

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 619**

51 Int. Cl.:

A61K 31/166 (2006.01)

A61K 31/167 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.11.2014 PCT/US2014/066435**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.05.2015 WO15077353**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.11.2014 E 14824959 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019 EP 3071196**

54 Título: **Métodos para reprimir la caquexia relacionada con el cáncer**

30 Prioridad:

20.11.2013 US 201361906738 P

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

05.11.2019

73 Titular/es:

**OHIO STATE INNOVATION FOUNDATION
(100.0%)**

**1524 North High Street
Columbus, OH 43201, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, CHING-SHIH;
BEKAI-SAAB, TANIOS;
GUTTRIDGE, DENIS;
MARCUCCI, GUIDO;
KULP, SAMUEL y
TSENG, YU-CHOU**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 729 619 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

Métodos para reprimir la caquexia relacionada con el cáncer

Reivindicación de prioridad

5 La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisional de EE. UU. n.º de serie 61/906.738, presentada el 20 de noviembre, 2013.

Antecedentes

10 La caquexia relacionada con el cáncer es un trastorno debilitante asociado con la pérdida de masa muscular, fatiga, debilidad y pérdida de apetito en pacientes con cáncer. La caquexia también está asociada con graves consecuencias clínicas, que incluyen debilidad muscular que puede provocar dificultades ambulatorias, y complicaciones pulmonares. La caquexia es un factor que contribuye significativamente a la muerte de los pacientes con cáncer.

15 La caquexia se caracteriza por una disminución de la masa del músculo esquelético que no es revertida por el apoyo nutricional convencional, que conduce a una pérdida de peso pronunciada que tiene un impacto grave sobre la morbilidad y la mortalidad del paciente. Aparece en más del 80% de pacientes con cáncer gástrico, pancreático y esofágico, en 70% de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello, y aproximadamente 60% de los pacientes con cáncer de pulmón, colorrectal y de próstata. Véase, por ejemplo, *Muscle* (2012) 3, 245-251. A pesar del impacto de la caquexia sobre la mortalidad en pacientes con cáncer, no se han desarrollado terapias eficaces para prevenir o impedir el avance de la caquexia. Por ejemplo, se calcula que más del 85% de los pacientes con cáncer pancreático, incluyendo los pacientes en estadio temprano, pierden un promedio del 14% del peso que tenían antes de la enfermedad. Véase, por ejemplo, *BMC Cancer*, 8 de julio de 2010, 10:363. Los pacientes con cáncer pancreático caquéxico a menudo están débiles y fatigados, y tienen menor tolerancia a la terapia y presentan unos resultados más adversos de la cirugía. En consecuencia, la caquexia es el impulsor principal de la mortalidad en el cáncer de páncreas. Por desgracia, la tasa de supervivencia de 5 años para el cáncer pancreático ha permanecido en 6% durante las últimas cuatro décadas, siendo la más baja entre todas las malignidades.

25 Con la llegada de nuevas herramientas para identificar factores caquéxicos y sus efectos sobre el músculo esquelético, en el campo de la caquexia se han realizado recientemente avances significativos en la comprensión de los mecanismos subyacentes que regulan la atrofia del músculo en el cáncer y otras enfermedades crónicas. Como resultado, en la actualidad se reconoce la forma en que las citoquinas y la inflamación sistémica regulan la atrofia del músculo mediante su acción sobre vías de señalización cruciales que operan desde el interior de la miofibra. Sin embargo, traducir estos descubrimientos en terapias eficaces está siendo un reto, y, antes de los aspectos descritos en la presente, se carecía de un tratamiento eficaz para la caquexia.

35 La masa del músculo esquelético es regulada, en parte, por la tasa relativa de síntesis de proteínas frente a la degradación de proteínas (Alamdari, N, *et al.*, *Acetylation and deacetylation - novel factors in muscle wasting*, *Metabolism*, enero de 2013, 62(1):1-11). La pérdida de masa del músculo esquelético aparece cuando la tasa de degradación de proteínas es mayor que la síntesis de proteínas. La acetilación y desacetilación de proteínas modifican a los factores de transcripción y a la transcripción de genes que pueden influir en la masa muscular, haciendo que las proteínas sean más o menos susceptibles a la degradación. Las histona acetilasas (HAT) y las histona desacetilasas (HDAC) desempeñan un papel en la regulación de la acetilación y desacetilación de proteínas.

