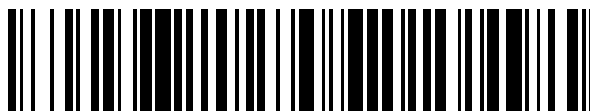


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 879**

51 Int. Cl.:

G01N 33/564 (2006.01)

C07K 2/00 (2006.01)

C07K 4/00 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.03.2007** **PCT/US2007/006451**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.09.2007** **WO07109056**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2007** **E 07753102 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017** **EP 2001496**

54 Título: **Uso de gelsolina para diagnosticar y tratar enfermedades inflamatorias**

30 Prioridad:

15.03.2006 US 782508 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.11.2017

73 Titular/es:

THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL, INC.
(100.0%)

75 FRANCIS STREET
BOSTON, MA 02115, US

72 Inventor/es:

STOSSEL, THOMAS P.;
MAGNUSSON OSBORN, ANNA CHARLOTTA
TERESIA y
TARKOWSKI, ANDREJ

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 641 879 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

Uso de gelsolina para diagnosticar y tratar enfermedades inflamatorias.

Campo de la invención

La invención se refiere a usos diagnósticos y terapéuticos de la gelsolina.

5 Antecedentes de la invención

La inflamación es la respuesta del organismo a una lesión, infección o moléculas percibidas por el sistema inmune como extrañas. La inflamación se caracteriza por dolor, hinchazón y función alterada del tejido afectado. Si bien la capacidad de montar una respuesta inflamatoria es esencial para la supervivencia, la capacidad de controlar la inflamación es también necesaria para la salud. Las enfermedades inflamatorias se caracterizan por la activación del sistema inmune en un tejido u órgano hasta niveles anormales que pueden llevar al funcionamiento anormal y/o enfermedad en el tejido u órgano.

Las enfermedades inflamatorias son una causa importante de morbilidad en todo el mundo. Afectan a varios órganos y tejidos tales como los vasos sanguíneos, el corazón, cerebro, nervios, articulaciones, piel, pulmones, ojos, tubo digestivo, riñones, tiroides, glándulas suprarrenales, páncreas, hígado y músculo. Los tratamientos de las enfermedades inflamatorias han atraído mucho la atención de la industria farmacéutica. Un tema recurrente en los debates de las opciones de tratamiento de trastornos inflamatorios es la limitación del tratamiento de referencia. Los manejos y tratamientos están demostrando mejorías pero no curas. El planteamiento más común para tratar trastornos inflamatorios en la última década ha abordado la función proinflamatoria de las citocinas con los compuestos que se unen a estas moléculas o a sus receptores.

A pesar de los avances recientes, las terapias actuales para las enfermedades inflamatorias todavía suponen aliviar los síntomas y reducir la inflamación con fármacos no específicos, reducir el avance de la enfermedad con agentes modificadores de la enfermedad y mejorar la calidad de vida con modificaciones del estilo de vida, tolerando los efectos colaterales y la resistencia a los medicamentos. Se necesitan mejores opciones de tratamiento con menos potencial de efectos colaterales. Dado que el resultado del tratamiento depende de un diagnóstico correcto, es importante realizar pruebas correctas para diagnosticar las enfermedades inflamatorias y controlar el tratamiento de esas enfermedades. Un diagnóstico correcto permite al médico establecer una terapia correcta y oportuna. El control correcto del tratamiento permite al médico decidir el curso del tratamiento y aconsejar a los pacientes y sus familiares acerca del curso esperado de la enfermedad.

Por tanto, existe un fuerte incentivo para identificar nuevas y mejores pruebas y planteamientos para diagnosticar y para evaluar los tratamientos de las enfermedades inflamatorias.

La gelsolina, descubierta primero como una proteína de unión a actina intracelular implicada en la motilidad celular (Yin, H. L. & Stossel, T. P. (1979) Nature 281, 583-6), recientemente ha sido implicada en una serie de enfermedades. Si bien se desconoce la verdadera función de la gelsolina en el plasma, los estudios clínicos y animales han demostrado que la disminución de gelsolina en el plasma por lesión e inflamación se asocia con desenlaces adversos. El mecanismo propuesto de reducción de gelsolina es que se une a abundante actina en las células expuestas por la ruptura de los tejidos. Más recientemente, se descubrió que la gelsolina se une a mediadores inflamatorios bioactivos, ácido lisofosfatídico, fosfato de diadenosina, péptido AP (un péptido implicado en la patogenia de la enfermedad de Alzheimer), factor de activación de plaquetas y posiblemente otros.

Los documentos US 2006/0009386 y WO 2005/112970 se refieren al uso de gelsolina para tratar infecciones y para controlar el tratamiento de infecciones.

El documento WO 2005/046454 describe la administración de gelsolina a pacientes infectados con bacterias gramnegativas con el fin de controlar el choque séptico en un paciente, que resulta de endotoxinas desencadenadas por la liberación de moléculas de LPS provenientes de la infección bacteriana.

El documento WO 02/059604 describe métodos y composiciones para detectar, diagnosticar y pronosticar esclerosis múltiple (MS). La publicación hace referencia a un número de marcadores potenciales relacionados con la esclerosis múltiple, que están presentes de manera diferencial en una muestra de un sujeto que padece MS comparada con una muestra de otro sujeto que no padece MS. Uno de dichos marcadores se identifica como gelsolina.

El documento WO 2004/082617 describe marcadores biológicos para la artritis reumatoidea, y su uso para diagnosticar y tratar la artritis reumatoidea, o vigilar la progresión de la enfermedad. La Tabla 2 expone una lista de proteínas que disminuyen en sujetos que padecen artritis reumatoidea, en donde una de las proteínas, entre las muchas mencionadas, es la gelsolina.

El documento WO 03/088811 describe el uso de gelsolina como un marcador de pronóstico de enfermedades ateroscleróticas.

El documento US 6040147 describe métodos para caracterizar el perfil de riesgo de un individuo de desarrollar un trastorno cardiovascular futuro obteniendo un nivel del marcador de inflamación sistémica en el individuo, en particular una proteína C reactiva, una citocina o una molécula de adhesión celular.

Candiano et al. (2005); American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; Vol. 172, No. 9 sugiere que la gelsolina podría mejorar la fluidez del líquido superficial de las vías respiratorias en el asma, rompiendo la actina filamentosa que podría ser liberada en grandes cantidades por las células muertas durante la inflamación.

Rothenbach et al. (2004); Journal of Applied Physiology; Vol. 96; No. 1 describe un estudio que investiga la función de la gelsolina en el plasma en la patofisiología de la lesión pulmonar inducida por inflamación.

Aidinis et al. (2005) PLoS Genetics; Vol. 1; No. 4 identifica predisposiciones citoesqueléticas de los fibroblastos sinoviales promovidas por gelsolina como un nuevo determinante patofisiológico de artritis reumatoidea.

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a un método para caracterizar el perfil de riesgo de un sujeto aparentemente sano de padecer una enfermedad inflamatoria futura, que comprende comparar un nivel de gelsolina en un fluido corporal (por ejemplo sangre, plasma, suero, orina, líquido sinovial o fluido alveolar), o tejido (por ejemplo un tejido articular, gastrointestinal, tiroideo, adrenérgico, vascular, pulmonar, renal, cardíaco, dérmico, ocular, cerebral, pancreático, hepático, nervioso o muscular) obtenido del sujeto hasta un valor predeterminado (preferiblemente de aproximadamente 250 mg/l de plasma o menos), y caracterizar el perfil de riesgo del sujeto de experimentar una enfermedad inflamatoria en función del nivel de gelsolina en comparación con el nivel predeterminado, en donde un nivel de gelsolina en o debajo del nivel predeterminado es indicativo de que el sujeto presenta un riesgo elevado de padecer la enfermedad inflamatoria, y en donde un nivel de gelsolina en o encima del nivel predeterminado es indicativo de que el sujeto no presenta un riesgo elevado de padecer la enfermedad inflamatoria, en donde el sujeto no tiene ningún signo ni síntoma de una infección, septicemia ni trastorno relacionado con actina.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para caracterizar el perfil de riesgo de un sujeto preferiblemente aparentemente sano de presentar una enfermedad inflamatoria futura, que comprende comparar el nivel de la gelsolina en una muestra obtenida de un sujeto con un primer valor predeterminado (preferiblemente aproximadamente 250 mg/l de plasma o menos) para establecer un primer valor de riesgo, comparar el nivel de un segundo marcador de inflamación en una muestra obtenida de un sujeto con un segundo valor predeterminado para establecer un segundo valor de riesgo, y caracterizar el perfil de riesgo del sujeto de presentar la enfermedad inflamatoria en función de la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo, en donde la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo establece un tercer valor de riesgo distinto de dichos primero y segundo valores, en donde el sujeto no tiene ningún signo ni síntoma de infección, septicemia o trastorno relacionado con actina.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a gelsolina opcionalmente en combinación con un segundo agente, para uso en un método para tratar a un sujeto en riesgo de una enfermedad inflamatoria que se sabe que presenta un nivel de gelsolina debajo del normal; en una cantidad eficaz para reducir el riesgo del sujeto de padecer la enfermedad inflamatoria o en una cantidad eficaz para elevar el nivel de gelsolina en el sujeto por encima de un valor predeterminado.

La gelsolina (GSN), concretamente la gelsolina citoplásmica (cGSN), además de ser una proteína de unión a actina intracelular implicada en la motilidad celular, es también una proteína secretora abundante (Yin, H. L., Kwiatkowski, D. J., Mole, J. E. & Cole, F. S. (1984) J Biol Chem 259, 5271-6). La isoforma exportada de gelsolina, designada gelsolina plasmática (pGSN), tiene 25 aminoácidos adicionales y se origina en el empalme alternativo de un solo gen (Kwiatkowski, D. J., Stossel, T. P., Orkin, S. H., Mole, J. E., Cohen, H. R. & Yin, H. L. (1986) Nature 323, 455-8).

La presente invención se basa en el sorprendente descubrimiento de que los niveles de gelsolina en el plasma se reducen en muestras de sangre de sujetos humanos con una enfermedad inflamatoria: artritis reumatoidea (RA). Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que las reducciones de los niveles de gelsolina en el plasma reflejan la lesión primaria provocada en los tejidos articulares por el agente causante de artritis reumatoidea y preceden al dolor articular y a la destrucción por el proceso inflamatorio resultante. Estas observaciones ofrecen un fundamento para prevenir y/o suprimir con el tratamiento de gelsolina las manifestaciones de las enfermedades inflamatorias. Una correlación de estas observaciones es que el control de los niveles de gelsolina en el plasma podría convertirse en parte de la estrategia de control de la artritis reumatoidea.

Sin desear estar influenciados por ningún mecanismo o teoría particular, se cree que la gelsolina podría ejercer su efecto protector inhibiendo los mediadores de inflamación. Por lo tanto, la invención se refiere a métodos para usar

gelsolina para diagnosticar enfermedades inflamatorias y para controlar el efecto de la terapia. La invención también se refiere al uso de gelsolina para tratar la inflamación y las enfermedades inflamatorias.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se da a conocer un método para caracterizar el perfil de riesgo de un sujeto de presentar una enfermedad inflamatoria futura (p. ej., artritis reumatoidea en algunas realizaciones). El método comprende obtener un nivel de gelsolina en el sujeto y comparar el nivel de la gelsolina con un valor predeterminado. El perfil de riesgo del sujeto de presentar una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea) se caracteriza en función del nivel de gelsolina en comparación con el valor predeterminado. Un nivel de gelsolina en o debajo del nivel predeterminado es indicativo de que el sujeto conlleva un riesgo elevado de presentar la enfermedad inflamatoria y un nivel de gelsolina en o encima del nivel predeterminado es indicativo de que el sujeto no conlleva un riesgo elevado de presentar la enfermedad inflamatoria.

En algunas realizaciones, el método comprende además realizar una o más pruebas para evaluar la enfermedad inflamatoria. Evaluar una enfermedad inflamatoria puede implicar un nivel de un marcador de inflamación en el sujeto. Los ejemplos de marcadores de inflamación incluyen, aunque sin limitarse a ello, CRP, molécula de adhesión intercelular soluble (sICAM-1), ICAM 3, BL-CAM, LFA-2, VCAM-1, NCAM, PECAM, fibrinógeno, amiloide A en suero (SAA), fosfolipasa asociada a lipoproteínas A2 (LpPIA2), ligando sCD40 (sCD4OL), mieloperoxidasa, Interleucina 6 (IL-6) o Interleucina 8 (IL-8).

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se da a conocer un método para caracterizar el perfil de riesgo de un sujeto de padecer una enfermedad inflamatoria futura (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El método comprende obtener un nivel de gelsolina en el sujeto y comparar el nivel de la gelsolina con un primer valor predeterminado para establecer un primer valor de riesgo. Se obtiene el nivel de un segundo marcador de inflamación en el sujeto y el nivel del segundo marcador de inflamación se compara con un segundo valor predeterminado para establecer un segundo valor de riesgo. El perfil de riesgo del sujeto de padecer la enfermedad inflamatoria se caracteriza en función de la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo, en donde la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo establece un tercer valor de riesgo diferente de dichos primero y segundo valores de riesgo.

En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto aparentemente sano.

En algunas realizaciones, el primer valor predeterminado puede ser una pluralidad de intervalos del nivel de gelsolina predeterminado, una pluralidad de intervalos que estén debajo de aproximadamente 250 mg/l de plasma y otro de dichos intervalos que esté encima de aproximadamente 250 mg/l de plasma, y la etapa comparativa comprende determinar en cuál de dicha pluralidad de intervalos de niveles de gelsolina predeterminados recae el nivel de gelsolina de dicho sujeto.

De acuerdo con otro aspecto de la presente descripción, se da a conocer un método para tratar a un sujeto que padece o presenta riesgo de padecer una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El método comprende administrar una cantidad eficaz de gelsolina al sujeto que necesita dicho tratamiento para tratar al sujeto.

De acuerdo con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para tratar a un sujeto que padece o presenta riesgo de padecer una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El método comprende administrar una cantidad eficaz de gelsolina al sujeto que necesita dicho tratamiento para elevar el nivel de gelsolina en el sujeto por encima de un valor predeterminado.

En algunas realizaciones, el sujeto está de otro modo libre de indicaciones que requieran tratamiento con gelsolina. La gelsolina preferiblemente se administra por vía oral, sublingual, bucal, intranasal, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraperitoneal, subcutánea o tópica. La gelsolina se puede administrar en forma profiláctica.

En algunas realizaciones, los métodos de tratamiento además comprenden administrar un segundo agente para tratar la enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). Los ejemplos de agentes para tratar la enfermedad inflamatoria incluyen, entre otros, Alclofenac, Alclometasona Dipropionato, Algestona Acetonido, Alfa Amilasa, Amcinafal, Amcinafide, Amfenac Sódico, Hidrocloruro de Amiprilosa, Anakinra, Aniolac, Anitrazafen, Apazona, Balsalazide Disódico, Bendazac, Benoxaprofeno, Hidrocloruro de Bencidamina, Bromelains, Broperamole, Budesónida, Carprofeno, Cicloprofeno, Cintazona, Cliprofeno, Propionato de Clobetasol, Butirato de Clobetasol, Clopirac, Propionato de Cloticasol, Acetato de Cormetasol, Cortodoxona, inhibidor de Ciclooxygenasa-2 (COX-2), Deflazacort, Desonida, Desoximetasona, Dipropionato de Dexametasona, Diclofenac Potásico, Diclofenac Sódico, Diacetato de Diflorasona, Diflumidona Sódica, Diflunisal, Difluprednato, Diftalona, Dimetil Sulfóxido, Drocinnonida, Endrisona, Enlimomab, Enolicam Sódico, Epirizol, Etodolac, Etofenamato, Felbinac, Fenamol, Fenbufen, Fenclofenac, Fenclorac, Fendosal, Fempipalone, Fentiazac, Flazalone, Fluazacort, Ácido Flufenámico, Flumizol, Acetato de Flunisolido, Flunixin, Flunixin Meglurnina, Fluocortin Butilo, Acetato de Fluorometolona, Fluquazona, Flurbiprofen, Fluretofen, Propionato de Fluticasol, Furaprofeno, Furobufeno, Halcinnonida, Propionato de Halobetasol, Acetato de Halopredona, Ibufenac, Ibuprofeno, Ibuprofeno Aluminio, Ibuprofeno Piconol, Ilonidap, Indometacina, Indometacina Sódica, Indoprofeno, Indoxol, Intrazol, Acetato de

Isoflupredona, Isoxepac, Isoxicam, Cetoprofeno, Hidrocloruro de Lofemizol, Lornoxicam, Etabonato de Loteprednol, Meclofenamato Sódico, Ácido Meclofenámico, Dibutirato de Meclorisona, Ácido Mefenámico, Mesalarnina, Meseclazona, Metilprednisolona Suleptanato, Morniflumato, Nabumetona, Naproxeno, Naproxeno Sódico, Naproxol, Nimazona, Olsalazina Sódica, Orgoteína, Orpanoxin, Oxaprozin, Oxifenbutazona, Hidrocloruro de Paranilina, Pentosan Polisulfato Sódico, Fenbutazona Sódico Glicerato, Piroxicam, Piroxicam Cinamato, Piroxicam Olamina, Piroprofen, Prednazato, Prifelona, Ácido Prodrólido, Proquazona, Proxazol, Citrato de Proxazol, Rimexolona, Romazarit, Salcolex, Salnacedin, Salsalato, Cloruro de Sanguinarium, Seclazona, Sermetacin, Sudoxicam, Sulindac, Suprofen, Talmetacin, Talniflumato, Talosalato, Tebufelona, Tenidap, Tenidap Sódico, Tenoxicam, Tesicam, Tesimide, Tetridamina, Tiopinac, Pivalato de Tixocortol, Tolmetina, Tolmetina Sódica, Triclonide, Triflumidato, Zidometacina o Zomepirac Sódico.

