ml de orina a una columna Sephadex G25, equilibrada con agua destilada. El volumen de inclusión se desecha y se recoge el siguiente flujo de 4 ml, se seca al vacío y luego se disuelve en 10 µl de agua destilada y se mantiene congelado para un análisis a -20 °C. Se aplican 5 µl de las muestras almacenadas y 5 µl de un estándar acuoso de GAG (4- y 6-sulfato de condroitina, sulfato de dermatano y sulfato de heparán) a placas de gel de agarosa de 0,2 cm de espesor (0,55 % de agarosa en tampón 1,3-aminopropano 50 nM/acetato, pH 9,0) para proceder con la electroforesis. Las placas de gel se fijan con bromuro de cetiltrimetil-amonio al 0,1 %, se secan, se tiñen con azul de toluidina y se cuantifican por densitometría a 595 nm. La concentración de GCG se normaliza a las concentraciones de creatinina.

15

20

Ejemplo 5: Investigación clínica piloto de la eficacia y seguridad de PRG4 frente a placebo en pacientes con cistitis intersticial/síndrome de vejiga dolorosa

25

Propósito: Una investigación clínica piloto con respecto a la seguridad y eficacia de la formulación de PRG4 del Ejemplo 1 frente a un vehículo placebo en pacientes con cistitis intersticial/síndrome de vejiga dolorosa (IC/PBS)

30

Criterios de inclusión: Pacientes de sexo femenino o masculino de 18 años o más; previamente diagnosticados con IC/PBS; dispuestos a proporcionar el consentimiento informado; y disponibles para la duración del estudio incluyendo el tratamiento y el seguimiento (12 semanas)

35

Criterios de exclusión: Mujer embarazada o lactante; que reciba actualmente o que haya recibido previamente medicamentos en investigación dentro de los 30 días de la detección; terapia previa para IC/PBS; con cualquier afección/enfermedad médica que pudiera interferir con el cumplimiento del paciente o interferir con la interpretación del estudio; incapacidad de leer, entender o proporciona el consentimiento informado por escrito

Grupos de tratamiento:

Grupos	Intervenciones asignadas
Solución de PRG4 experimental (Ejemplo 1)	20 ml para instilación intravesical semanal durante 6 semanas consecutivas
Placebo: Comparador de placebo	Instilación en vejiga de placebo semanalmente durante 6 semanas consecutivas

40

Mediciones de los resultados primarios: Mejora subjetiva evaluada por varios cuestionarios: puntuación del índice de síntomas de O'Leary Sant, diario de la vejiga, escala visual analógica 1-10 para el dolor, cuestionario PSQ4.

Mejora objetiva evaluada por ensayo urodinámico que incluye capacidad cistométrica, 1ª sensación y sensación normal.

45

Mediciones de los resultados secundarios: Evaluaciones de eventos adversos desde la primera instilación hasta la semana 12.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción de las realizaciones preferidas de la misma y de las reivindicaciones.

50

LISTA DE SECUENCIAS

SEQ ID NO:1

MAWKTLPIYLLLLLSVFVIQVSSQDLSSCAGRCGEGYSRDATCNCQDYNCQHME
 CCPDFKRVCTAELSCKGRCFESFERGRECDCAQCKKYDKCCPDYESFCAEVHNPT
 SPPSSKKAPPSGASQTIKSTTKRSPKPPNKKKTKKVIIESEEITEEHSVSENQESSSSSS
 SSSSSSTIRKIKSSKNSAANRELQKCLKVKDNKKNRTRKKKPTPKPPVVDEAGSGLDN
 GDFKVTTPDTSTTQHNVSTSPKITTAKPINRPSLPPNSDTSKETSSTVNVKETTRET
 KETTTTNKQSTTDGKEKTTSAKETQSIEKTSKDLAPTSKVLAKPTPKAETTTKGA
 LTTTPKEPTPTTPKEPASTTPKEPTPTTIKSAPTTTPKEPAPTTTTSAPTTTPKEPAPTTTKE
 PAPTTPKEPAPTTTKEPAPTTTTSAPTTTPKEPAPTTPKKPAPTTPKEPAPTTTPKEPTPT
 TPKEPAPTTTPKEPAPTTTPKEPAPTAPKKPAPTTPKEPAPTTTPKEPAPTTTKEPSPTTPKE
 PAPTTPKSAPTTTTPKEPAPTTTTSAPTTTPKEPSPTTTTTPKEPAPTTTPKEPAPTTPKKPAPT
 PKEPAPTTTPKEPAPTTTTPKEPAPTTTPKETAPTTPKKTPTTPEKLAPTTPKE
 PAPTTPPEELAPTTPPEPTPTTPEEPAPTTPKAAAPNTPKEPAPTTTPKEPAPTTTPKEPAP
 TTPKETAPTTPKGTAPTTLKEPAPTTTPKKPAPKELAPTTPKEPTSTTCDKAPTTTPKG
 TAPTTPKEPAPTTTPKEPAPTTTPKGTAPTTLKEPAPTTTPKKPAPKELAPTTPKGTSTTS
 DKPAPTTPKETAPTTPKEPAPTTTPKKPAPTTPETPPPTTSEVSTPTTTTKEPTTIHKSPDE
 STPELSAEPKALENSPKEPGVPTTKTPAATKPEMTTAKDKTTERDLRTPETTT
 AAPKMTKETATTTTEKTTESKITATTTQVTSTTTQDTPFKITTLKTTTLAPKVTTKK
 TITTEIMNKPEETAAPKDRATNSKATTPKAPKPTKAPKPTSTKKPKTMPRVRKPK
 TTPTRKMTSTMPPELNPTSRIAEAMLQTTTRPNQTPNSKLVEVNPKSEDAGGAEGE
 TPHMLLRPHVFMPEVTPDMDYLPRVNPQGIINPMLSDETNICNGKPVVDGLTTLRNG
 TLVAFRGHYFWMLSPPSPARRITEVWGIPSPIDTVFTRCNCEGKTFFFKDSQYW
 RFTNDIKDAGYPKPIFKGFGGLTGQIVAALSTAKYKNWPESVYFFKRGGSIQYIYK
 QEPVQKCPGRRPALNYPVYGETTQVRRRRFERAIGPSQHTTIRIQYSPARLAYQDKG
 VLNHNEVKVSILWRGLPNVVTSAILPNIRKPDGYDYAFSKDQYYNIDVPSRTARAI
 TTRSGQTLKSVWYNCP