40 Sin embargo, los efectos de estas moléculas sobre el desgaste muscular y la caquexia han demostrado ser contradictorios: las pruebas sugieren, por ejemplo, que el uso de inhibidores de HDAC (por ejemplo, tricostatina A (TSA)) produce una hiperacetilación que aumenta la degradación de proteínas, lo cual conduce a un mayor desgaste muscular y caquexia. Estos resultados contradictorios fueron descubiertos por Narver *et al.* (*Sustained improvement of spinal muscular atrophy mice treated with trichostatin A plus nutrition*, *Ann. Neurol.*, 2008, 64:465-470), aunque estos resultados han sido cuestionados porque el tratamiento con TSA también se acompañó de un apoyo nutricional agresivo (Alamdari *et al.*, en 5). Así, se cree que los inhibidores de HDAC aumentan, en lugar de disminuir, la caquexia, o su uso produce resultados contradictorios y opuestos.

50 El desarrollo y avance de la caquexia del cáncer están provocados por complejas respuestas patofisiológicas multifactoriales a los tumores en los tejidos musculares. Hasta la fecha, no están disponibles terapias aprobadas por la FDA para prevenir o impedir el avance del desgaste muscular en paciente caquéxicos. Hasta la fecha, varios fármacos en investigación, que se dirigen a diferentes aspectos de la patogénesis de la caquexia, se han sometido a ensayos humanos, aunque con diferentes resultados clínicos. Por ejemplo, mientras que BYM38 de Novartis (bimagrumab), un mAb que bloquea la unión de la miostatina y la activina a receptores de activina de tipo II, recibió la denominación de terapia innovadora por la FDA, el enobosarm, un fármaco para el desgaste muscular de GTx, un modulador del receptor de andrógenos selectivo, no superó los ensayos clínicos en las últimas fases.

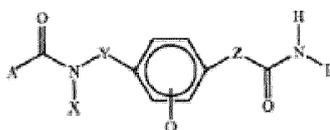
55 La acetilación de las histonas nucleares desempeña un papel importante en la regulación de la transcripción génica controlando el empaquetamiento nucleosómico del ADN. La desacetilación de las histonas provoca un empaquetamiento más compacto de los nucleosomas y la represión transcripcional, debido a un acceso limitado de

los factores de transcripción a las dianas de ADN. La acetilación de las histonas relaja las estructuras del nucleosoma, proporcionando mayor acceso a los factores de transcripción. El equilibrio entre la desacetilación y la acetilación de las histonas es modulado por las histona desacetil-transferasas (HDAC) y las histona acetil-transferasas (HAT). Un equilibrio anómalo de estos factores se correlaciona con un crecimiento celular anómalo y varias formas de cáncer, tal como se analiza en la patente de EE. UU. n.º 8.318.808. Los inhibidores de HDAC, en particular, cambian el equilibrio entre la acetilación y la desacetilación, lo cual provoca la detención del crecimiento, la diferenciación y la apoptosis en muchos tipos de células tumorales. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 8.318.808.

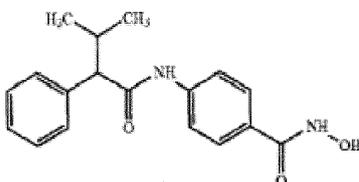
Se han identificado 18 HDAC en seres humanos y se han caracterizado como dependientes del cinc o dependientes de la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) (Discov. Med., 10(54):462-470, noviembre de 2010) y están asociadas con las siguientes clases: clase I (HDAC 1, 2, 3, y 8); clase II (HDAC 4, 5, 6, 7, 9, y 10); clase III (sirtuinas 1-7 (SIRT)); y clase IV (HDAC 11).

El documento WO 2007/147868 describe un inhibidor de HDAC6 para su uso en un método para reducir la trofia del músculo y la caquexia asociada con el cáncer.