Los agentes antiinflamatorios también incluyen inhibidores de Ciclooxigenasa-2 (COX-2). La Ciclooxigenasa es un complejo enzimático presente en la mayoría de los tejidos que produce varias prostaglandinas y tromboxanos a partir de ácido araquidónico. Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos ejercen la mayoría de su actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética e inhiben las contracciones uterinas inducidas por las hormonas y el desarrollo de ciertos tipos de cáncer a través de la inhibición de la ciclooxigenasa (también conocida como prostaglandina G/H sintasa y/o prostaglandina-endoperoxido sintasa). Inicialmente, se conocía solamente una forma de ciclooxigenasa: la "enzima constitutiva" o ciclooxigenasa-1 (COX-1). Se identificó originalmente en vesículas seminales bovinas.

La ciclooxigenasa-2 (COX-2) se ha clonado, secuenciado y caracterizado inicialmente a partir de fuentes aviares, murinas y humanas (véase, p. ej., la patente de EE. UU. 5.543.297, emitida el 6 de agosto de 1996 para Cromlish, et al., y cedida a Merck Frosst Canada, Inc., Kirkland, CA, titulada: "Human cyclooxygenase-2 cDNA and assays for evaluating cyclooxygenase-2 activity"). Esta enzima es distinta de las COX-1. COX-2, es rápida y fácilmente inducible por un número de agentes que incluyen mitógenos, endotoxina, hormonas, citocinas y factores de crecimiento. Como las prostaglandinas tienen funciones tanto fisiológicas como patológicas, se cree que la enzima constitutiva, COX-1, es responsable, en gran parte, de la liberación endógena basal de prostaglandinas y en consecuencia es importante en sus funciones fisiológicas tales como el mantenimiento de la integridad gastrointestinal y el torrente circulatorio renal. En contraste, se cree que la forma inducible, COX-2, es principalmente responsable de los efectos patológicos de las prostaglandinas en donde la inducción rápida de la enzima ocurriría en respuesta a dichos agentes como agentes inflamatorios, hormonas, factores de crecimiento y citocinas. Por lo tanto, se cree que un inhibidor selectivo de COX-2 tiene propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas similares a un fármaco antiinflamatorio no esteroideo convencional, y además inhibe las contracciones uterinas inducidas por hormonas y tiene efectos anticancerosos potenciales, pero con efectos colaterales reducidos. En particular, se cree que dichos inhibidores de COX-2 tienen un menor potencial de toxicidad gastrointestinal, un menor potencial de efectos colaterales renales, un menor efecto de tiempos de sangrado y posiblemente un menor potencial de inducir ataques de asma en sujetos asmáticos sensibles a la aspirina, y por lo tanto son útiles de acuerdo con la presente invención.

Se conocen en la técnica un número de inhibidores de COX-2 selectivos. Los ejemplos de inhibidores de COX-2 selectivos incluyen, por ejemplo, celecoxib (Celebrex®), valdecoxib (Bextra®) y rofecoxib (Vioxx®). Los inhibidores de COX-2 selectivos también incluyen, entre otros, los inhibidores de COX-2 descritos en la patente de EE. UU. 5.474.995 "Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors"; la patente de EE. UU. 5.521.213 "Diaryl bicyclic heterocycles as inhibitors of cyclooxygenase-2"; la patente de EE. UU. 5.536.752 "Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors"; la patente de EE. UU. 5.550.142 "Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors"; la patente de EE. UU. 5.552.422 "Aryl substituted 5,5 fused aromatic nitrogen compounds as anti-inflammatory agents"; patente de EE. UU. 5.604.253 "N-benzylindol-3-yl propanoic acid derivatives as cyclooxygenase inhibitors"; patente de EE. UU. 5.604.260 "5-methanesulfonamido-1-indanones as an inhibitor of cyclooxygenase-2"; patente de EE. UU. 5.639.780 N-benzyl indol-3-yl butanoic acid derivatives as cyclooxygenase inhibitors"; patente de EE. UU. 5.677.318 Diphenyl-1,2,3-thiadiazoles as anti-inflammatory agents"; patente de EE. UU. 5.691.374 "Diaryl-5-oxygenated-2-(5H)-furanones as COX-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.698.584 "3,4-diaryl-2-hydroxy-2,5-dihydrofurans as prodrugs to COX-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.710.140 "Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.733.909 "Diphenyl stilbenes as prodrugs to COX-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.789.413 "Alkylated styrenes as prodrugs to COX-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.817.700 "Bisaryl cyclobutenes derivatives as cyclooxygenase inhibitors"; patente de EE. UU. 5.849.943 "Stilbene derivatives useful as cyclooxygenase-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.861.419 "Substituted pyridines as selective cyclooxygenase-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.922.742 "Pyridiny-1-2-cyclopenten-1-ones as selective cyclooxygenase-2 inhibitors"; patente de EE. UU. 5.925.631 "Alkylated styrenes as prodrugs to COX-2 inhibitors"; todas comúnmente cedidas a Merck Frosst Canada, Inc. (Kirkland, CA). Los inhibidores de COX-2 adicionales también se describen en la patente de EE. UU. 5.643.933, cedida a G. D. Searle & Co. (Skokie, IL), titulada: "Substituted sulfonylphenylheterocycles as cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase inhibitors".

Un número de los inhibidores de COX-2 anteriormente identificados son profármacos de inhibidores de COX-2 selectivos, y ejercen su acción por conversión *in vivo* a los inhibidores de COX-2 activos y selectivos. Los inhibidores de COX-2 activos y selectivos formados a partir de los profármacos del inhibidor de COX-2 anteriormente

mencionados se describen en detalle en el documento WO 95/00501, publicado el 5 de enero de 1995, el documento WO 95/18799, publicado el 13 de julio de 1995 y la patente de EE. UU. 5.474.995, emitida el 12 de diciembre de 1995. Dadas las descripciones de la patente de EE. UU. 5.543.297, titulada: "Human cyclooxygenase-2 cDNA and assays for evaluating cyclooxygenase-2 activity," una persona con experiencia ordinaria en la técnica sería capaz de determinar si un agente es un inhibidor de COX-2 selectivo o un precursor de un inhibidor de COX-2, y por lo tanto parte de la presente invención.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar un segundo agente para tratar la artritis reumatoidea. Los ejemplos de agentes para tratar la artritis reumatoidea incluyen, entre otros, hidroxicloroquina (Plaquenil), (Aralen), metotrexato, sulfasalazina (Azulfidine), Lefthomide (Arava), azatioprina (Imuran), penicilamina (Cuprimine o Depen), sales de oro (Ridaura o Aurolate), minociclina (Dynacin o Minocin), ciclosporina (Neoral o Sandimmune) ciclofosfamida (Cytosan o Neosar), Etanercept (Enbrel), Infliximab (Remicade), Ahakinra (Kineret) o Adalimumab (Humira).

De acuerdo con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para tratar a un sujeto para reducir el riesgo de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El método comprende seleccionar a un sujeto en función de que se sepa que el sujeto tiene un nivel de gelsolina debajo del normal y administrar al sujeto una cantidad eficaz de gelsolina y/o un segundo agente para reducir el riesgo de que el sujeto presente la enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas).

De acuerdo con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para tratar a un sujeto para reducir el riesgo de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El método comprende seleccionar a un sujeto en función de que se sepa que presenta un nivel de gelsolina debajo del normal y administrar una cantidad eficaz de gelsolina y/o un segundo agente al sujeto para elevar el nivel de gelsolina en el sujeto por encima de un valor predeterminado.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un segundo agente para tratar la enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). Los ejemplos de agentes para tratar la enfermedad inflamatoria se mencionaron anteriormente.

De acuerdo incluso con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para tratar a un sujeto con un nivel de gelsolina debajo del normal. El método comprende tratar al sujeto con una primera terapia para tratar o reducir el riesgo de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). Se obtiene un nivel de gelsolina en el sujeto. El nivel de gelsolina se compara con un valor predeterminado correspondiente a un nivel de gelsolina predeterminado (p. ej., en una población de control aparentemente sana). Si no se alcanza el nivel de gelsolina predeterminado, el sujeto se trata con un segundo agente para tratar o reducir el riesgo de la enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas) hasta alcanzar el nivel de gelsolina predeterminado.

Un "nivel de gelsolina debajo del normal" es un nivel de gelsolina que es por lo menos 10% menos que el nivel medio medido para una población determinada de sujetos. El nivel de gelsolina medio puede depender de la población de sujetos particular. Por ejemplo, una población aparentemente sana suele tener un intervalo "normal" de gelsolina distinto que una población de sujetos que ha experimentado una afección previa. En algunas realizaciones, el nivel de gelsolina es por lo menos 10% menos que el nivel medio medido para una población determinada de sujetos. En otras realizaciones, el nivel de gelsolina es por lo menos 20% menos que el nivel medio medido para una población determinada de sujetos. Incluso en otras realizaciones, el nivel de gelsolina es por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% o 100% menos que el nivel medio medido para una población determinada de sujetos. En una de las realizaciones, el nivel de gelsolina está debajo de aproximadamente 250 mg/l de plasma. En otras realizaciones importantes, el nivel de gelsolina es inferior a aproximadamente 2,4 $\mu\text{m/l}$ (micromoles/litro) de plasma.

En algunas realizaciones, el sujeto está de otro modo libre de indicaciones que requieran tratamiento con el agente. Cuando el agente es gelsolina, un sujeto libre de indicaciones que requieran tratamiento con gelsolina es un sujeto que no presenta signos ni síntomas que requieran tratamiento con gelsolina. La gelsolina se indica para el tratamiento de septicemia e infecciones. La gelsolina también se indica para el tratamiento de trastornos relacionados con actina como síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), necrosis hepática fulminante, insuficiencia renal aguda, lesión muscular, trastornos caracterizados por niveles elevados de BUN y/o creatinina. Los expertos en la técnica conocen los trastornos relacionados con actina.

En otras realizaciones, el sujeto es aparentemente sano. Tal como se emplea en este documento, un "sujeto aparentemente sano" es un sujeto que no presenta signos ni síntomas de una enfermedad.

De acuerdo con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para evaluar la eficacia de una terapia para tratar o reducir el riesgo de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas) en un sujeto. El método comprende obtener un nivel de gelsolina en un sujeto que se somete a terapia con un agente para tratar o reducir el riesgo enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones

preferidas). El nivel de gelsolina obtenido se compara con un valor predeterminado correspondiente a un nivel de gelsolina (p. ej., en una población control aparentemente sana). Una determinación de si el nivel de gelsolina está por encima del nivel predeterminado es indicativa de si la terapia es eficaz.

- 5 En algunas realizaciones, obtener un nivel de gelsolina se repite como para controlar el nivel de gelsolina en el sujeto con el transcurso del tiempo.

La terapia puede ser con gelsolina, Alclofenac, Alclometasona Dipropionato, Algestona Acetónido, Alfa Amilasa, Amcinafal, Amcinafide, Amfenac Sódico, Hidrocloruro de Amiprilosa, Anakinra, Anirolac, Anitrazafen, Apazona, Balsalazide Disódico, Bendazac, Benoxaprofeno, Hidrocloruro de Bencidamina, Bromelains, Broperamole, Budesónida, Carprofeno, Cicloprofeno, Cintazona, Cliprofeno, Propionato de Clobetasol, Butirato de Clobetasona, Clopirac, Propionato de Cloticasona, Acetato de Cormetasona, Cortodoxona, inhibidor de Ciclooxygenasa-2 (COX-2), Deflazacort, Desonida, Desoximetasona, Dipropionato de Dexametasona, Diclofenac Potásico, Diclofenac Sódico, Diacetato de Diflorasona, Diflumidona Sódica, Diflunisal, Difluprednato, Diftalona, Dimetil Sulfóxido, Drocinnona, Endrisona, Enlimomab, Enolicam Sódico, Epirizol, Etodolac, Etofenamato, Felbinac, Fenamol, Fenbufen, Fenclofenac, Fenclorac, Fendosal, Fempipalona, Fentiazac, Flazalone, Fluazacort, Ácido Flufenámico, Flumizol, Acetato de Flunisolida, Flunixin, Flunixin Meglumina, Fluocortin Butilo, Acetato de Fluorometolona, Fluquazona, Flurbiprofen, Fluretofen, Propionato de Fluticasona, Furaprofeno, Furobufeno, Halcinonida, Propionato de Halobetasol, Acetato de Halopredona, Ibufenac, Ibuprofeno, Ibuprofeno Aluminio, Ibuprofeno Piconol, Ilonidap, Indometacina, Indometacina Sódica, Indoprofeno, Indoxol, Intrazol, Acetato de Isoflupredona, Isoxepac, Isoxicam, Cetoprofeno, Hidrocloruro de Lofemizol, Lornoxicam, Etabonato de Loteprednol, Meclofenamato Sódico, Ácido Meclofenámico, Dibutirato de Meclorisona, Ácido Mefenámico, Mesalamina, Meseclazona, Metilprednisolona Suleptanato, Morniflumato, Nabumetona, Naproxeno, Naproxeno Sódico, Naproxol, Nimazona, Olsalazina Sódica, Orgoteína, Orpanoxin, Oxaprozin, Oxifenbutazona, Hidrocloruro de Paranilina, Pentosan Polisulfato Sódico, Fenbutazona Sódica Glicerato, Pírfenidona, Piroxicam, Piroxicam Cinamato, Piroxicam Olamina, Pirprofen, Prednazato, Prifelona, Ácido Prodróico, Proquazona, Proxazol, Citrato de Proxazol, Rimexolona, Romazarit, Salcolex, Salmecedin, Salsalato, Cloruro de Sanguinarium, Seclazona, Sermetacin, Sudoxicam, Sulindac, Suprofen, Talmetacin, Talniflumato, Talosalato, Tebufelona, Tenidap, Tenidap Sódico, Tenoxicam, Tesicam, Tesimide, Tetridamina, Tiopinac, Pivalato de Tixocortol, Tolmetina, Tolmetina Sódica, Triclonide, Triflumidato, Zidometacina, Zomepirac Sódico, hidroxicloquina (Plaquenil), cloroquina (Aralen), metotrexato, sulfasalazina (Azulfidine), Leflunomida (Arava), azatioprina (Imuran), penicilamina (Cuprimine o Depen), sales de oro (Ridaura o Aurolate), minociclina (Dynacin o Minocin), ciclosporina (Neoral o Sandimmune) ciclofosfamida (Cytosan o Neosar), Etanercept (Enbrel), Infliximab (Remicade), Anakinra (Kineret) o Adalimumab (Humira).