SEQ ID NO:2: GATGCAGGGTACCCCAA (humano, sentido)
 SEQ ID NO:3: CAGACTTTGGATAAGGTCTGCC (humano, antisentido)

5 LISTA DE SECUENCIAS

- <110> SINGULARIS, INC.
- <120> TRATAMIENTO DE PRG4 PARA CISTITIS INTERSTICIAL
- <140> EP 10808788.3
- 10 <141> 12-08-2010
- <150> US 61/233.810
- <151> 13-08-2009
- <160> 3
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1
- <211> 1404
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

ES 2 634 505 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
 165 170 175

ES 2 634 505 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 2 634 505 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

Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Pro Ala Pro Thr Thr Pro Lys Glu Thr

ES 2 634 505 T3

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 2 634 505 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

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

gatgcagggt accc aaa 18

<210> 3

<211> 22

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 3
cagacttgg ataaggctg cc

22

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de PRG4 para su uso en un método de tratamiento de la cistitis intersticial.
- 5 2. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el método comprende reparar una capa de mucina del tejido de la vejiga.
3. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el PRG4 comprende un fragmento lubricante, un multímero o un homólogo de un polipéptido glicosilado que tiene al menos el 60 %-70 % de identidad con SEQ ID NO: 1.
- 10 4. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el PRG4 es una forma purificada o recombinante de PRG4, opcionalmente en la que el PRG4 tiene una masa molar media entre 50 kDa y 400 kDa.
- 15 5. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el PRG4 está en una concentración terapéuticamente eficaz entre 10-10.000 [µg/ml o 50-500 [µg/ml.
- 20 6. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una cantidad eficaz de un componente osmolar, opcionalmente en la que la composición está en solución y el componente osmolar está presente en una cantidad suficiente para que la solución final sea isotónica o casi isotónica.
- 25 7. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el componente osmolar es al menos uno de cloruro sódico, dextrosa, dextrano 40, dextrano 60, almidón y manitol.
8. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además una cantidad eficaz de un agente anestésico local, opcionalmente en el que el agente anestésico local es al menos uno de lidocaína, bupivacaína y mepivacaína.
- 30 9. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la cantidad eficaz del agente anestésico son 10 ml de lidocaína al 1 % o 16 ml de lidocaína al 2 % por dosis unitaria.
- 35 10. Una composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una cantidad eficaz de un heparinoide.
11. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el heparinoide se selecciona de al menos uno de una heparina, un pentosano polisulfato sódico, un sulfato de heparán, una heparina sódica, un ácido hialurónico y un sulfato de condroitina, opcionalmente en la que la cantidad eficaz del heparinoide está entre: (i) de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1000 mg de heparina por dosis unitaria; (ii) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 600 mg de pentosano polisulfato sódico por dosis unitaria; (iii) de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 10.000 mg de sulfato de heparán por dosis unitaria; (iv) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 600 mg de ácido hialurónico por dosis unitaria; (v) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10.000 mg de sulfato de condroitina por dosis unitaria; o (vi) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 600 mg de heparina sódica por dosis unitaria.
- 40 12. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el heparinoide es pentosano polisulfato sódico, opcionalmente en la que el pentosano polisulfato de sódico está en una cantidad de aproximadamente 100 mg/día a aproximadamente 600 mg/día o de aproximadamente 100 mg/día a aproximadamente 300 mg/día.
- 50 13. Una composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un fosfolípido tensioactivo, opcionalmente en la que el fosfolípido tensioactivo está en una concentración terapéuticamente eficaz entre 10-10.000 µg/ml.
- 55 14. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que el fosfolípido tensioactivo se selecciona de: L-a-dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomiolina.

15. Una composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un compuesto inductor de PRG4, que comprende al menos uno de los siguientes: un andrógeno, un análogo andrógeno, un modulador selectivo del receptor de andrógenos, un modulador selectivo del receptor de estrógenos, un antagonista de estrógenos, inhibidor de aromatasa, una antiproteasa, un antagonista de 5 citocinas proinflamatorias, un inhibidor de la liberación de citocinas, una citocina antiinflamatoria, un agente antiinflamatorio, un inhibidor de NF-kB y un inhibidor de proteasoma.
16. Una composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición es adecuada para administración intramuscular, administración intravenosa, administración por 10 instilación directa en la vejiga, administración intravesicular, administración usando liposomas, administración usando polímeros biodegradables, o administración usando un hidrogel.