De particular interés en la presente son los inhibidores de HDAC descritos en la patente de EE. UU. n.º 8.318.808 y estos se basan, por ejemplo, en ácidos grasos acoplados con motivos quelantes de Zn^{2+} a través de conectores de Ω -aminoácidos aromáticos. En diversos aspectos, los inhibidores de HDAC pueden tener la fórmula:



en la que X se selecciona de H y CH₃; Y es (CH₂)_n, en el que n es 0-2; Z se selecciona de (CH₂)_m, en el que m es 0-3 y (CH)₂; A es un grupo hidrocarbilo; B es un grupo o-aminofenilo o hidroxilo; y Q es un halógeno, hidrógeno o metilo. Un inhibidor de HDAC, en concreto (N-hidroxi-4-(3-metil-2-fenilbutirilamino)benzamida), también se denomina AR-42. La estructura de AR-42 es la siguiente:



El AR-42 es un inhibidor de desacetilasa de amplio espectro de proteínas de histona y proteínas que no son de histona que muestra mayor potencia y actividad en tumores sólidos y malignidades hematológicas, cuando se compara con el vorinostato (es decir, SAHA). Véase, por ejemplo, Lu Y.S., *et al.*, Efficacy of a novel histone deacetylase inhibitor in murine models of hepatocellular carcinoma, *Hepatology*, octubre de 2007, 46(4):1119-1130; Kulp S.K., *et al.*, Antitumor effects of a novel phenylbutyrate-based histone deacetylase inhibitor, (S)-HDAC-42, in prostate cancer, *Clin. Cancer. Res.*, 1 de septiembre de 2006, 12(17):5199-5206.

El AR-42 también puede poseer otros mecanismos independientes de histonas que contribuyen a su perfil terapéutico. Véase, por ejemplo, Chen M.C., *et al.*, Novel mechanism by which histone deacetylase inhibitors facilitate topoisomerase II α degradation in hepatocellular carcinoma cells, *Hepatology*, enero de 2011, 53(1):148-159; Chen C.S., *et al.*, Histone acetylation-independent effect of histone deacetylase inhibitors on Akt through the reshuffling of protein phosphatase 1 complexes, *J. Biol. Chem.*, 18 de noviembre de 2005, 280(46):38879-38887; Yoo C.B., *et al.*, Epigenetic therapy of cancer: past, present and future, *Nat. Rev. Drug Discov.*, enero de 2006, 5(1):37-50.

El AR-42 posee un demostrado efecto inhibidor en tumores que incluyen, pero no se limitan a tumores de mama, próstata, ovario, célula sanguínea (por ejemplo, linfoma, mieloma y leucemia), hígado y cerebro. Véase, por ejemplo, Mims A., *et al.*, Increased anti-leukemic activity of decitabine via AR-42-induced upregulation of miR-29b: a novel epigenetic-targeting approach in acute myeloid leukemia, *Leukemia*, 26 de noviembre del 2012, doi: 10.1038/leu.2012.342. [Epub en imprenta]; Burns S.S., *et al.*, Histone deacetylase inhibitor AR-42 differentially affects cell-cycle transit in meningeal and meningioma cells, potently inhibiting NF2-deficient meningioma growth, *Cancer Res.*, 15 de enero de 2013, 73(2):792-803; Lu Y.S., *et al.*, Radiosensitizing effect of a phenylbutyrate-derived histone deacetylase inhibitor in hepatocellular carcinoma, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1 de enero de 2012, 83(2); Zimmerman B., *et al.*, Efficacy of novel histone deacetylase inhibitor, AR42, in a mouse model of, human T-lymphotropic virus type 1 adult T cell lymphoma, *Leuk. Res.*, noviembre de 2011, 35(11):1491-1497; Zhang S., *et al.*, The novel histone deacetylase inhibitor, AR-42, inhibits gp130/Stat3 pathway and induces apoptosis and cell cycle arrest in multiple myeloma cells, *Int. J. Cancer*, 1 de julio de 2011, 129(1):204-213.