De acuerdo con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para decidir el curso de una terapia en un sujeto. El método comprende obtener un nivel de gelsolina en un sujeto que se somete a una terapia para tratar o reducir el riesgo de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El nivel de gelsolina se compara con un valor predeterminado correspondiente a un nivel de gelsolina (p. ej., en una población control aparentemente sana). Se determina si el nivel de gelsolina obtenido está en o encima o en o debajo del nivel predeterminado y el curso de la terapia se decide en función de dicha determinación. En algunas realizaciones, obtener un nivel de gelsolina se repite como para controlar el nivel de gelsolina en el sujeto con el transcurso del tiempo.

- 40 Las siguientes realizaciones se aplican a los diversos aspectos de la invención expuestos a menos que se indique algo distinto.

La enfermedad inflamatoria puede ser artritis, artritis reumatoidea, asma, enfermedad inflamatoria de los intestinos (enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), rinitis alérgica, vasculitis (poliarteritis nodosa, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu o síndrome de Behcet), neuropatía inflamatoria, psoriasis, lupus eritematoso sistémico (SLE), tiroiditis crónica, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, polimialgia reumática, síndrome de Sjogren o síndrome de Churg-Strauss. En algunas realizaciones importantes, la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoidea.

El nivel de gelsolina puede estar en un fluido corporal del sujeto. Los ejemplos de fluidos corporales incluyen, entre otros, sangre, plasma, suero, orina, líquido sinovial o fluido alveolar.

- 50 El nivel de gelsolina puede estar en un tejido corporal del sujeto. El tejido corporal puede ser un tejido articular, gastrointestinal, tiroideo, adrenérgico, vascular, pulmonar, renal, cardíaco, dérmico, ocular, cerebral pancreático, hepático, nervioso o muscular. En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto aparentemente sano.

En algunas realizaciones, el valor predeterminado es 250 mg/l de plasma o inferior. En algunas realizaciones, el valor predeterminado de gelsolina es aproximadamente 240 mg/l, 230 mg/l, 220 mg/l, 210 mg/l, 200 mg/l, 190 mg/l, 180 mg/l, 170 mg/l, 160 mg/l, 150 mg/l, 140 mg/l, 130 mg/l, 120 mg/l, 110 mg/l, 100 mg/l, 90 mg/l, 80 mg/l, 70 mg/l, 60 mg/l, 50 mg/l, 40 mg/l, 30 mg/l, 20 mg/l o 10 mg/l de plasma o inferior.

En algunas otras realizaciones, el valor predeterminado es 2,4 $\mu\text{m/l}$ de plasma o menos. En algunas realizaciones, el valor predeterminado de gelsolina es aproximadamente 2,3 $\mu\text{m/l}$, 2,2 $\mu\text{m/l}$, 2,1 $\mu\text{m/l}$, 2,0 $\mu\text{m/l}$, 1,9 $\mu\text{m/l}$, 1,8 $\mu\text{m/l}$, 1,7 $\mu\text{m/l}$, 1,6 $\mu\text{m/l}$, 1,5 $\mu\text{m/l}$, 1,4 $\mu\text{m/l}$, 1,3 $\mu\text{m/l}$, 1,2 $\mu\text{m/l}$, 1,1 $\mu\text{m/l}$, 1,0 $\mu\text{m/l}$, 0,9 $\mu\text{m/l}$, 0,8 $\mu\text{m/l}$, 0,7 $\mu\text{m/l}$, 0,6 $\mu\text{m/l}$, 0,5 $\mu\text{m/l}$, 0,4 $\mu\text{m/l}$, 0,3 $\mu\text{m/l}$, 0,2 $\mu\text{m/l}$ de plasma o menos.

- 5 Cada una de las limitaciones de la invención puede abarcar diversas realizaciones de la invención. Se anticipa, por lo tanto, que cada una de las limitaciones de la invención que implica cualquier elemento o combinación de elementos se puede incluir en cada aspecto de la invención. La invención es capaz de otras realizaciones y de practicarse o llevarse a cabo en diversas formas. También, la fraseología y la terminología empleadas en este documento tienen como propósito describir y no deben considerarse como limitativas. El uso de "que incluye", "que comprende" o "que tiene", "que contiene", "que abarca" y sus variaciones en este documento, tiene como fin abarcar los puntos mencionados en lo sucesivo y sus equivalentes, además de puntos adicionales.

Estos y otros aspectos de la invención, además de las diversas ventajas y utilidades, serán obvios con referencia a la Descripción detallada de la invención. Como se entenderá, cada aspecto de la invención puede abarcar distintas realizaciones.

15 Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es un histograma que muestra que la concentración de gelsolina en el plasma (pGSN) disminuye en pacientes con artritis reumatoidea (RA) en comparación con controles sanos y con menos líquido sinovial que en la sangre de pacientes con RA.

- 20 La FIG. 2 es un inmunoensayo con un anticuerpo específico para la isoforma plasmática de gelsolina que muestra que la gelsolina presente en el líquido sinovial (SF) de pacientes con RA está compuesta principalmente por la isoforma plasmática.

- 25 La FIG. 3 es un conjunto de histogramas que muestra que la concentración de gelsolina en el plasma (pGSN) disminuye en modelos de ratón de artritis séptica: A) artritis inducida por *Staphylococcus aureus* (S. aureus), B) septicemia inducida por *Staphylococcus aureus* (S. aureus) y C) artritis séptica inducida por *Streptococcus agalactiae* (Str. agalactiae). La disminución ocurrió en el punto de tiempo primero ensayado (dos días después de la inoculación).

Se ha de entender que los dibujos no son necesarios para hacer posible la invención.

Descripción detallada de la invención

- 30 La presente invención se basa en el sorprendente descubrimiento de que los niveles de gelsolina en el plasma disminuyen en muestras de sangre de sujetos humanos con una enfermedad inflamatoria: artritis reumatoidea (RA). Se plantea que los niveles de gelsolina en el plasma se reducen en respuesta a la lesión inicial (desconocida) provocada por el agente causante de RA. Por lo tanto, el reemplazo de gelsolina periférica puede mitigar la lesión secundaria mediada por diversas células inflamatorias. Se cree que el patrón de la reducción de gelsolina para pronosticar la enfermedad y el uso de gelsolina para tratar la enfermedad son ciertos en enfermedades inflamatorias en general.

La presente descripción abarca, en algunos aspectos, administrar gelsolina a un sujeto para tratar una enfermedad inflamatoria en el sujeto. El término "tratar" o "tratamiento" tiene como fin incluir la profilaxis, la mejoría, la prevención o la cura de la enfermedad.

- 40 Tal como se emplea en la presente memoria, el término "sujeto" significa cualquier mamífero que puede necesitar tratamiento. Los sujetos incluyen, entre otros: seres humanos, primates no humanos, gatos, perros, ovejas, cerdos, caballos, vacas, roedores como ratones, hámsteres y ratas. Los sujetos preferidos son sujetos humanos.

Tal como se emplea en la presente memoria, el término "gelsolina" abarca gelsolina de tipo salvaje (núm. de acceso en GenBank X04412), isoformas, análogos, variantes, fragmentos o derivados funcionales de gelsolina.

- 45 La gelsolina (GSN), a diferencia de otras proteínas mamíferas, tiene isoformas citoplásmicas (cGSN) y segregadas o exportadas, también denominadas gelsolina plasmática (pGSN), que derivan del empalme alternativo del mensaje de un solo gen (Sun et al. J. Biol. Chem. 274:33179-33182 (1999)). Tal como se emplean en la presente memoria, las isoformas de gelsolina incluyen versiones de gelsolina con algunas pequeñas diferencias en sus secuencias de aminoácidos, usualmente una variante de empalme o el resultado de alguna modificación post-traducción.

- 50 La gelsolina abarca gelsolina nativa así como también gelsolina sintética y recombinante, y análogos de gelsolina. La gelsolina es una proteína secretora abundante (Yin, H. L., Kwiatkowski, D. J., Mole, J. E. & Cole, F. S. (1984) J Biol Chem 259, 5271-6). La isoforma exportada de gelsolina, pGSN, posee 25 aminoácidos adicionales y se origina de un empalme alternativo de un solo gen (Kwiatkowski, D. J., Stossel, T. P., Orkin, S. H., Mole, J. E., Colten, H. R.

& Yin, H. L. (1986) Nature 323, 455-8). La gelsolina humana recombinante (rhGSN) (Biogen IDEC, Inc., Cambridge, MA) se produce en *E. coli*, y aunque tiene la misma estructura primaria que la proteína nativa, bajo condiciones convencionales de purificación, difiere de la gelsolina plasmática humana natural por un enlace disulfuro presente en la proteína natural. La proteína recombinante es, por lo tanto, correctamente oxidada después de la purificación, y su estructura y funciones no son distinguibles de la gelsolina plasmática humana (Wen et. al, Biochemistry 35:9700-9709 (1996)). En algunos de los aspectos terapéuticos y realizaciones importantes de la descripción, se prefiere el uso de rhGSN. En algunos de los aspectos y realizaciones diagnósticos importantes de la descripción, se prefiere el uso de pGSN.

Un "análogo de gelsolina" hace referencia a un compuesto prácticamente similar en función o bien a la gelsolina nativa o a un fragmento de esta. Los análogos de gelsolina incluyen secuencias de aminoácidos biológicamente activos prácticamente similares a las secuencias de gelsolina y pueden tener secuencias sustituidas, eliminadas, extendidas, reemplazadas o de lo contrario modificadas que poseen bioactividad sustancialmente similar a aquella de la gelsolina. Por ejemplo, un análogo de gelsolina es uno que no tiene la misma secuencia de aminoácidos que la gelsolina, pero que es suficientemente homólogo a la gelsolina como para retener la bioactividad de la gelsolina. La bioactividad se puede determinar, por ejemplo, determinando las propiedades del análogo de gelsolina y/o determinando la capacidad del análogo de gelsolina de tratar o prevenir la artritis reumatoidea. Un ejemplo de un ensayo de bioactividad de gelsolina es la capacidad de la gelsolina de estimular la nucleación de actina. Los ensayos de bioactividad de la gelsolina se describen en el Ejemplo y los conocen los expertos en la técnica.

Un "fragmento" tiene como fin incluir cualquier porción de una molécula de gelsolina que provee un segmento de gelsolina que mantiene la bioactividad de la gelsolina, en donde el término está destinado a incluir fragmentos de gelsolina hechos a partir de cualquier fuente, tal como, por ejemplo, secuencias de péptidos naturales, secuencias de péptidos sintéticos o químicamente sintetizados y secuencias de péptidos genéticamente modificadas.

Una "variante" de gelsolina hace referencia a un compuesto sustancialmente similar en estructura y bioactividad o bien a la gelsolina nativa o a un fragmento de esta. El término variante abarca proteínas de la familia de gelsolina. Las proteínas de la familia de gelsolina consisten en un grupo de proteínas de unión a actina que comparten repeticiones de dominios homólogos de aproximadamente 15kDa que adoptan un pliegue similar. Los ejemplos de proteínas de la familia de gelsolina incluyen, entre otros, advilina, vilina, capG, proteínas flightless, fragmina, severina, adseverina, protovilina y supervilina.

Un "derivado funcional" de gelsolina es un derivado que posee una bioactividad que es sustancialmente similar a la bioactividad de la gelsolina. Por "sustancialmente similar" se entiende una actividad que es cuantitativamente diferente pero cualitativamente igual. Por ejemplo, un derivado funcional de gelsolina podría contener el mismo esqueleto de aminoácidos que la gelsolina pero también contiene otras modificaciones tales como modificaciones post-traducción como por ejemplo fosfolípidos ligados o carbohidrato covalentemente unido, dependiendo de la necesidad de dichas modificaciones para el desempeño del ensayo diagnóstico o el tratamiento terapéutico. Tal como se emplea en este documento, el término también está destinado a incluir un derivado químico de gelsolina. Dichos derivados pueden mejorar la solubilidad, la absorción, la semivida biológica, etc. de la gelsolina. Los derivados pueden también reducir la toxicidad de la gelsolina, o eliminar o atenuar cualquier efecto colateral indeseable de la gelsolina, etc. Los restos químicos capaces de mediar dichos efectos se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences (1980). Los procedimientos para acoplar dichos restos a una molécula tal como gelsolina se conocen en la técnica. La expresión "derivado funcional" pretende incluir los "fragmentos", "variantes", "análogos" o "derivados químicos" de la gelsolina.

La descripción abarca en algunos aspectos, métodos para tratar una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas) en un sujeto. Se sabe que el sujeto presenta, o se sospecha que presenta, o conlleva riesgo de presentar, la enfermedad inflamatoria. La gelsolina se administra en una cantidad eficaz para tratar la enfermedad inflamatoria en el sujeto.

Una respuesta a un método de tratamiento de la descripción puede, por ejemplo, medirse determinando los efectos fisiológicos del tratamiento, tal como la disminución o la ausencia de síntomas después de la administración del tratamiento.

En otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para controlar la terapia en un sujeto. El método implica obtener un nivel de gelsolina en un sujeto que se somete a terapia para tratar una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El nivel de gelsolina se compara con un valor predeterminado correspondiente a un nivel control de gelsolina (p. ej., en una población aparentemente sana). Una determinación de si el nivel de gelsolina está en o debajo de un nivel predeterminado es indicativa de si el sujeto se beneficiaría con la continuación de la misma terapia o se beneficiaría con un cambio de terapia. En algunas realizaciones, obtener un nivel de gelsolina se repite como para supervisar los niveles de gelsolina del sujeto con el transcurso del tiempo. En algunas realizaciones, el sujeto puede haberse sometido a la terapia durante por lo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 semanas o más. En algunas realizaciones, el sujeto puede haberse sometido a la terapia durante por lo menos 3, 4, 5, 6 meses o más.

Un cambio en la terapia con gelsolina hace referencia a un incremento en la dosis de la gelsolina, un cambio de una gelsolina a otra gelsolina, un cambio de gelsolina a otro agente, la adición de otro agente al esquema terapéutico de gelsolina o una de sus combinaciones.

De acuerdo con otro aspecto de la descripción, se da a conocer un método para evaluar la eficacia de una terapia para tratar o reducir el riesgo de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). El método implica obtener un nivel de gelsolina en un sujeto que se somete a una terapia para tratar la enfermedad inflamatoria. El nivel de gelsolina se compara con un valor predeterminado correspondiente a un nivel de control de gelsolina (p. ej., en una población aparentemente sana). Una determinación de que el nivel de gelsolina está en o encima de un nivel predeterminado es indicativa de que la terapia es eficaz. En algunas realizaciones, el sujeto puede haberse sometido a la terapia durante por lo menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 semanas o más. En algunas realizaciones, el sujeto puede haberse sometido a la terapia durante por lo menos 3, 4, 5, 6 meses o más.

Un aspecto de la descripción se refiere a la medición de gelsolina para orientar tratamientos con el fin de mejorar el desenlace en los sujetos. Los niveles durante la terapia de gelsolina tienen un valor predictivo para respuesta a tratamientos de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). Los niveles de gelsolina durante la terapia son aditivos de indicadores del desenlace de la enfermedad en la técnica anterior.

Los sujetos que se beneficiarían con este aspecto de la presente descripción son sujetos que se someten a la terapia para tratar o prevenir una enfermedad inflamatoria tal como por ejemplo artritis reumatoidea (es decir, un sujeto "en terapia"). Un sujeto en terapia es un sujeto que ya ha sido diagnosticado y que está en el curso de un tratamiento con una terapia para tratar una enfermedad inflamatoria tal como artritis reumatoidea. La terapia puede consistir en cualquiera de los agentes terapéuticos a los que se hace referencia en este documento. La terapia también puede consistir en tratamientos que no sean con fármacos. En realizaciones importantes, la terapia es una que incrementa los niveles de gelsolina. En una realización particularmente importante, la terapia es una terapia con gelsolina. Los sujetos preferidos son sujetos humanos. El sujeto que más probablemente se beneficiaría con esta descripción es un sujeto humano que está en terapia y que tiene un nivel de gelsolina en o debajo de aproximadamente 250 mg/l (o 2,4 µm/l) de plasma.

En algunas realizaciones, el sujeto ya padece la enfermedad. En algunas realizaciones, el sujeto puede conllevar riesgo elevado de padecer la enfermedad.