Sumario

Los aspectos descritos en la presente proporcionan métodos para reprimir la caquexia en un mamífero con cáncer, que comprende administrar el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42 a dicho mamífero. Un aspecto proporciona un método para reprimir la caquexia en un mamífero con cáncer, mediante la administración del inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42 a dicho mamífero en una cantidad eficaz para mantener sustancialmente el peso del mamífero, comparado con un mamífero que no recibe el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42. En otro aspecto, el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42 se administra a un mamífero con cáncer en una cantidad eficaz para mantener sustancialmente al menos aproximadamente 90% del peso de dicho mamífero a lo largo de un periodo de tiempo de al menos 15 días. En otro aspecto, el mamífero con cáncer presenta al menos un tumor, y el volumen tumoral no se reduce en más del 6% durante los primeros 15 días tras el tratamiento con AR-42.

Otros aspectos descritos en la presente proporcionan métodos para reprimir la caquexia en un mamífero mediante la administración de AR-42 a un mamífero con cáncer, en los que la expresión de múltiples mediadores de la atrofia del músculo (por ejemplo, impulsores de procaquexia, tales como IL-6, IL-6R α , LIF, MuRF1, atrogina-I) en la caquexia del cáncer se reduce, comparado con un mamífero que padece cáncer que no se trata con AR-42.

Otros aspectos proporcionan métodos para reprimir la caquexia en un mamífero mediante la administración de AR-42 a un mamífero con cáncer, en los que la pérdida de tejido adiposo y la reducción en el tamaño de las fibras del músculo esquelético inducidas por la caquexia se restablece sustancialmente, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.

Tal como se describe en la presente, AR-42 muestra eficacia *in vivo* para reprimir, reducir o bloquear el desgaste muscular y para prolongar la supervivencia en modelos animales de caquexia del cáncer. Además, el efecto del AR-42 sobre la caquexia relacionada con el cáncer es independiente de los efectos del AR-42 para reducir la carga tumoral.

Figuras

La figura 1A muestra un ejemplo de la represión de la caquexia inducida por cáncer en ratones que portan tumores C-26, y muestra los cambios en el peso total (*izquierda*, incluido el tumor) y el peso corporal (*centro*, excluyendo al tumor) durante el estudio de 15 días en ratones sin tumores tratados con vehículo (control) frente a ratones que portan tumores tratados con vehículo (vehículo) o con AR-42 oral a 50 mg/kg en días alternos (AR-42). Las flechas indican los momentos del tratamiento con AR-42. *Derecha*, falta de efecto represor de AR-42 sobre el crecimiento tumoral en ratones que portan tumores C-26. Los datos se presentan como promedios \pm D.E. Valores de *P*: a, 0,045; b, 0,0027; c, 0,049; d, 0,0048.

La figura 1B muestra fotografías de ratones representativos con cargas tumorales para cada grupo, que demuestran el efecto terapéutico de AR-42 sobre la caquexia del cáncer.

La figura 1C muestra un ejemplo de consumo de dieta diaria promedio en los tres grupos de tratamiento durante el desarrollo del estudio. Los datos se presentan como promedios \pm D.E. (*n* = 8).

La figura 1D muestra ejemplos de los efectos de AR-42 sobre el peso de los músculos de la pata trasera, que incluyen el gastrocnemio, tibial anterior, y cuádriceps (valores de *P*: a, <0,001; b, 0,0042; c, 0,0046) en ratones sin tumores y ratones que portan tumores, comparados con ratones sin tumores y ratones que portan tumores tratados con vehículo (*n* = 8).

La figura 1E muestra ejemplos de los efectos de AR-42 sobre el corazón, tejido adiposo y bazo (valores de *P*: a, <0,001; b, 0,0059; c, 0,001; d, 0,009) en ratones sin tumores y ratones que portan tumores, comparados con ratones sin tumores y ratones que portan tumores tratados con vehículo (*n* = 8).

La figura 2A muestra ejemplos de conservación del tamaño de las fibras musculares en ratones que portan tumores C-26, y a la izquierda se muestran fotomicrografías de secciones teñidas con H&E del músculo gastrocnemio en ratones sin tumores control y ratones que portan tumores tratados con vehículo o con AR-42. Las barras de escala son de 100 μ m, y a la derecha, las áreas de corte transversal de fibras musculares del músculo gastrocnemio se representan como un histograma de frecuencias con una significancia de *P* < 0,001. Los datos se presentan como promedios \pm D.E.

La figura 2B muestra ejemplos de curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para ratones que portan tumores tratados con vehículo, vorinostato (50 mg/kg, p.o., a diario), romidepsina (0,6 mg/kg, i.p., dos veces semanales), o AR-42 (50 mg/kg, p.o., en días alternos). La supervivencia se define como el momento en que la pérdida de peso corporal (excluyendo los tumores) alcanza 20% del peso corporal de partida, lo cual actúa como criterio humanitario para la retirada del estudio (*, *P* < 0,001, vehículo frente a AR-42; *n* = 8).

La figura 2C muestra ejemplos de fotografías de ratones representativos de cada grupo que demuestran el efecto terapéutico de AR-42 frente a vorinostato y romidepsina sobre la caquexia del cáncer en ratones que portan tumores, según se manifiesta mediante la postura, el pelo y el estado del cuerpo.

5 La figura 2D muestra ejemplos de niveles de expresión de ARNm relativos de atrogina-1//MAFbx y MuRF1 en el músculo esquelético de ratones sin tumores tratados con vehículo (n = 6) y ratones que portan tumores tratados con AR-42 (n = 8), vorinostato (n = 8), o romidepsina (n = 5), comparados con los de ratones que portan tumores tratados con vehículo (n = 8) a los 15 días después de la inyección de las células tumorales. Los datos se presentan como promedios ± D.E. Valores de P: a, <0,001; b, 0,016; c, 0,0063.

La figura 3A muestra ejemplos de los efectos del AR-42 sobre los niveles de intermedios asociados con la glicolisis y vías alternativas del metabolismo de la glucosa.

10 La figura 3B muestra ejemplos de los efectos del AR-42 sobre el metabolismo de la glucosa en el músculo gastrocnemio de ratones sin tumores control y ratones que portan tumores (n = 8 para cada grupo). Los ratones que portan tumores se trataron con vehículo o con AR-42 (50 mg/kg, p.o., en días alternos), comenzando en el día 6 después de la inyección de las células tumorales y finalizando el día 17. Los ratones control sin tumores se trataron con vehículo o con AR-42 en paralelo. Los datos se presentan en diagramas de cajas. La parte inferior y superior de la caja representan el primer y el tercer cuartil, y el símbolo "+" y la banda dentro de la caja indican los valores del promedio y la mediana, respectivamente. Los extremos de las prolongaciones representan los valores máximo y mínimo en cada grupo.

15 La figura 4 demuestra que AR-42 bloquea los cambios inducidos por la caquexia en los niveles de aminoácidos libres y metabolitos de aminoácidos implicados en la regulación de la neurotransmisión, y biomarcadores de la resistencia a la insulina en los músculos de ratones que portan tumores C-26. Se generaron muestras para el análisis a partir del experimento descrito con respecto a las figuras 3A y 3B. Los datos se presentan en diagramas de cajas, tal como se describe con respecto a las figuras 3A y 3B.

20 La figura 5A muestra ejemplos de los efectos (parte superior) de AR-42 sobre los niveles de las citoquinas procaquexia IL-6 (izquierda) y LIF (derecha) en el suero de ratones sin tumores frente a ratones que portan tumores C-26, y (parte inferior) análisis de qPCR de los efectos de AR-42 sobre la expresión del ARNm de *IL-6Ra* en el músculo esquelético de ratones sin tumores frente a ratones que portan tumores C-26. Los datos se presentan como promedios ± D.E. Valores de P: a, <0,001; b, 0,006; c, 0,012 (n = 3). Los ratones se trataron como se ha descrito con respecto a la figura 3.

25 La figura 5B muestra ejemplos de análisis de componentes principales de datos de secuencia de ARN (izquierda) y diagrama de Venn (derecha) que muestran genes expresados diferencialmente entre los cuatro grupos de tratamiento. TF, sin tumores; T, portan tumores; veh, tratados con vehículo; AR, tratados con AR-42. Los ratones se trataron como se ha descrito con respecto a la figura 3.