Los expertos en la técnica conocen los factores de riesgo de enfermedades. Por ejemplo, los factores de riesgo de artritis reumatoidea incluyen la edad (entre 25 y 45 años), el sexo femenino, la etnia caucásica o indio americana, obesidad y un antecedente familiar positivo. El grado de riesgo de artritis reumatoidea depende de la multitud y gravedad o de la magnitud de los factores de riesgo que presente el sujeto. Los cuadros de riesgo y algoritmos de predicción están disponibles para evaluar el riesgo de enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoidea en un sujeto en base a la presencia y gravedad de los factores de riesgo. En algunas realizaciones, el sujeto que presenta riesgo elevado de padecer la enfermedad inflamatoria puede ser un sujeto aparentemente sano. Un sujeto aparentemente sano es un sujeto que no presenta signos ni síntomas de enfermedad.

Los expertos en la técnica conocen otros métodos para evaluar el riesgo de una enfermedad inflamatoria en un sujeto.

El tratamiento preferido de la presente descripción es gelsolina. La gelsolina se puede administrar sola, en una composición farmacéutica, o combinada con otros esquemas terapéuticos. La gelsolina y opcionalmente otro agente(s) terapéutico se pueden administrar simultánea o secuencialmente. Cuando los otros agentes terapéuticos se administran simultáneamente, se pueden administrar en las mismas formulaciones o en formulaciones separadas, pero se administran al mismo tiempo. Los otros agentes terapéuticos se pueden administrar secuencialmente unos con otros y con la gelsolina cuando la administración de los otros agentes terapéuticos y la gelsolina se separa temporalmente. La separación en tiempo entre la administración de estos compuestos puede ser una cuestión de minutos o puede ser más prolongada.

En la práctica de ciertos métodos de la presente invención, se requiere obtener un nivel de gelsolina en un sujeto. Este nivel luego se compara con un valor predeterminado, en donde el nivel de gelsolina en comparación con un valor predeterminado es indicativo de la probabilidad de que el sujeto se beneficiará con la continuación de la terapia. El sujeto puede entonces caracterizarse en términos del beneficio neto que obtendrá a partir de un cambio en la terapia.

El nivel de la gelsolina para el sujeto puede obtenerse por cualquier método reconocido en la técnica. Habitualmente, el nivel se determina midiendo el nivel de gelsolina en un fluido corporal, por ejemplo, sangre, suero, plasma, linfa, saliva, orina, líquido sinovial y similar. El nivel se puede determinar por ELISA u otros inmunoensayos, u otras técnicas convencionales para determinar la presencia de gelsolina. Los métodos convencionales pueden incluir una muestra(s) de fluido corporal del sujeto para medición en un laboratorio comercial. Los métodos para medir la gelsolina se describen en el Ejemplo.

La invención también abarca comparar el nivel de gelsolina del sujeto con un valor predeterminado. El valor predeterminado puede adquirir una variedad de formas. Puede ser un simple valor de corte, como una mediana o media. Puede establecerse en base a grupos comparativos, como por ejemplo en donde el riesgo en un grupo definido es el doble del riesgo que en otro grupo definido. Puede ser un intervalo, por ejemplo, en donde la población ensayada se divida en partes iguales (o desiguales) en grupos, como un grupo de bajo riesgo, un grupo de riesgo medio y un grupo de alto riesgo, o en cuartiles, en donde el cuartil más bajo representa a los sujetos con el mayor riesgo y el cuartil más alto representa a los sujetos con el menor riesgo. El valor predeterminado puede ser un valor de corte predeterminado por el hecho de que un grupo que tiene un nivel de gelsolina de no menos del valor de corte demuestra un incremento estadísticamente significativo en el riesgo de presentar una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas) en comparación con un grupo comparativo. En algunas realizaciones, el grupo comparativo es un grupo que tiene un nivel de gelsolina menor.

El valor predeterminado puede depender de la población particular de sujetos seleccionada. Por ejemplo, una población aparentemente sana puede tener un intervalo 'normal' diferente de gelsolina que las poblaciones de sujetos que padecen otras afecciones. Por consiguiente, los valores predeterminados seleccionados pueden representar la categoría en la que recae un sujeto. Los intervalos y categorías adecuados se pueden seleccionar con tan solo la experimentación de rutina de los expertos en la técnica. El fluido corporal preferido es sangre. En algunas realizaciones, el valor predeterminado de gelsolina es aproximadamente 250 mg/l de plasma o menos. En algunas realizaciones, el valor predeterminado de gelsolina es aproximadamente 240 mg/l, 230 mg/l, 220 mg/l, 210 mg/l, 200 mg/l, 190 mg/l, 180 mg/l, 170 mg/l, 160 mg/l, 150 mg/l, 140 mg/l, 130 mg/l, 120 mg/l, 110 mg/l, 100 mg/l, 90 mg/l, 80 mg/l, 70 mg/l, 60 mg/l, 50 mg/l, 40 mg/l, 30 mg/l, 20 mg/l o 10 mg/l de plasma o menos.

En algunas realizaciones, el valor predeterminado de gelsolina es aproximadamente 2,4 µm/l de plasma o menos. En algunas realizaciones, el valor predeterminado de gelsolina es aproximadamente 2,3 µm/l, 2,2 µm/l, 2,1 µm/l, 2,0 µm/l, 1,9 µm/l, 1,8 µm/l, 1,7 µm/l, 1,6 µm/l, 1,5 µm/l, 1,4 µm/l, 1,3 µm/l, 1,2 µm/l, 1,1 µm/l, 1,0 µm/l, 0,9 µm/l, 0,8 µm/l, 0,7 µm/l, 0,6 µm/l, 0,5 µm/l, 0,4 µm/l, 0,3 µm/l, 0,2 µm/l de plasma o menos.

Un valor predeterminado importante de gelsolina es un valor que es el promedio para una población de sujetos sanos (es decir, sujetos que no presentan signos ni síntomas de enfermedad). El valor predeterminado dependerá, desde ya, de las características de la población de sujetos en la que yace el sujeto. En la caracterización del riesgo, se pueden establecer numerosos valores predeterminados.

Actualmente, hay fuentes comerciales que producen reactivos para ensayos de gelsolina. Estas incluyen, por ejemplo, Cytoskeleton (Denver, CO), Sigma (St. Louis, MO) y Calbiochem (San Diego, CA).

En algunas realizaciones, la invención comprende además medir el nivel de gelsolina junto con un segundo marcador de una enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas). Los expertos en la técnica conocen los marcadores de enfermedades inflamatorias, cuyos ejemplos se describieron anteriormente. Los ejemplos de marcadores de artritis reumatoidea incluyen, por ejemplo, anticuerpos antipéptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP), HLA-DR4 y proteína reactiva C (CRP). Se obtiene un nivel de gelsolina en el sujeto. El nivel de gelsolina se compara con un valor predeterminado para establecer un primer valor de riesgo. Se obtiene un nivel de enfermedad inflamatoria del segundo marcador en el sujeto. El nivel de la enfermedad inflamatoria del segundo marcador en el sujeto se compara con un segundo valor predeterminado para establecer un segundo valor de riesgo. El perfil de riesgo del sujeto de presentar la enfermedad inflamatoria (p. ej., artritis reumatoidea en realizaciones preferidas) luego se caracteriza en función de la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo, en donde la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo establece un tercer valor de riesgo diferente del primero y segundo valores de riesgo. En algunas realizaciones, el tercer valor de riesgo es mayor que cualquiera del primero y segundo valores de riesgo. Los sujetos preferidos para los ensayos y los valores predeterminados se describieron anteriormente. La enfermedad puede ser cualquier enfermedad inflamatoria anteriormente descrita.

La descripción da a conocer métodos para determinar si un sujeto se beneficiará con la continuación de la terapia o se beneficiará con un cambio en la terapia. El beneficio es habitualmente una reducción en los signos y síntomas o una recuperación más rápida de las manifestaciones de la enfermedad. Los expertos en la técnica conocen los signos, síntomas y manifestaciones de la enfermedad. Por ejemplo, en la artritis reumatoidea, los signos y síntomas de la enfermedad incluyen dolor, hinchazón y sensibilidad en la articulación o articulaciones afectadas.

Estos métodos tienen importantes implicancias en el tratamiento de pacientes y también en el desarrollo clínico de nuevas terapias. Determinar si un sujeto se beneficiará con la continuación de la terapia o se beneficiará con un cambio en la terapia es clínicamente útil. Un ejemplo de utilidad clínica de los métodos de la presente invención incluye identificar a sujetos que sean menos propensos o más propensos a responder a la terapia. Los métodos de la descripción son también útiles para pronosticar o determinar que un sujeto se beneficiará con la continuación de la terapia o se beneficiará con un cambio en la terapia. Los profesionales sanitarios seleccionan esquemas terapéuticos para tratamiento en función del beneficio neto esperado para el sujeto. El beneficio neto deriva de la

relación riesgo a beneficio. La presente invención permite determinar si un sujeto se beneficiará con la continuación de la terapia o si se beneficiará con un cambio en la terapia, ayudando así al médico a seleccionar una terapia.

Otro ejemplo de utilidad clínica, en el caso de sujetos humanos por ejemplo, incluye ayudar a los investigadores clínicos en la selección de ensayos clínicos de sujetos con una alta probabilidad de obtener un beneficio neto. Se espera que los investigadores clínicos usen ahora la presente invención para determinar los criterios de entrada para los ensayos clínicos.

Un sujeto que se beneficiaría con la terapia continua es un sujeto cuyo nivel de gelsolina durante la terapia alcanza un cierto valor predeterminado o cuyo nivel de gelsolina está aumentando. Los valores predeterminados de gelsolina se describieron anteriormente. Un sujeto que se beneficiaría con un cambio en la terapia es un sujeto cuyo nivel de gelsolina durante la terapia no alcanzó un cierto nivel predeterminado o cuyo nivel de gelsolina durante la terapia no está aumentando.

Tal como se emplea en la presente memoria, un "cambio en la terapia" se refiere a un incremento o una reducción en la dosis de la terapia existente, un cambio de una terapia a otra terapia, la adición de otra terapia a la terapia existente o una combinación de estos. Un cambio de una terapia a otra puede implicar un cambio a una terapia con un perfil de alto riesgo pero en donde aumente la probabilidad de beneficios esperados. En algunas realizaciones, las terapias preferidas aumentan los niveles de gelsolina. Un sujeto que se beneficiaría con un cambio en la terapia aumentando la dosis de la terapia existente es un sujeto que, por ejemplo, estuvo en terapia pero que no recibió la dosis máxima tolerada o la dosis máxima permitida de la terapia y cuyo nivel de gelsolina no alcanzó un cierto valor predeterminado. En dichos casos, la dosis de la terapia existente se aumenta hasta que el nivel de gelsolina alcanza un cierto valor predeterminado. En algunos casos, la dosis de la terapia existente aumenta de la dosis existente a una dosis superior que no es la dosis máxima tolerada ni la dosis máxima permitida de la terapia. En otros casos, la dosis se aumenta hasta la dosis máxima tolerada o la dosis máxima permitida de la terapia. Un sujeto que se beneficiaría con un cambio en la terapia reduciendo la dosis de la terapia existente es, por ejemplo, un sujeto cuyo nivel de gelsolina durante la terapia alcanza o puede alcanzar un cierto valor predeterminado con una dosis inferior de la terapia.

Un sujeto que se beneficiaría con un cambio de una terapia a otra es, por ejemplo, un sujeto que recibió la dosis máxima tolerada o la dosis máxima permitida de la terapia y cuyo nivel de gelsolina no alcanzó un cierto valor predeterminado. Otro ejemplo es un sujeto que no recibió la dosis máxima tolerada ni la dosis máxima permitida de la terapia pero que según su médico sería más probable que se beneficiara con otra terapia. Dichas determinaciones se basan, por ejemplo, en el desarrollo en el sujeto de efectos colaterales no deseados en la terapia inicial o en la ausencia de respuesta a la terapia inicial.

Un sujeto que se beneficiaría con un cambio en la terapia por la adición de otra terapia a la terapia existente es, por ejemplo, un sujeto que estuvo en terapia pero cuyo nivel de gelsolina no alcanzó un cierto valor predeterminado. En dichos casos, se añade otra terapia a la terapia existente. La terapia que se añade a la terapia existente puede tener un mecanismo de acción diferente para aumentar el nivel de gelsolina que la terapia existente. En algunos casos, se puede usar una combinación de los cambios anteriormente mencionados en la terapia.

La descripción también da a conocer métodos para determinar la eficacia de una terapia. La eficacia es típicamente la eficacia de la terapia para aumentar el nivel de gelsolina. Esto a veces se denomina también respuesta positiva o respuesta favorable. La eficacia se puede determinar mediante una o más pruebas de gelsolina en la sangre para determinar si los niveles de gelsolina aumentan como consecuencia de la terapia. En algunas realizaciones, la determinación de la eficacia se basa en la eficacia de una terapia para aumentar los niveles de gelsolina y de normalización de marcadores de inflamación y/o para normalizar el recuento de glóbulos blancos.

La medición de gelsolina típicamente se indica en $\mu\text{M/l}$ (micromoles/litro), mg/dl (miligramos/decilitro) o mg/l (miligramos/litro).

La descripción también da a conocer métodos para decidir el curso de una terapia en un sujeto que se somete a terapia por una enfermedad inflamatoria tal como la artritis reumatoidea. Dicho curso de terapia se decide en base al nivel de gelsolina. En algunas realizaciones, el sujeto ya padece la enfermedad o conlleva riesgo de presentar la enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, el sujeto conlleva un riesgo elevado de padecer la enfermedad inflamatoria, el sujeto presenta uno o más factores de riesgo de padecer la enfermedad.

La cantidad de un tratamiento puede variar, por ejemplo, aumentando o disminuyendo la cantidad de gelsolina o agente farmacológico o una composición terapéutica, cambiando la composición terapéutica administrada, cambiando la ruta de administración, cambiando los horarios y la frecuencia de la dosis, etc. La cantidad eficaz variará con la afección particular que se esté tratando, la edad y el estado físico del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la afección, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concurrente (si la hubiese), la ruta de administración específica y factores similares que están dentro del conocimiento y la experiencia del médico. Por ejemplo, una cantidad eficaz puede depender de la duración que ha tenido la enfermedad inflamatoria en el individuo.

Una cantidad eficaz es una dosis del agente terapéutico suficiente para proporcionar un resultado deseable desde el punto de vista médico. Una cantidad eficaz puede además, por ejemplo, depender del grado hasta el cual un individuo presenta niveles de gelsolina anormalmente reducidos. Se ha de entender que los agentes terapéuticos de la invención se usan para tratar o prevenir la enfermedad inflamatoria (como la artritis reumatoidea), es decir, se pueden usar de manera profiláctica en sujetos con riesgo de presentar la enfermedad inflamatoria (como artritis reumatoidea). Por consiguiente, una cantidad eficaz es aquella cantidad que puede reducir el riesgo de demorar o quizás prevenir totalmente el desarrollo de la enfermedad inflamatoria (como la artritis reumatoidea). Se ha de reconocer que cuando se usa el agente terapéutico en circunstancias agudas, se usa para prevenir uno o más resultados indeseables desde el punto de vista médico que habitualmente fluyen a partir de dichos eventos adversos.

Los factores implicados en la determinación de una cantidad eficaz se conocen en la técnica y se pueden abordar con tan solo la experimentación de habitual. En general se prefiere que se use una dosis máxima de los agentes farmacológicos de la invención (sola o combinada con otros agentes terapéuticos), es decir, la dosis segura más alta de acuerdo con el criterio médico seguro. Los expertos en la técnica entenderán, no obstante, que un paciente puede insistir con una dosis inferior o tolerar la dosis por cuestiones médicas, cuestiones fisiológicas o prácticamente por cualquier otra cuestión.

La cantidad terapéuticamente eficaz de un agente farmacológico de la invención es aquella cantidad eficaz para tratar la enfermedad inflamatoria. Por ejemplo, en el caso de la artritis reumatoidea, la respuesta deseada consiste en inhibir el avance de la artritis reumatoidea. Esto puede comprender solamente demorar el avance de la artritis reumatoidea temporalmente, aunque más preferiblemente, comprende impedir el avance de la artritis reumatoidea en forma permanente. Esto se puede controlar a través de métodos diagnósticos habituales conocidos por los expertos en la técnica. La respuesta deseada al tratamiento de la artritis reumatoidea también puede demorar el inicio o incluso prevenir el inicio de la artritis reumatoidea.

Los agentes farmacológicos de la invención son preferiblemente estériles y contienen una cantidad eficaz de gelsolina para producir la respuesta deseada en una unidad de peso o volumen adecuada para administración a un sujeto. La dosis de agentes farmacológicos administrada a un sujeto puede elegirse de acuerdo con distintos parámetros, en particular de acuerdo con el modo de administración utilizado y el estado del sujeto. Otros factores incluyen el periodo de tratamiento deseado. En el caso de que una respuesta en un sujeto sea insuficiente en las dosis iniciales aplicadas, se pueden emplear dosis más altas (o dosis efectivamente más altas por una ruta de administración diferente, más localizada) en la medida que el paciente las tolere. El médico o el veterinario pueden ajustar la dosis del agente farmacológico, particularmente en el caso de alguna complicación. Una cantidad terapéuticamente eficaz habitualmente varía de 0,01 mg/kg a aproximadamente 1000 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,2 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg, en una o más administraciones de la dosis diarias, durante uno o más días.

La gelsolina y opcionalmente otros agentes terapéuticos se pueden administrar por sí mismos o en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

Los expertos en la técnica conocen los distintos modos de administración, que suministran eficazmente los agentes farmacológicos de la invención a un tejido, célula o fluido corporal deseado. Los métodos de administración se analizan en otra parte de la solicitud. La invención no se limita a los modos de administración particulares descritos en esta memoria. Las referencias estándar en la técnica (p. ej., Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, Lippincott, Williams and Wilkins, Baltimore MD, 2001) ofrecen modos de administración y formulaciones para administración de diversas preparaciones y formulaciones farmacéuticas en vehículos farmacéuticos. El experto en la técnica conocerá otros protocolos que son útiles para la administración de los agentes farmacológicos de la invención, en los que la cantidad de la dosis, el esquema de administración, los sitios de administración, el modo de administración y la probabilidad variarán de los que se presentan en esta memoria.

La administración de los agentes farmacológicos de la invención a mamíferos distintos de seres humanos, p. ej., para fines de ensayo o fines terapéuticos veterinarios, se lleva a cabo prácticamente bajo las mismas condiciones precedentemente descritas. El experto en la técnica entenderá que la presente invención es aplicable tanto para enfermedades humanas como animales. Por ende, la presente invención tiene como fin utilizarse tanto en medicina veterinaria como en productos terapéuticos humanos.

Cuando se administran las preparaciones farmacéuticas de la invención se aplican en cantidades farmacéuticamente aceptables y en composiciones farmacéuticamente aceptables. El término "farmacéuticamente aceptable" significa un material no tóxico que no interfiere con la efectividad de la actividad biológica de los ingredientes activos. Dichas preparaciones suelen contener sales, agentes tampón, conservantes, vehículos compatibles, y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Cuando se usan en medicina, las sales deben ser farmacéuticamente aceptables, pero las sales no farmacéuticamente aceptables se pueden emplear convenientemente para preparar sus sales farmacéuticamente aceptables y no se excluyen del alcance de la invención. Dichas sales farmacológica y farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin limitarse a ello,

aquellas preparadas a partir de los siguientes ácidos: clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, cítrico, fórmico, malónico, succínico y similares. Además, las sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar como sales de metales alcalinos o sales alcalino-térreas, como sales de sodio, potasio o calcio.

- 5 Un agente o composición farmacológico se puede combinar, si se desea, con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se emplea en la presente memoria, significa una o más cargas sólidas o líquidas compatibles, diluyentes o sustancias de encapsulación que son adecuados para administrar a un ser humano. El término "vehículo" ilustra un ingrediente orgánico o inorgánico, natural o sintético, con el cual el ingrediente activo se combina para facilitar la aplicación. Los componentes de las composiciones farmacéuticas también son capaces de combinarse con los agentes farmacológicos de la invención, y entre sí, en un modo tal que no haya interacción que pueda obstaculizar la eficacia farmacéutica deseada.

Las composiciones farmacéuticas pueden contener agentes tampón, como se describió anteriormente, incluidos acetato, fosfato, citrato, glicina, borato, carbonato, bicarbonato, hidróxido (y otras bases) y sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos anteriores. Las composiciones farmacéuticas pueden además contener, opcionalmente, conservantes adecuados, como cloruro de benzalconio, clorobutanol, parabenos y timerosal.

- 15 Las composiciones farmacéuticas pueden convenientemente presentarse en forma de dosis unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica de farmacia. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con un vehículo, que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones se preparan asociando en forma uniforme e íntima el compuesto activo con un vehículo líquido, un vehículo sólido finamente dividido, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto.
- 20 Los compuestos, cuando es conveniente para administrarlos sistémicamente, se pueden formular para administración parenteral por inyección, p. ej., inyección intravenosa rápida o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosis unitaria, p. ej., en ampollas o en recipientes de múltiples dosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adquirir formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión.

- Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Además, las suspensiones de los compuestos activos se pueden preparar como suspensiones para inyección oleosas adecuadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, como etil oleato o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede también contener estabilizadores o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones altamente concentradas.

- 30 Alternativamente, los compuestos activos pueden estar en la forma de polvo para reconstitución con un vehículo adecuado (p. ej., disolución salina, tampón o agua estéril apirógena) antes del uso.

Las composiciones adecuadas para administración oral se pueden presentar como unidades discretas, como cápsulas, comprimidos, pastillas, grageas, en donde cada uno contienen una cantidad predeterminada del compuesto activo (p. ej., gelsolina). Otras composiciones incluyen suspensiones en líquidos acuosos o líquidos no acuosos tales como un jarabe, elixir, una emulsión o un gel.

- 40 Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener como excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir auxiliares adecuados, si se desea, para obtener núcleos de comprimidos o pastillas. Los excipientes adecuados son, en particular, cargas tales como azúcares, incluidas preparaciones de lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol o celulosa, como por ejemplo almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa sódica, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes, como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o su sal, tal como alginato de sodio. Opcionalmente, las formulaciones orales se pueden formular en disolución salina o tampones, es decir, EDTA para neutralizar condiciones ácidas internas o se pueden administrar sin ningún vehículo.

- Además, se contemplan específicamente las formas de administración oral del componente o los componentes anteriormente mencionados. El componente o los componentes se pueden modificar químicamente como para que la administración oral del derivado sea eficaz. En general, la modificación química contemplada es la sujeción de por lo menos un resto a la molécula del componente propiamente dicha, en donde dicho resto permite (a) la inhibición de proteólisis; y (b) absorción en el torrente circulatorio desde el estómago o el intestino. También se desea el incremento en la estabilidad general del componente o componentes y el incremento en el tiempo de circulación en el cuerpo. Los ejemplos de dichos restos incluyen polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y poliprolina. Abuchowski y Davis, 1981, "Soluble Polymer-Enzyme Adducts" en: Enzymes as Drugs, Hochenberg and Roberts, eds., Wiley-Interscience, New

York, NY, pág. 367-383; Newmark, et al., 1982, J. Appl. Biochem. 4:185-189. Otros polímeros que podrían utilizarse son poli-1,3-dioxolano y poli-1,3,6-tioxocano. Para uso farmacéutico, como se indicó anteriormente, se prefieren los restos de polietilenglicol.

5 Para el componente (o derivado), la localización de liberación puede ser el estómago, el intestino delgado (el duodeno, el yeyuno o el íleon), o el intestino grueso. El experto en la material cuenta con formulaciones disponibles que no se disolverán en el estómago, pero que liberarán el material en el duodeno o en otra parte del intestino. Preferiblemente, la liberación evitará los efectos nocivos del entorno estomacal, o bien por protección de la gelsolina o por liberación del material biológicamente activo más allá del entorno estomacal, como en el intestino.

10 Para garantizar la resistencia gástrica absoluta, es esencial un recubrimiento impermeable a por lo menos pH 5,0. Los ejemplos de los ingredientes inertes más comunes que se utilizan como recubrimientos entéricos son acetato de celulosa trimelitato (CAT), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP), HPMCP 50, HPMCP 55, ftalato de polivinilacetato (PVAP), Eudragit L30D, Aquateric, celulosa acetato ftalato (CAP), Eudragit L, Eudragit S y Shellac. Estos recubrimientos se pueden usar como películas mixtas.

15 Un recubrimiento o mezcla de recubrimientos puede también usarse en los comprimidos, que no tienen como fin la protección del estómago. Esto puede incluir recubrimientos de azúcar o recubrimientos que hacen que el comprimido sea más fácil de tragar. Las cápsulas pueden consistir en una envoltura dura (como gelatina) para administración del compuesto terapéutico seco, es decir polvo; para formas líquidas, se puede usar una envoltura de gelatina blanda. El material de envoltura de obleas podría ser almidón grueso u otro papel comestible. Para píldoras, pastillas, comprimidos moldeados o comprimidos triturados, se pueden emplear técnicas de acumulación de
20 humedad.

El compuesto terapéutico se puede incluir en la formulación como multiparticulados finos en la forma de gránulos o píldoritas de tamaño de partícula de aproximadamente 1 mm. La formulación del material para administración de cápsulas podría ser también como polvo, tapones ligeramente comprimidos o incluso como comprimidos. El compuesto terapéutico podría prepararse por compresión.

25 Pueden incluirse todos los colorantes y saporíferos. Por ejemplo, la gelsolina puede formularse (como por encapsulación de liposomas o microesferas) y luego contenerse adicionalmente dentro de un producto comestible, tal como una bebida refrigerada que contiene colorante y saporíferos.

30 Uno puede diluir o aumentar el volumen del compuesto terapéutico con un material inerte. Estos diluyentes podrían incluir carbohidratos, especialmente manitol, lactosa, lactosa anhidra, celulosa, sacarosa, dextranos modificados y almidón. Ciertas sales inorgánicas pueden también usarse como cargas incluidos trifosfato de calcio, carbonato de magnesio y cloruro de sodio. Algunos diluyentes comercialmente disponibles son Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress y Avicell.

35 Pueden incluirse desintegrantes en la formulación del compuesto terapéutico en una forma de administración sólida. Los materiales utilizados como desintegrantes incluyen, entre otros, almidón, incluido el desintegrante comercial a base de almidón, Explotab, almidón glicolato sódico, Amberlite, carboximetilcelulosa sódica, ultramiliopectina, alginato sódico, gelatina, cáscara de naranja, carboximetilcelulosa ácida, esponja natural y bentonita. Otra forma de los desintegrantes son las resinas insolubles de intercambio catiónico. Se pueden utilizar gomas en polvo como desintegrantes y como aglutinante., Las gomas en polvo se pueden usar como desintegrantes y como aglutinantes, y pueden incluir gomas en polvo tales como agar, Karaya o tragacanto. El ácido algínico y su sal de sodio son
40 también útiles como desintegrantes.

45 Los aglutinantes se pueden usar para mantener el agente terapéutico unido para formar un comprimido duro e incluir materiales a partir de productos naturales tales como goma arábica, tragacanto, almidón y gelatina. Otros incluyen metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC) y carboximetilcelulosa (CMC). La polivinilpirrolidona (PVP) y la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) podrían usarse ambas en disoluciones alcohólicas para granular el agente terapéutico.

50 Se puede incluir un agente antifricción en la formulación del agente terapéutico para prevenir la adherencia durante el proceso de formulación. Se pueden utilizar lubricantes como una capa entre el agente terapéutico y la pared de la matriz, y estos pueden incluir, entre otros, ácido esteárico como sus sales de magnesio y calcio, parafina líquida de politetrafluoroetileno (PTFE), aceites vegetales y ceras. Se pueden también utilizar lubricantes solubles como laurilsulfato sódico, laurilsulfato de magnesio, polietilenglicol de diversos pesos moleculares, Carbowax 4000 y 6000.

Podrían añadirse deslizantes que mejoren las propiedades del fármaco durante la formulación y para ayudar en la redistribución durante la compresión. Los deslizantes pueden incluir almidón, talco, sílice pirogénica y silicoaluminato hidratado.

Para auxiliar en la disolución del agente terapéutico en el entorno acuoso, podría añadirse un tensioactivo como humectante. Los tensioactivos pueden incluir detergentes aniónicos tales como laurilsulfato de sodio, dioctil sulfosuccinato de sodio y dioctil sulfonato de sodio. Se podrían emplear detergentes catiónicos y podrían incluir cloruro de benzalconio o cloruro de bencetonio. La lista de posibles ingredientes no iónicos que podrían incluirse en la formulación como tensioactivos son laurmacrogol 400, polioxil estearato 40, aceite de ricino hidrogenado con polioxietileno 10, 50 y 60, glicerol monostearato, polisorbato 40, 60, 65 y 80, éster de ácido graso de sacarosa, metil celulosa y carboximetilcelulosa. Estos tensioactivos podrían estar presentes en la formulación de gelsolina o bien solos o como una mezcla en distintas relaciones.

Las preparaciones farmacéuticas que pueden utilizarse oralmente incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos en mezcla con carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizadores.

También se pueden emplear microesferas formuladas para administración oral. Dichas microesferas se han definido bien en la técnica. Todas las formulaciones para administración oral deberían estar en dosis adecuadas para dicha administración.

Para administración por boca, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o pastillas para chupar formuladas en el modo convencional.

Para administración por inhalación, los compuestos para uso de acuerdo con la presente invención se pueden administrar convenientemente en la forma de una presentación para pulverización en aerosol desde envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, p. ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosis se puede determinar proporcionando una válvula para suministrar una cantidad dosificada. Se pueden formular cápsulas y cartuchos, p. ej., de gelatina, para uso en un inhalador o insuflador que contengan una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

También se contempla en la presente memoria la administración pulmonar de gelsolina. La gelsolina se administra a los pulmones de un mamífero mientras este inhala, y atraviesa el recubrimiento epitelial del pulmón hacia el torrente sanguíneo. Otros informes de moléculas inhaladas incluyen Adjei et al., 1990, *Pharmaceutical Research*, 7:565-569; Adjei et al., 1990, *International Journal of Pharmaceutics*, 63:135-144 (acetato de leuprolida); Braquet et al., 1989, *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 13(supl. 5):143-146 (endotelina 1); Hubbard et al., 1989, *Annals of Internal Medicine*, Vol. III, pág. 206-212 (al-antitripsina); Smith et al., 1989, *J. Clin. Invest.* 84:1145-1146 (a-1-proteinasa); Oswein et al., 1990, "Aerosolization of Proteins", *Proceedings of Symposium on Respiratory Drug Delivery II*, Keystone, Colorado, March, (hormona del crecimiento recombinante humana); Debs et al., 1988, *J. Immunol.* 140:3482-3488 (interferón- γ y factor de necrosis tumoral alfa) y Platz et al., patente de EE. UU. núm. 5.284.656 (factor estimulante de colonias de granulocitos). Un método y una composición para administración pulmonar de fármacos para efecto sistémico se describen en la patente de EE. UU. núm. 5.451.569, emitida el 19 de septiembre de 1995 para Wong et al.

Se contempla para uso en la práctica de la presente invención una amplia gama de dispositivos mecánicos diseñados para la administración pulmonar de productos terapéuticos; entre ellos nebulizadores, inhaladores de dosificación e inhaladores de polvo, los cuales resultan familiares a los expertos en la técnica.

Algunos ejemplos específicos de dispositivos comercialmente disponibles para la práctica de la presente invención son el nebulizador Ultravent, fabricado por Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouri; el nebulizador Acorn II, fabricado por Marquest Medical Products, Englewood, Colorado; el inhalador de dosificación Ventolin, fabricado por Glaxo Inc., Research Triangle Park, North Carolina; y el inhalador de polvo Spinhaler, fabricado por Fisons Corp., Bedford, Massachusetts.