30 La figura 5C muestra ejemplos de análisis de los efectos de AR-42 sobre los niveles de transcritos de seis impulsores procaquexia clave mediante secuenciación de ARN (valores de P: a, 0,024; b, 0,028; c, 0,015; d, 0,007; e, 0,024; f, 0,026; g, 0,01; h, 0,012; i, <0,001; j, 0,014; n = 3). Los ratones se trataron como se ha descrito con respecto a la figura 3.

35 La figura 5D muestra ejemplos de análisis de los efectos de AR-42 sobre los niveles de transcritos de seis impulsores procaquexia clave mediante qPCR en el músculo esquelético de ratones en los cuatro grupos de tratamiento (*, P < 0,001; n = 6). Los datos se presentan como promedios ± D.E. Los ratones se trataron como se ha descrito con respecto a la figura 3.

40 La figura 6A muestra la represión de la caquexia del cáncer en ratones que portan tumores C-26 mediante el retraso en el tratamiento con AR-42 hasta los estadios tardíos del tumor y la caquexia. Se muestran los cambios en el peso corporal (excluyendo el tumor) a lo largo del estudio de 18 días en ratones control sin tumores tratados con vehículo (T/F, Veh) y ratones que portan tumores tratados con vehículo (T, Veh) frente a ratones tratados con AR-42 oral (mostrado a la izquierda) comenzando en el día 6 (T, AR42/D6), el día 10 (T, AR42/D10), o el día 12 (T, AR42/D12). Valores de P: a, 0,0015; b, 0,023 (n = 8). Las flechas indican los momentos para el inicio del tratamiento con AR-42.

45 Los datos se presentan como promedios. Para que la presentación sea más clara no se muestran las barras de D.E. para cada punto datos. A la derecha aparecen los resultados que muestran la falta de efecto represor de AR-42 sobre el crecimiento tumoral en ratones que portan tumores C-26 en el experimento de tratamiento retrasado. Los datos se presentan como promedios ± D.E. (n = 8).

50 La figura 6B muestra ejemplos de fotografías que demuestran el efecto terapéutico de AR-42 sobre la caquexia del cáncer en ratones que portan tumores, a pesar del tratamiento retrasado, según se manifiesta mediante la postura normal, el pelo suave y un mejor estado del cuerpo, a pesar de la gran carga tumoral.

55 La figura 6C muestra ejemplos de los efectos del tratamiento con AR-42, iniciado en diferentes estadios de avance de la enfermedad tal como se describe en la figura 6A, sobre el peso de los músculos de la pata trasera, que incluyen el músculo gastrocnemio, tibial anterior, y cuádriceps, en ratones que portan tumores C-26. Los datos se presentan como promedios ± D.E. (n = 8; *, P < 0,001).

La figura 6D muestra ejemplos de los efectos del AR-42 sobre la fuerza de asir en ratones que portan tumores con relación a controles que portan tumores y sin tumores tratados con vehículo en el día 15 y el día 16. Los datos se

presentan como promedios \pm D.E. (n = 8; valores de P: a, 0,01; b, 0,022; c, <0,001; d, 0,0019). N, Newtons.

5 La figura 7 demuestra que el AR-42 protege frente al desgaste muscular inducido por cáncer en el modelo de ratón LLC de caquexia. Se muestran ejemplos de efectos de AR-42 frente al vehículo sobre la masa de los músculos de la pata trasera, que incluyen el gastrocnemio, tibial anterior, y cuádriceps en ratones sin tumores y ratones que portan tumores, comparados con ratones que portan tumores tratados con vehículo. Los ratones se trataron de la misma manera que se describe en la figura 1A, excepto que los ratones se sacrificaron en el día 20 después de la inyección de las células tumorales. Los datos se presentan como promedios \pm D.E. (n = 8).

La figura 8 muestra ejemplos de secuencias de cebadores usados para la RT-PCR a tiempo real.

10 La figura 9 muestra ejemplos de análisis de vías de ingenuidad ("Ingenuity Pathway Analysis", IPA) (QIAGEN) de genes expresados diferencialmente (≥ 4 veces) relacionados con la enfermedad muscular o ciertas funciones entre ratones que portan tumores C-26 tratados con AR-42 y con vehículo (n = 6).