Todos los dispositivos mencionados requieren el uso de formulaciones adecuadas para dispensación de gelsolina. Típicamente, cada formulación es específica del tipo de dispositivo empleado y puede implicar el uso de un material propulsor adecuado, además de los diluyentes, adyuvantes y/o vehículos habituales útiles en la terapia. A su vez, se contempla el uso de liposomas, microcápsulas o microesferas, complejos de inclusión u otro tipo de vehículos. La gelsolina químicamente modificada también se puede preparar en distintas formulaciones, dependiendo del tipo de modificación química o del tipo de dispositivo empleado.

Las formulaciones adecuadas para uso con un nebulizador, o bien a chorro o ultrasónico, habitualmente comprenden gelsolina disuelta en una concentración de aproximadamente 0,1 a 25 mg de gelsolina biológicamente activa por ml de disolución. La formulación puede además incluir un tampón y un azúcar simple (p. ej., para estabilización de la gelsolina y regulación de la presión osmótica). La formulación del nebulizador puede también

contener un tensioactivo para reducir o prevenir la agregación de la gelsolina inducida por la superficie que es causada por la atomización de la disolución al formar el aerosol.

5 Las formulaciones para uso con un dispositivo inhalador de dosificación en general suelen comprender un polvo finamente dividido que contiene la gelsolina suspendida en un propulsor con la ayuda de un tensioactivo. El propulsor puede ser cualquier material convencional empleado para este propósito, como un clorofluorocarbono, un hidroc fluorocarbono, un hidrofluorocarbono o un hidrocarburo, incluidos triclorofluorometano, diclorodifluorometano, diclorotetrafluoroetanol y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, o sus combinaciones. Los tensioactivos adecuados incluyen sorbitán trioleato y lecitina de soja. El ácido oleico también puede ser útil como tensioactivo.

10 Las formulaciones para dispensar desde un dispositivo inhalador de polvo comprenderán un polvo seco finamente dividido que contiene gelsolina e incluyen un agente de volumen, como lactosa, sorbitol, sacarosa o manitol en cantidades que facilitan la dispersión del polvo desde el dispositivo, p. ej., 50 a 90% en peso de la formulación. La gelsolina debe ser lo más ventajosamente preparada en forma particulada con un tamaño de partícula promedio de menos de 10 mm (o micrómetros), lo más preferiblemente 0,5 a 5 mm, para la administración más eficaz al pulmón distal.

15 Se contempla también la administración nasal (o intranasal) de una composición farmacéutica de la presente invención. La administración nasal permite el pasaje de una composición farmacéutica de la presente invención al torrente circulatorio directamente después de administrar el producto terapéutico a la nariz, sin la necesidad de deposición del producto en el pulmón. Las formulaciones para administración nasal incluyen aquellas con dextrano o ciclodextrano.

20 Para la administración nasal, un dispositivo útil es un frasco duro pequeño al que se le conecta un pulverizador de dosificación. En una realización, la dosis se administra atrayendo la composición farmacéutica de la presente invención hacia una cámara de volumen definido, en donde la cámara tiene una apertura con dimensiones para pulverizar y para la formulación de aerosol, formando una pulverización cuando se comprime un líquido de la cámara. La cámara se comprime para administrar la composición farmacéutica de la presente invención. En una
25 realización específica, la cámara tiene una disposición de pistón. Dichos dispositivos se comercializan.

Alternativamente, se puede usar un frasco plástico para oprimir con una apertura o abertura con dimensiones para pulverizar una formulación de pulverización, formando una pulverización al oprimir. La abertura por lo general se encuentra en la parte superior del frasco, y la parte superior en general es cónica para encajar parcialmente en los pasajes nasales para la administración eficiente de la formulación en aerosol. Preferiblemente, el inhalador nasal
30 proporcionará una cantidad dosificada de la formulación en aerosol, para administración de una dosis medida del fármaco.

Los compuestos pueden también formularse en composiciones rectales o vaginales tales como supositorios o enemas de retención, p. ej., que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

35 Además de las formulaciones previamente descritas, los compuestos también se pueden formular como una preparación de liberación lenta. Dichas formulaciones de acción prolongada se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble.

40 Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender vehículos o excipientes en fase sólida o en gel adecuados. Los ejemplos de dichos vehículos o excipientes incluyen, entre otros, carbonato de calcio, fosfato de calcio, distintos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Las formas de preparación farmacéutica líquidas o sólidas adecuadas son, por ejemplo, disoluciones acuosas o salinas para inhalación, microencapsuladas, cocleadas, recubiertas en partículas de oro microscópicas, contenidas en liposomas, nebulizadas, aerosoles, pildoritas para implantar en la piel, o secas en un objeto cortante que se raspará en la piel. Las composiciones farmacéuticas también incluyen gránulos, polvos, comprimidos, comprimidos recubiertos, (micro)cápsulas, supositorios, jarabes, emulsiones, suspensiones, cremas, gotas o preparaciones con liberación prolongada de los compuestos activos, en cuya preparación se emplean habitualmente excipientes y aditivos, y/o auxiliares tales como desintegrantes, aglutinantes, agentes de recubrimiento, agentes de expansión, lubricantes, saporíferos, edulcorantes o solubilizantes. Las composiciones farmacéuticas son adecuadas para uso
45 en una diversidad de sistemas de administración de fármacos. Para una breve revisión de métodos para administración de fármacos, véase Langer, Science 249:1527-1533, 1990. El agente(s) terapéutico, que incluye específicamente, entre otros, gelsolina, se puede proporcionar en partículas. Partículas, tal como se emplea en la presente invención, significa nano o micropartículas (o en algunos casos más grandes) que pueden consistir total o parcialmente en gelsolina u otro agente(s) terapéutico descrito en este documento. Las partículas pueden contener
50 el agente(s) terapéutico en un núcleo rodeado por un recubrimiento como, entre otros, un recubrimiento entérico. El agente(s) terapéutico también puede dispersarse por todas las partículas. El agente(s) terapéutico puede adsorberse en las partículas. Las partículas pueden ser de cinética de liberación de cualquier orden, incluida la liberación de

orden cero, liberación de primer orden, liberación de segundo orden, liberación demorada, liberación sostenida, liberación inmediata y cualquiera de sus combinaciones, etc. La partícula puede incluir, además del agente(s) terapéutico, cualquiera de esos materiales habitualmente utilizados en la técnica de farmacia y medicina, incluidos, entre otros, material erosionable, no erosionable, biodegradable o no biodegradable, y sus combinaciones. Las partículas pueden ser microcápsulas que contienen la gelsolina en una disolución o en un estado semisólido. Las partículas pueden adoptar prácticamente cualquier forma.

Tanto los materiales poliméricos no biodegradables como los biodegradables se pueden usar en la fabricación de partículas para administrar el agente(s) terapéutico. Dichos polímeros pueden ser polímeros naturales o sintéticos. El polímero se selecciona en base al periodo de tiempo en el que se desea la liberación. Los polímeros bioadhesivos de interés particular incluyen hidrogeles bioerosionables descritos por H.S. Sawhney, C.P. Pathak y J.A. Hubei' en *Macromolecules*, (1993) 26:581-587. Estos incluyen ácidos polihialurónicos, caseína, gelatina, glutina, polianhidridos, ácido poliacrílico, alginato, quitosán, poli(metil metacrilatos), poli(etil metacrilatos), poli(butylmetacrilato), poli(isobutil metacrilato), poli(hexilmetacrilato), poli(isodecil metacrilato), poli(lauril metacrilato), poli(fenil metacrilato), poli(metil acrilato), poli(isopropil acrilato), poli(isobutil acrilato) y poli(octadecil acrilato).

El agente(s) terapéutico puede estar contenido en sistemas de liberación controlada. La expresión "liberación controlada" tiene como fin hacer referencia a cualquier formulación que contiene fármaco en la que el modo y el perfil de liberación del fármaco de la formulación están controlados. Esto se refiere a formulaciones de liberación inmediata y no inmediata, en donde las formulaciones de liberación no inmediata incluyen, entre otras, formulaciones de liberación sostenida y liberación demorada. La expresión "liberación sostenida" (también denominada "liberación extendida") se usa en su sentido convencional para hacer referencia a la formulación de un fármaco que proporciona liberación gradual del fármaco durante un periodo de tiempo extendido, y que preferiblemente, aunque no necesariamente, resulta en niveles en sangre prácticamente constantes de un fármaco durante un periodo de tiempo extendido. La expresión "liberación demorada" se utiliza en su sentido convencional para hacer referencia a una formulación de fármaco en la que hay una demora de tiempo entre la administración de la formulación y la liberación del fármaco desde allí. "Liberación demorada" puede o no implicar la liberación gradual del fármaco durante un periodo de tiempo extendido, y por lo tanto, puede ser o no "liberación sostenida".

El uso de un implante de liberación sostenida a largo plazo puede ser particularmente adecuado para el tratamiento de afecciones crónicas. Liberación a "largo plazo", tal como se emplea en este documento, significa que el implante está construido y dispuesto para administrar niveles terapéuticos del ingrediente activo durante por lo menos 7 días, y preferiblemente 30-60 días. Los expertos en la materia conocen los implantes de liberación sostenida a largo plazo, que incluyen algunos de los sistemas de liberación anteriormente descritos.

Para administración tópica al ojo, las membranas nasales, las membranas mucosas o la piel, la gelsolina se puede formular como ungüentos, cremas o lociones, o como un parche transdérmico o inserción intraocular o iontoforesis. Por ejemplo, los ungüentos y cremas se pueden formular con una base acuosa u oleosa sola o junto con agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y, típicamente, incluyen además uno o más agentes emulsionantes, agentes de estabilización, dispersantes, agentes de suspensión, espesantes o colorantes. (véase, p. ej., el documento U.S. 5.563.153, titulado "Sterile Topical Anesthetic Gel", emitido para Mueller, D., et al., para leer una descripción de un vehículo tópico a base de gel farmacéuticamente aceptable).

En general, la gelsolina está presente en una formulación tópica en una cantidad que oscila entre aproximadamente 0,01% y aproximadamente 30,0% en peso, en base al peso total de la composición. Preferiblemente, la gelsolina está presente en una cantidad que oscila entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 30% en peso y, lo más preferiblemente, la gelsolina está presente en una cantidad que oscila entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 10% en peso. En una realización, las composiciones de la invención comprenden una mezcla de gel para maximizar el contacto con la superficie del dolor localizado y minimizar el volumen y la dosis necesaria para aliviar el dolor localizado. GELFOAM® (un gel a base de metilcelulosa fabricado por Upjohn Corporation) es un vehículo tópico farmacéuticamente aceptable preferido. Otros vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen iontoforesis para administración transdérmica de fármacos.

La descripción también contempla el uso de kits. En algunos aspectos de la descripción, el kit puede incluir un vial de preparación farmacéutica, un vial con diluyente para una preparación farmacéutica y gelsolina. El vial que contiene el diluyente para la preparación farmacéutica es opcional. El vial que contiene el diluyente contiene un diluyente tal como disolución salina fisiológica para diluir lo que podría ser una disolución concentrada o polvo de gelsolina liofilizado. Las instrucciones pueden incluir instrucciones para mezclar una cantidad particular del diluyente con una cantidad particular de la preparación farmacéutica concentrada, mediante lo cual se prepara una formulación final para inyección o infusión. Las instrucciones pueden incluir instrucciones para tratar a un sujeto con una cantidad de gelsolina eficaz. También se ha de entender que los recipientes que contienen las preparaciones, ya sea que el recipiente sea un frasco, un vial con un tapón, una ampolla con tapón, una bolsa de infusión y similares, pueden contener indicios tales como marcas convencionales que cambian de color cuando la preparación ha sido sometida a autoclave o esterilizada de otro modo.

La presente invención se ilustra además mediante los siguientes Ejemplos, que de ninguna manera se deben interpretar como limitativos.

Ejemplos

La gelsolina en el plasma (pGSN) es una proteína segregada que circula en los fluidos extracelulares de seres humanos a concentraciones que promedian 250 mg/l. Diversos tipos de lesiones de tejidos provocan reducciones en los niveles de gelsolina en el plasma. Después de una lesión grave de los tejidos provocada por traumatismos graves, quemaduras, septicemia, cirugía mayor y pacientes de trasplante de células madre hematopoyéticas, los niveles de gelsolina (GSN) declinan hasta aproximadamente menos de 25% del nivel normal precedente y por lo tanto pronostican complicaciones de cuidado crítico medidas por requerimientos de ventilación asistida, longitud de residencia en cuidados intensivos y hospitalizaciones en general, muerte y secuelas específicas tales como lesión pulmonar secundaria (p. ej., síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), lesión pulmonar aguda (ALI), síndromes de disfunción multiorgánica (MODS)). Reducciones de gelsolina en el plasma similares en modelos animales preceden a cambios en la permeabilidad pulmonar e inflamación, y la infusión de gelsolina en el plasma recombinante mejora estos efectos.

Ejemplo 1: La concentración de gelsolina en el plasma (pGSN) disminuye en pacientes con artritis reumatoidea (RA) en comparación con controles sanos y con menos líquido sinovial que sangre en pacientes con RA.

Medimos los niveles de gelsolina en el plasma (pGSN) en pacientes con artritis reumatoidea (RA) para ensayar experimentalmente la hipótesis de que los niveles de gelsolina en el plasma caen en respuesta a la lesión inicial (desconocida) provocada por el agente causante de artritis reumatoidea. Como se muestra en la Figura 1, los niveles de (pGSN) circulante fueron significativamente inferiores en pacientes con RA comparados con controles sanos equiparados (103 ± 23 frente a 142 ± 29 , $P = 0,0002$, FIG. 1). Los niveles de pGSN fueron similares tanto en hombres como en mujeres, y no dependieron de la edad de los pacientes ni de la duración de la artritis. Los niveles de pGSN circulante se correlacionaron inversamente con los niveles de proteína C reactiva ($r = -0,272$, $p = 0,026$).

Materiales y métodos:

Pacientes: Se obtuvieron muestras de plasma y líquido sinovial de 82 pacientes con RA que asistían a consultorios de reumatología en Sahlgrenska University Hospital en Gotemburgo por efusión articular aguda. Se diagnosticó RA de acuerdo con los criterios del American College of Rheumatology. Al momento de tomar las muestras de líquido sinovial y sangre, todos los pacientes recibían fármacos antiinflamatorios no esteroideos. Se obtuvieron radiografías recientes de las manos y los pies de todos los pacientes. La presencia de erosiones óseas, definida como la pérdida de definición cortical de la articulación, se registró en las articulaciones interfalángicas, metacarpofalángicas, carpo, interfalángicas y metatarsfalángicas del antepié. La presencia de una erosión fue suficiente para cumplir con el requisito de una enfermedad erosiva. La presencia de factor reumatoideo de cualquier isotipo de inmunoglobulina ensayada (IgM, -A, -G) se consideró positiva. Se obtuvieron muestras de sangre control ($n=87$) de donantes de sangre que asistieron a la Unidad de Transfusiones Sanguíneas de Sahlgrenska University Hospital y compatibles con pacientes con RA en cuanto a edad y género.

Recolección y preparación de muestras: Se obtuvo líquido sinovial de las articulaciones de la rodilla por artrocentesis, se aspiró asépticamente y se transfirió a tubos que contenían citrato sódico ($0,129 \text{ mol/l}$; pH 7,4). Las muestras se obtuvieron simultáneamente de la vena cubital y se recogieron en medio con citrato sódico. Las muestras de sangre y líquido sinovial recogidas se centrifugaron a 800 g durante 15 minutos, se dividieron en alícuotas y se almacenaron congeladas a -70°C hasta el uso.

Medición de la concentración de pGSN en el plasma y en líquido sinovial por ensayo de nucleación de pireno actina: se activa pGSN con calcio y se une a dos monómeros de actina para formar un núcleo desde el cual se polimeriza la actina en la dirección terminal señalada (la de crecimiento más lento). Se preparó pireno actina derivando actina con N-pireniliodoacetamida (Molecular Probes, Eugene Oregon). Antes del uso, se diluyó pireno actina en tampón de despolimerización (Tampón A: ATP 0,5 mM, β -mercaptoetanol 5 mM, Tris 0,2 mM, CaCl_2 0,2 mM, pH 7,4) hasta 20 μM , se almacenó 1 h a 37°C hasta alcanzar el equilibrio monomérico y se centrifugó a 250.000 g, 4°C durante 30 minutos en una máquina Optima™ TL Ultracentrifuge (Beckman) hasta sedimentar cualquier actina filamentosa remanente. Se retiró el sobrenadante y se almacenó en un baño de agua con hielo hasta el uso. El plasma deficiente de plaquetas que se iba a analizar se diluyó 1:5 en tampón B (KC1 0,1 M, MgCl_2 0,2 mM, CaCl_2 0,2 mM, ATP 0,5 mM, Tris 10 mM, mercaptoetanol 0,5 mM, pH 7,4). Se registró la fluorescencia de pireno actina usando un fluorómetro de luminiscencia (FluoroMax-2®, JobinYvon-Spex Instruments S.A., Inc). Las longitudes de ondas de excitación y emisión fueron 366 y 386 nm, respectivamente. Se añadió pireno activan a una concentración final de 1 μM en 280 μl tampón B que contenía faloidina 0,4 μM , CaCl_2 1,5 mM y 5 μl de muestra diluida en tubos de cultivo de vidrio y borosilicato de 6x50 mm (Kimble). La nucleación se monitoreó durante 240 s en el fluorómetro después de una rápida agitación en vórtex. La pendiente lineal del incremento de fluorescencia se calculó entre 100-200s. Todas las muestras se llevaron a cabo por duplicado. La tasa de polimerización en cada muestra se convirtió a concentración de pGSN con el uso de una curva estándar de pGSN humana recombinante.

Estadística: El nivel de pGSN en las muestras de sangre y de líquido sinovial se expresó como la desviación estándar y media $\pm$ SD. La comparación entre las muestras de sangre y líquido sinovial compatibles se analizó por la prueba de la t para datos emparejados. La comparación de los niveles de pGSN también se realizó entre las muestras de sangre de pacientes y de controles sanos. Para mayor comparación, el material de los pacientes se estratificó de acuerdo con hallazgos radiológicos (RA erosiva frente a RA no erosiva). Las diferencias en los niveles de pGSN en la sangre y el líquido sinovial entre los grupos se calcularon por separado, empleando la prueba U de Mann-Whitney. Para la evaluación de una posible influencia del tratamiento continuo sobre los niveles de pGSN, el material de los pacientes se estratificó de acuerdo con el tratamiento DMARD (tratado frente a no tratado). La comparación entre los grupos se realizó usando la prueba U de Mann-Whitney. Para toda la evaluación estadística de los resultados, los valores P debajo de 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

Ejemplo 2: La isoforma de gelsolina presente en el líquido sinovial (SF) de pacientes con RA es la isoforma de gelsolina en el plasma (pGSN)

Ya que la gelsolina se produce como una isoforma intracelular y extracelular, cada una de las cuales posee la capacidad de inducir la polimerización de actina, analizamos el origen de la actividad de la gelsolina por inmunoensayo con un anticuerpo específico de la isoforma del plasma (a-pGSN). La gelsolina presente en SF está compuesta principalmente por la isoforma plasmática (Fig. 2). El origen en el plasma de la gelsolina también fue respaldado por una correlación entre los niveles de gelsolina en el plasma y el líquido sinovial en el par compatible de muestras ($r=0,39$, $p=0,0006$). No obstante, la actividad de pGSN en las muestras de SF de pacientes con RA fue significativamente inferior que aquella del plasma (pg/ml, 69 ± 18 frente a 103 ± 23 , $p = 0,04$) indicando un consumo local.

Materiales y métodos

Inmunoensayo: Los plasmas deficientes de plaquetas o líquidos sinoviales se diluyeron 1:100 en tampón de muestra 1X (SB, 20% glicerol, 4,6% Tris, Tris-HCl 0,25 M, 0,01% azul de bromofenol, 10% v/v 2-Mercaptoetanol, pH 6,8) para ensayo de la isoforma de gelsolina, se agitó brevemente en vórtex y se sometió a ebullición a 100 °C durante 10 minutos. Las muestras (10 μ l) se ejecutaron en geles 10% SDS-PAGE (gelelectroforesis de dodecilsulfato sódico poliacrilamida) en un sistema Laemmli modificado. El lisado de plaquetas (2×10^8 /ml, 5 μ l) pGSN recombinante humana se usó como controles negativos y positivos para pGSN respectivamente. Las proteínas se separaron durante 1,5 horas a 120V. Se embebieron membranas Immobilon P (PVDF, 0,45 μ m; Millipore Corp., Bedford, MA) en metanol durante 1 minuto y tampón de transferencia (glicina 192 mM, Tris 25 mM, dodecilsulfato sódico 0,1%, metanol 20%) durante 5 minutos, antes de la transferencia. La transferencia se llevó a cabo a un voltaje variable, 1A durante 90 minutos. Las membranas se bloquearon durante la noche en PBS que contenía 0,05% Tween-20, 5% leche deshidratada desnatada Carnation y 0,05% azida de sodio pH 7,4 a 4°C. Para pGSN, se usó un anticuerpo policlonal específico de la isoforma de plasma humano (1:2000, 2h, producido en el laboratorio). Para todas las isoformas de GSN, se usó un anticuerpo monoclonal primario anti-gelsolina 2c4 (1:2500, 2h, producido en el laboratorio). Los anticuerpos secundarios utilizados fueron IgG antirratorón de conejo (H+L)-HRP (1:5000, 80 min) y conjugado de IgG antirratorón de cabra (H+L)-HRP respectivamente (1:3300, 80 min, Bio-Rad, Hercules, CA). Las membranas se lavaron 3 veces en PBS que contenía 0,05% Tween-20 entre las incubaciones.

Se realizó la detección de quimioluminiscencia usando el sustrato quimioluminiscente SuperSignal® West Pico para detección de HRP (PIERCE, Rockford, IL). Las membranas fueron expuestas a 2 ml de cada disolución de peróxido estable SuperSignal® West Pico y disolución de Luminol/Potenciador SuperSignal® West Pico durante 2 minutos. Se expuso película de autorradiografía HyBlot CL (Denville Scientific, Inc., Metuchen, NJ) a la membrana durante 1 minuto en un cassette de autorradiografía FBXC 810 (FischerBiotech, Pittsburg, PA). La película se reveló usando un procesador M35A X-OMAT (Kodak). Ejemplo 3: pGSN se reduce en las etapas incipientes de un modelo de ratón experimental de artritis séptica/septicemia.

Los niveles de pGSN circulante se redujeron tanto durante la infección por estreptococos como por estafilococos. Esta reducción ocurrió durante el transcurso de la enfermedad, comenzando 2 días después de la inoculación bacteriana en ambos grupos de animales artríticos y sépticos. Antes de la inyección (día 0), el nivel de pGSN promedio de los ratones fue 200 ± 20 mg/l. Alrededor del día 2, los niveles de pGSN disminuyeron a 138 ± 16 mg/l para los animales con artritis por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (7×10^6 cfu/ratón), 157 ± 15 mg/l para los animales inyectados con *S. aureus* séptica ($3,5 \times 10^7$ cfu/ratón), y 152 ± 15 mg/l para los animales inyectados con *Streptococcus agalactiae* (*Str. agalactiae*) (1×10^7 cfu/ratón). Los niveles de pGSN en el día 9 fueron 141 ± 21 , 151 ± 15 y 124 ± 13 mg/l, respectivamente. Solamente los animales inyectados con bacterias estreptocócicas exhibieron mayor disminución de los niveles de pGSN circulantes en el día 9. La reducción de pGSN no estuvo relacionada con la intensidad de la infección, ya que las concentraciones de pGSN después de la administración de la dosis septicémica (5 veces mayor que las artríticas), que resultan en mayor mortalidad, no fueron inferiores que aquellas observadas en los ratones con dosis artríticas.

Materiales y métodos

Inducción de artritis y septicemia por *S. aureus*: Se adquirieron ratas NMRI hembra de 5-6 semanas de vida de ALAB (Estocolmo, Suecia) y se mantuvieron en la instalación animal del Departamento de Reumatología de la Universidad de Goteborg. Se alojaron 10-11 animales por jaula bajo condiciones estándar de temperatura y luz, y se alimentaron con alimento estándar de laboratorio y agua a voluntad. La cepa *S. aureus*, LS-1, originalmente aislada de una articulación inflamada de un ratón NZBxW espontáneamente artrítico, la cepa Newman, además de la cepa *Str. agalactiae* 6313, un aislamiento clínico perteneciente al serotipo III, se usaron para la inducción de la artritis séptica y la septicemia. Las bacterias se mantuvieron congeladas a -20°C, en PBS (cloruro de sodio 0,13 M, fosfato de sodio 10 mM, pH 7,4), que contenía 5% BSA y 10% sulfóxido de dimetilo, hasta el uso. Antes de la inyección, la disolución bacteriana se descongeló, se lavó dos veces con PBS y se ajustó con PBS hasta la concentración deseada. Los ratones recibieron inyecciones en la vena del rabo de una suspensión de *S. aureus* o *Str. agalactiae* en 0,2 ml de PBS. Se determinaron los recuentos viables en la disolución remanente para verificar el número exacto de bacterias inyectadas y presentadas como unidades formadoras de colonias (cfu/ml).

Todos los ratones fueron supervisados individualmente durante el periodo de observación de 8-9 días por evaluación del aspecto de la articulación, el peso, el aspecto general, el estado de alerta y las anomalías de la piel. Se obtuvieron muestras de sangre de la vena del rabo en un tubo estéril sin anticoagulante y se dejaron hasta coagularse durante 6-8 horas. Las muestras se centrifugaron a 3000xg durante 15 min, se dividió el suero en alícuotas y se mantuvo congelado a -70° C hasta su uso.

Protocolo experimental: Veinte ratones obtuvieron por vía intravenosa (i.v.) una dosis septicémica (LS-1, 4×10^7 cfu/ratón, n=10) o artritogénica (7×10^6 cfu/ratón, n=10) de *S. aureus*. Otros 10 ratones obtuvieron una dosis intravenosa septicémica de *Str. agalactiae* (1×10^7 cfu/ratón). Los días -3, 2, 4, 6 y 9 se tomaron muestras de sangre mediante una incisión en la vena del rabo para determinar los niveles de pGSN. El día 9 todos los ratones se sacrificaron por dislocación cervical. Se determinó el nivel de pGSN con el mismo método que las muestras humanas (ensayo de nucleación de pireno actina).

Ejemplo 4: Suplementación de pGSN para demora del desarrollo de artritis en ratones

Se llevó a cabo la suplementación de ratones con gelsolina recombinante durante 7 días con un intervalo de 24h comenzando inmediatamente antes de la inoculación bacteriana (4×10^7 /ml). Cinco ratones recibieron gelsolina y 7 recibieron PBS y se usaron como controles. Durante los primeros 9 días de infección por estafilococos, no se observó ninguna diferencia en los grupos tratados con gelsolina y en los grupos control con respecto a la pérdida de peso, la tasa de supervivencia o el desarrollo de la artritis. No obstante, menos de los ratones tratados con gelsolina desarrollaron artritis el día 3 (1 tratado frente a 4 no tratados – Véase la Tabla 1).

Tabla 1. Dinámica de peso, supervivencia y desarrollo de artritis en ratones NMRI infectados por vía intravenosa con *S. aureus*. G = gelsolina en plasma, C = Control.

	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 28	
Gelsolina	31,5g	30,0g	27,2g	25,3g	25,7g	30,8g	Peso promedio
Controles PBS	31,2	28,5	27,7	22,9	25,4	32,4	Peso promedio
	5G/7C	5G/7C	5G/7C	5G/7C	3G/6C	2G/6C	Supervivencia
	1G/OC	1 G/4C	2G/4C	3G/4C	2G/1C	2G/2C	Artritis

35 Materiales y métodos

Doce ratones recibieron una inyección intravenosa (i.v.) de una dosis septicémica de *S. aureus* (Newman, 4×10^7 cfu/ratón). Cinco ratones recibieron pGSN recombinante humana por vía infra-peritoneal (i.p.) durante los días 0-7, y los 7 ratones restantes recibieron PBS. Los ratones fueron supervisados individualmente hasta el día 28 y se siguieron sus signos de artritis, peso, aspecto general y estado de alerta.

La pGSN recombinante se produjo en *E. coli*, replegada con GS SG, formulada en NaCl 0,1 M y CaCl₂ 1 mM por Biogen-Idec, Inc. (Cambridge, MA) y se mantuvo a -70° C antes del uso. Los ratones recibieron inyecciones de pGSN recombinante i.p. (6 mg/ratón) una hora antes de la exposición bacteriana y continuaron con intervalos de 24 horas (3 mg/ratón) durante 7 días. Los controles recibieron un volumen correspondiente de PBS.

Ejemplo 5:

La hipótesis de que la administración de gelsolina podría impactar en los procesos inflamatorios se ensaya en un modelo de roedor de artritis inducida por colágeno (CIA), un modelo autoinmune que se asemeja a la artritis reumatoidea. La CIA es inducible en ratones macho DBA/1 consanguíneos cebando por vía intradérmica colágeno heterólogo u homólogo II (aproximadamente 50 microgramos) en adyuvante completo de Freund y 2 semanas después reforzando con la misma cantidad de colágeno TI en adyuvante incompleto de Freund. La artritis se desarrolla aproximadamente 3 semanas después de la dosis de cebado y alcanza su punto máximo 8 semanas después del cebado. Los ratones presentan altos niveles de anticuerpos específicos de colágeno II, células T específicas de colágeno II, además de signos de inflamación sistémica (p. ej., producción de IL-6, TNF etc). Localmente en las articulaciones se observan inmensos infiltrados inflamatorios (que consisten en células T, macrófagos, neutrófilos y fibroblastos), además de destrucción intensa de cartilago y hueso subcondral. Estas características imitan bien el proceso observado en artritis reumatoidea humana (Myers et al., Life Sciences 61, pág 1861-1878, 1997). En un ensayo terapéutico, un conjunto de animales de ensayo recibe, por ejemplo, 8 mg de albúmina de suero bovino u 8 mg de gelsolina de plasma recombinante humana por vía subcutánea una vez, el día diez desde el inicio de la terapia (1x) o tres dosis los días 2, 5 y 10 (3x). Se ha observado previamente que esta ruta de administración y dosis eleva los niveles reducidos de gelsolina al 50% por septicemia hasta la normalidad. Se miden varios parámetros de la enfermedad (p. ej., signos y síntomas clínicos, inicio, progresión, gravedad y remisión de síntomas). En síntesis, nuestros hallazgos respaldan los dos aspectos de la hipótesis presentada, a saber, que las reducciones en los niveles de gelsolina en el plasma preceden a las manifestaciones de enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoidea, y que el tratamiento sistémico con gelsolina del plasma previene y/o suprime estas manifestaciones. Una correlación clínica de estas observaciones es que el monitoreo serial de los niveles de gelsolina en el plasma podría convertirse en parte de la estrategia de control de enfermedades inflamatorias tales como la artritis reumatoidea, marcando cuándo intensificar la terapia. Otra correlación es que la elevación profiláctica de los niveles de gelsolina en el plasma podría proteger a los pacientes contra secuelas de inflamación.

Si bien no se desean influencias de ningún mecanismo o teoría particular, se supone que la gelsolina en el plasma disminuye de la sangre durante las enfermedades inflamatorias (como artritis reumatoidea (RA)) y se localiza o aísla en el sitio de lesión/inflamación (el espacio articular en la artritis reumatoidea). Se cree que la gelsolina en el plasma en el sitio de inflamación funciona uniéndose a los mediadores inflamatorios y previene que causen más daño, inhibiendo sus acciones sobre los receptores celulares. Esto es respaldado por el hecho de que la gelsolina en el plasma *in vitro* se une a algunos mediadores inflamatorios tales como ácido lipofosfatídico (LPA), péptido A13 (Alzheimer), diadenosina 5',5"-P1,P3-trifosfato (Ap3A), fibronectina, fibrinógeno y lipopolisacárido (LPS), y reduce ciertas respuestas celulares al factor de activación de plaquetas (PAF). Además, las células dañadas en la articulación inflamada liberan actina, y la gelsolina se une a la actina. La gelsolina puede tener una función protectora, seccionando actina filamentosa que podría de lo contrario ser tóxica. Creemos que la gelsolina posee un efecto antiinflamatorio, pero que cuando la inflamación es intensa y prolongada como en la RA, la suplementación de gelsolina podría ser beneficiosa para reducir o tratar la inflamación. El aislamiento o el reclutamiento de gelsolina hacia el sitio de inflamación (como el espacio articular en artritis reumatoidea) podría explicar por qué se reducen los niveles en el plasma, aunque también son posibles otras explicaciones.