La figura 10 muestra ejemplos de análisis de perfiles de citoquinas de muestras de suero procedentes de ratones sin tumores y ratones que portan tumores C-26 tratados con vehículo o con AR-42 (promedios \pm D.E.; n = 3 para cada grupo).

15 La figura 11 muestra ejemplos de análisis de secuenciación de ARN de genes expresados diferencialmente (≥ 4 veces) en músculos procedentes de ratones que portan tumores C-26 tratados con AR-42 frente a los tratados con vehículo (n = 3).

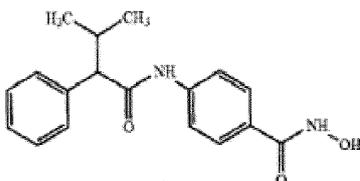
Descripción detallada

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

20 Los aspectos descritos en la presente describen los efectos de AR-42 oral para atenuar la pérdida de peso y la atrofia de los músculos esqueléticos inducidas por caquexia y para prolongar la supervivencia en un modelo de tumor de colon 26 (C-26) en ratones CD2F₁ de la caquexia del cáncer. El modelo de caquexia del ratón CD2F₁ se describe, por ejemplo, en BMC Cancer, 8 de julio 2010, 10:363. El efecto anticaquexia observado se asoció a la capacidad de AR-42 de reprogramar el metabolismo celular y de infrarregular los niveles de IL-6 en tejidos musculares enfermos para reprimir el desgaste muscular y otros efectos relacionados con la caquexia, independientemente de los efectos del AR-42 para reducir la carga tumoral.

25 Los aspectos descritos en la presente describen los efectos de AR-42 oral para atenuar la pérdida de peso y la atrofia de los músculos esqueléticos inducidas por caquexia y para prolongar la supervivencia en un modelo de tumor de carcinoma pulmonar de Lewis ("Lewis Lung Carcinoma", LLC) de la caquexia del cáncer. Véase, por ejemplo, Expert. Opin. Drug Discov., 1 de noviembre de 2009, 4(11):1145-1155.

30 En otro aspecto, los métodos descritos en la presente utilizan AR-42, también conocido como (S)-N-hidroxi-4-(3-metil-2-fenilbutanamido)benzamida, que tiene la siguiente estructura química:



35 En otro aspecto, AR-42 incluye las sales, solvatos, hidratos, formas anhidras, cocrystalinas y otras formas cristalinas y combinaciones. El AR-42 puede formularse en una diversidad de formas de dosificación que tienen una mayor estabilidad, mayor biodisponibilidad, liberación sostenida y otras propiedades.

40 En el modelo de tumor de colon 26 (C-26) de la caquexia del cáncer, un fragmento del tumor C26 se injerta en ratones BALB/c isogénicos y los ratones desarrollan un carcinoma indiferenciado. La atrofia de los músculos esqueléticos (medida mediante la fuerza muscular y la resistencia a la fatiga) se correlaciona con los cambios bioquímicos observados, y el modelo se ha descrito como un "modelo experimenta estandarizado correcto para la investigación de la caquexia del cáncer", BMC Cancer, 8 de julio de 2010, 10:363.

45 En un aspecto, se proporcionan métodos para reprimir la caquexia en un mamífero con cáncer, mediante la administración del inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42 a dicho mamífero en una cantidad eficaz para mantener sustancialmente el peso del mamífero, comparado con un mamífero que no recibe el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42.

En otro aspecto, el peso del mamífero no se reduce en más de aproximadamente 6% después de aproximadamente los primeros 15 días tras el tratamiento con AR-42.

En otro aspecto, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer pancreático, de colon, cabeza, cuello, gástrico y esofágico. En otro aspecto, el mamífero es un ser humano.

5 El AR-42 puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg del mamífero y puede administrarse al menos una vez diaria. En otro aspecto, el AR-42 se administra dos veces diarias en una cantidad de aproximadamente 50 mg/kg de peso del mamífero.

En otro aspecto, los niveles de IL-6 se reducen en aproximadamente 56%, comparado con un mamífero que no recibe AR-42. En otro aspecto, los niveles del factor inhibidor de leucemia ("leukemia inhibitory factor", LIF) se reducen en aproximadamente 88%, comparado con un mamífero que no recibe AR-42. En otro aspecto, la expresión del ARNm de atrogina-1 se restablece a los niveles basales, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.