Equivalentes

La memoria escrita precedente se considera suficiente para permitir que el experto en la técnica practique la invención. La presente invención no se limita en alcance al ejemplo(s) provisto, ya que el ejemplo(s) está destinado exclusivamente a ilustrar uno o más aspectos de la invención. Otras realizaciones funcionalmente equivalentes se consideran dentro del alcance de la invención. Diversas modificaciones de la invención, además de aquellas expuestas y descritas en este documento, serán obvias para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior. Cada una de las limitaciones de la invención puede abarcar diversas realizaciones de la invención. Por lo tanto, se anticipa que cada una de las limitaciones de la invención que implica cualquier elemento o combinación de elementos puede incluirse en cada aspecto de la invención. La presente invención no se limita en su aplicación a los detalles de construcción ni a la disposición de los componentes expuestos o ilustrados en los dibujos. La invención es capaz de aceptar otras realizaciones y de practicarse o llevarse a cabo en diversas formas.

Además, las frases y términos utilizados en el presente documento tienen fines descriptivos y no deben considerarse limitativos. El uso de "que incluye", "que comprende" o "que tiene", "que contiene", "que abarca" y sus variaciones en este documento, tiene como fin abarcar los puntos mencionados y sus equivalentes, así como también puntos adicionales.

REIVINDICACIONES

1. Un método para caracterizar el perfil de riesgo de un sujeto sano de presentar una enfermedad inflamatoria futura, que comprende:

5 comparar un nivel de gelsolina en un fluido corporal (por ejemplo sangre, plasma, suero, orina, líquido sinovial o fluido alveolar), o tejido (por ejemplo un tejido articular, gastrointestinal, tiroideo, adrenérgico, vascular, pulmonar, renal, cardíaco, dérmico, ocular, cerebral, pancreático, hepático, nervioso o muscular) obtenido del sujeto hasta un valor predeterminado (preferiblemente de aproximadamente 250 mg/l de plasma o menos), y

10 caracterizar el perfil de riesgo del sujeto de presentar una enfermedad inflamatoria en función del nivel de gelsolina en comparación con el valor predeterminado, en donde un nivel de gelsolina en o debajo del nivel predeterminado es indicativo de que el sujeto presenta un riesgo elevado de padecer la enfermedad inflamatoria, y en donde un nivel de gelsolina en o encima del valor predeterminado es indicativo de que el sujeto no presenta un riesgo elevado de padecer la enfermedad inflamatoria,

en donde el sujeto no presenta signos ni síntomas de una infección, septicemia o trastorno relacionado con actina.

15 2. El método según la reivindicación 1, en donde la enfermedad inflamatoria es artritis, artritis reumatoidea, asma, enfermedad inflamatoria de los intestinos (enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), rinitis alérgica, vasculitis (poliarteritis nodosa, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu o síndrome de Behcet), neuropatía inflamatoria, psoriasis, lupus eritematoso sistémico (SLE), tiroiditis crónica, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, polimialgia reumática, síndrome de Sjogren o síndrome de Churg-Strauss.

20 3. El método según la reivindicación 1, que además comprende realizar una o más pruebas para evaluar la enfermedad inflamatoria, preferiblemente en donde la prueba consiste en medir un nivel de un marcador de inflamación en el sujeto, por ejemplo, en donde el marcador de inflamación es CRP, molécula de adhesión intercelular soluble (sICAM-1), ICAM 3, BL-CAM, LFA-2, VCAM-I, NCAM, PECAM, fibrinógeno, amiloide del suero A (SAA), fosfolipasa asociada a lipoproteínas A2 (LpPIA2), ligando sCD40 (sCD40L), mieloperoxidasa, Interleucina 6 (IL-6) o interleucina 8 (IL-8).

4. Un método para caracterizar el perfil de riesgo de un sujeto sano de presentar una enfermedad inflamatoria futura, que comprende:

comparar el nivel de gelsolina en una muestra obtenida de un sujeto con un primer valor predeterminado (preferiblemente aproximadamente 250 mg/l de plasma o menos) para establecer un primer valor de riesgo,

30 comparar el nivel de un segundo marcador de inflamación en una muestra obtenida de un sujeto con un segundo valor predeterminado para establecer un segundo valor de riesgo, y

caracterizar el perfil de riesgo del sujeto de presentar la enfermedad inflamatoria en función del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo, en donde la combinación del primer valor de riesgo y el segundo valor de riesgo establece un tercer valor de riesgo diferente de dichos primero y segundo valores de riesgo,

35 en donde el sujeto no presenta ningún signo ni síntoma de una infección, septicemia o trastorno relacionado con actina.

40 5. El método según la reivindicación 4, en donde el primer valor predeterminado es una pluralidad de intervalos de niveles de gelsolina predeterminados, en donde uno de dicha pluralidad está debajo de aproximadamente 250 mg/l de plasma y otro de dichos intervalos está por encima de aproximadamente 250 mg/l de plasma, y en donde dicha etapa de comparación comprende determinar en cuál de dicha pluralidad de intervalos de niveles de gelsolina yace el nivel de gelsolina de dicho sujeto.

45 6. Gelsolina, opcionalmente en combinación con un segundo agente para tratar una enfermedad inflamatoria, para uso en un método para tratar a un sujeto que conlleva riesgo de padecer una enfermedad inflamatoria, que preferiblemente se encuentra libre de indicaciones que ameriten tratamiento con gelsolina, preferiblemente en donde la gelsolina es gelsolina plasmática (pGSN), gelsolina citoplásmica (cGSN), advilina, vilina, capG, proteínas *flightless*, fragmina, severina, adseverina, protovilina o supervilina.

50 7. La gelsolina según la reivindicación 6, en donde la enfermedad inflamatoria es artritis, artritis reumatoidea, asma, enfermedad inflamatoria de los intestinos (enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), rinitis alérgica, vasculitis (poliarteritis nodosa, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu o síndrome de Behcet), neuropatía inflamatoria, psoriasis, lupus eritematoso sistémico (SLE), tiroiditis crónica, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, polimialgia reumática, síndrome de Sjogren o síndrome de Churg-Strauss.

8. La gelsolina según la reivindicación 6, en donde el segundo agente para tratar la enfermedad inflamatoria es Alclofenac, Alclometasona Dipropionato, Algestona Acetónido, Alfa Amilasa, Amcinafal, Amcinafide, Amfenac Sódico, Hidrocloruro de Amiprilosa, Anakinra, Aniolac, Anitrazafen, Apazona, Balsalazide Disódico, Bendazac, Benoxaprofeno, Hidrocloruro de Bencidamina, Bromelains, Broperamole, Budesónida, Carprofeno, Cicloprofeno, Cintazona, Cliprofeno, Propionato de Clobetasol, Butirato de Clobetasona, Clopirac, Propionato de Cloticasona, Acetato de Cormetasona, Cortodoxona, inhibidor de Ciclooxigenasa-2 (COX-2), Deflazacort, Desonida, Desoximetasona, Dipropionato de Dexametasona, Diclofenac Potásico, Diclofenac Sódico, Diacetato de Diflorasona, Diflumidona Sódica, Diflunisal, Difluprednato, Diftalona, Dimetil Sulfóxido, Drocínónida, Endrisona, Enlimomab, Enolicam Sódico, Epirizol, Etodolac, Etofenamato, Felbinac, Fenamol, Fenbufen, Fenclofenac, Fenclorac, Fendosal, Fenpipalone, Fentiazac, Flazalone, Fluazacort, Ácido Flufenámico, Flumizol, Acetato de Flunisolida, Flunixin, Flunixin Meglumina, Fluocortin Butilo, Acetato de Fluorometolona, Fluquazona, Flurbiprofen, Fluretofen, Propionato de Fluticasona, Furaprofeno, Furobufeno, Halcínónida, Propionato de Halobetasol, Acetato de Halopredona, Ibufenac, Ibuprofeno, Ibuprofeno Aluminio, Ibuprofeno Piconol, Ilonidap, Indometacina, Indometacina Sódica, Indoprofeno, Indoxol, Intrazol, Acetato de Isoflupredona, Isoxicam, Isoxicam, Cetoprofeno, Hidrocloruro de Lofemizol, Lornoxicam, Etabonato de Loteprednol, Meclofenamato Sódico, Ácido Meclofenámico, Dibutirato de Meclorisona, Ácido Mefenámico, Mesalamina, Meseclazona, Metilprednisolona Suleptanato, Morniflumato, Nabumetona, Naproxeno, Naproxeno Sódico, Naproxol, Nimazona, Olsalazina Sódica, Orgoteína, Orpanoxin, Oxaprozin, Oxifenbutazona, Hidrocloruro de Parailina, Pentosan Polisulfato Sódico, Fenbutazona Sódica Glicerato, Pirfenidona, Piroxicam, Piroxicam Cinamato, Piroxicam Olamina, Pirprofen, Prednazato, Prifelona, Ácido Prodólico, Proquazona, Proxazol, Citrato de Proxazol, Rimexolona, Romazarit, Salcolex, Salnacedin, Salsalato, Cloruro de Sanguinarium, Seclazona, Sermetacin, Sudoxicam, Sulindac, Suprofeno, Talmetacin, Talniflumato, Talosalato, Tebufelona, Tenidap, Tenidap Sódico, Tenoxicam, Tesicam, Tesimide, Tetridamina, Tiopinac, Pivalato de Tixocortol, Tolmetina, Tolmetina Sódica, Triclonide, Triflumidato, Zidometacina o Zomepirac Sódico.
9. La gelsolina según la reivindicación 6, que además comprende administrar un segundo agente para tratar la artritis reumatoidea.
10. La gelsolina según la reivindicación 9, en donde el segundo agente para tratar la artritis reumatoidea es hidroxiclороquina (Plaquenil), cloroquina (Aralen), metotrexato, sulfasalazina (Azulfidine), Leflunomida (Arava), azatioprina (Imuran), penicilamina (Cuprimine o Depen), sales de oro (Ridaura o Aurolate), minociclina (Dynacin o Minocin), ciclosporina (Neoral o Sandimmune) ciclofosfamida (Cytosan o Neosar), Etanercept (Enbrel), Infliximab (Remicade), Anakinra (Kineret) o Adalimumab (Humira).
11. Gelsolina opcionalmente en combinación con un segundo agente, para uso en un método para tratar a un sujeto en riesgo de una enfermedad inflamatoria que se sabe que presenta un nivel de gelsolina debajo de lo normal; en una cantidad eficaz para reducir el riesgo del sujeto de padecer una enfermedad inflamatoria.
12. Gelsolina opcionalmente en combinación con un segundo agente, para uso en un método para tratar a un sujeto en riesgo de una enfermedad inflamatoria que se sabe que presenta un nivel de gelsolina debajo del normal; en una cantidad eficaz para elevar el nivel de gelsolina en el sujeto por encima de un valor predeterminado.

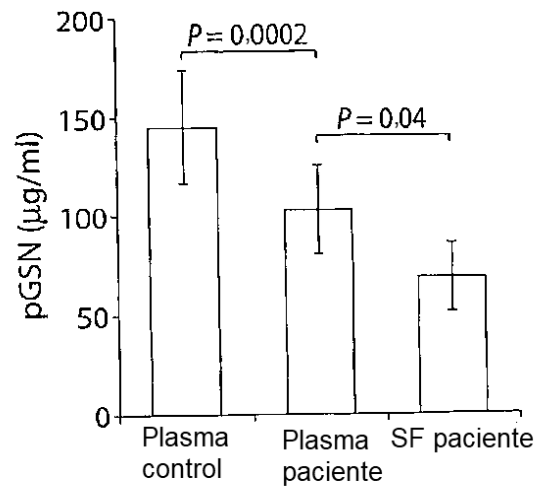


Fig. 1

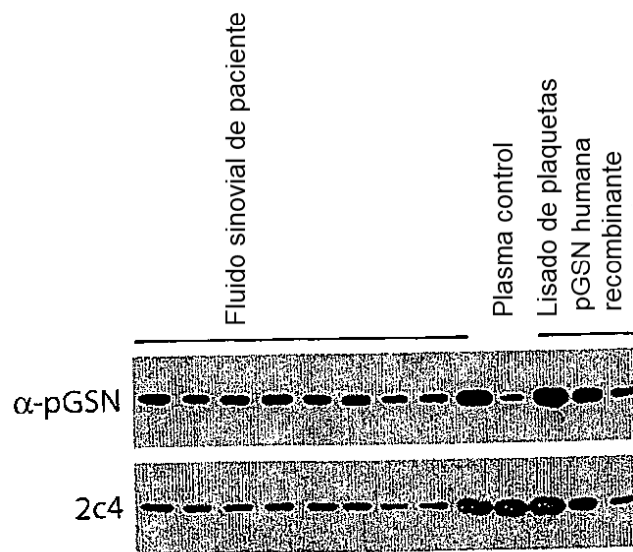


Fig. 2

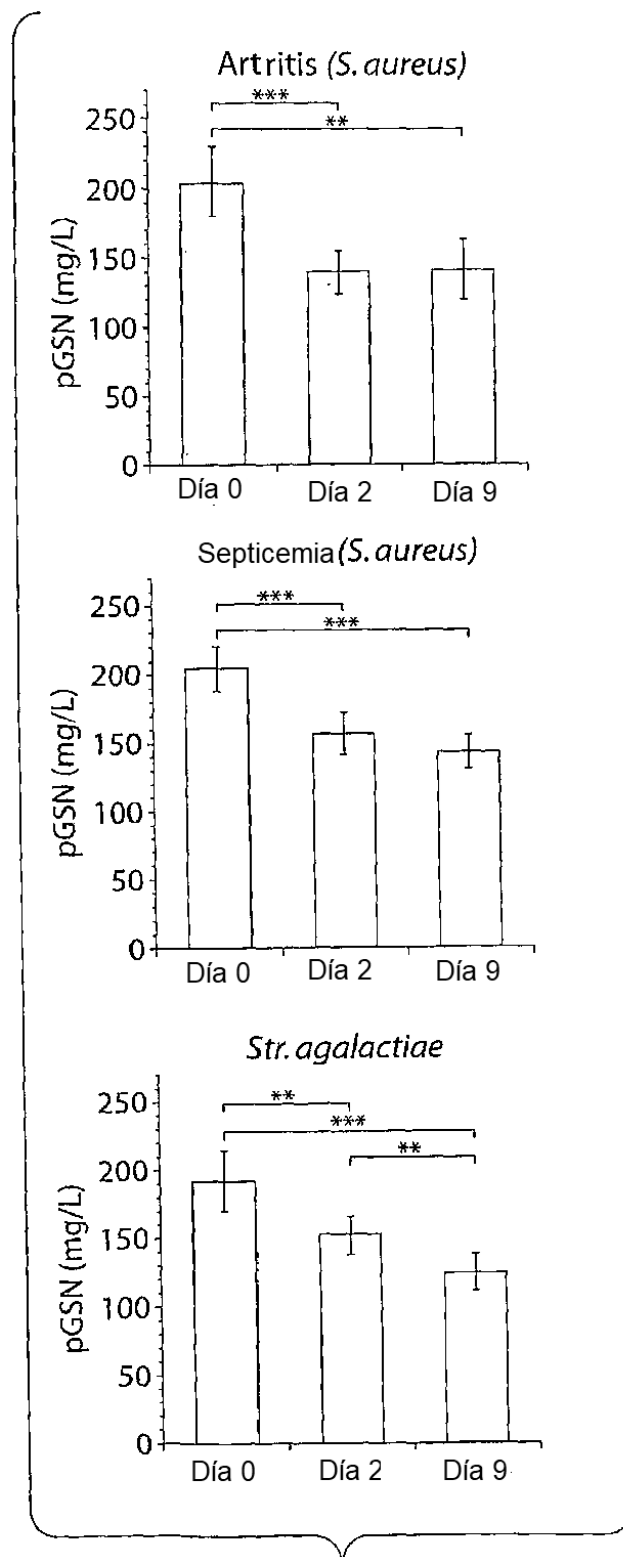


Fig. 3