10 En un aspecto, la expresión del ARNm de MuRF1 se restablece a los niveles basales, comparado con un mamífero que no recibe AR-42. En otro aspecto, el aumento inducido por la caquexia del ARNm de IL-6R α se reduce en aproximadamente 85%, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.

15 En otro aspecto, la pérdida inducida por la caquexia de tejido adiposo se restablece sustancialmente, comparado con un mamífero que no recibe AR-42. En otro aspecto, la reducción inducida por la caquexia en el tamaño de las fibras del músculo esquelético es restablecida por el AR-42, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.

20 También se describen métodos para mantener el peso del músculo esquelético en un mamífero que padece cáncer, que comprenden administrar el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42 a dicho mamífero en una cantidad eficaz para prolongar sustancialmente la supervivencia del mamífero, comparado con un mamífero que no recibe el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42.

25 En otro aspecto, se describen métodos para prolongar la supervivencia de un mamífero que padece cáncer, que comprenden administrar el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42 al dicho mamífero en una cantidad eficaz para prolongar sustancialmente la supervivencia del mamífero, comparado con un mamífero que no recibe el inhibidor de HDAC de clase 1 y 2b AR-42. En otro aspecto, el mamífero sobrevive al menos aproximadamente 21 días después de la administración de AR-42 al mamífero.

30 En otro aspecto, la administración de AR-42 atenúa la pérdida de peso y la atrofia de los músculos esqueléticos inducidas por caquexia y prolonga la supervivencia en mamíferos. Aunque no se pretenda limitación alguna por la teoría, se cree que el efecto anticaquexia está asociado con la capacidad de AR-42 de reprogramar el metabolismo celular y de irarregular los niveles de IL-6 en tejidos musculares enfermos para reprimir el desgaste muscular y otros efectos relacionados con la caquexia, independientemente de los efectos del AR-42 para reducir la carga tumoral.

35 En un aspecto, los efectos anticaquexia de AR-42 se midieron mediante una diversidad de técnicas, que incluyen análisis de qRT-PCT de la expresión de mediadores establecidos de la atrofia del músculo en el cáncer (por ejemplo, Cancer Cell, 4 de noviembre de 2008, 14(5):369-381), la medición de los niveles de citoquinas antiinflamatorias en el suero y tejidos del músculo gastrocnemio (Am. J. Pathol., marzo de 2011, 178(3):1059-1068), el análisis del perfil metabólico (J. Cachexia Sarcopenia Muscle, junio de 2013, 4(2):145-155), la medición de los niveles de aminoácidos libre en tejido muscular (J. Cachexia Sarcopenia Muscle, enero de 2013, 4(2):145-155; Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab., febrero de 2007, 292(2):E501-512), la medición de la "firma glicolítica" del músculo caquético mediante la medición de los niveles de bioquímicos asociados a la vía de la glicólisis (Cachexia Sarcopenia Muscle, junio de 2013, 4(2):145-155), la medición del nivel de almacenamiento de glucógeno en el tejido del músculo caquético (Cell Death Differ., octubre de 2012, 19(10):1698-1708), el análisis del metabolismo de aminoácidos de cadena ramificada en el músculo caquético (Int. J. Biochem. Cell Biol., octubre de 2013, 45(10):2163-2172), y la medición de los niveles de 2-hidroxiacetoacido y oxalato en el músculo caquético (PLoS One, 28 de mayo de 2010, 5(5):e10883; Int. J. Cancer, 1 de febrero de 2010, 126(3):756-763).

45 El inhibidor de HDAC AR-42, según se describe en la presente, puede administrarse a un paciente que necesite tratamiento (por ejemplo, un paciente que padece cáncer y muestre síntomas de caquexia). En un aspecto, ciertos cánceres están particularmente asociados con la caquexia, e incluyen, pero no se limitan a cáncer pancreático, gástrico, de cabeza, cuello y esofágico ("cánceres asociados a caquexia"). En un aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 se administra a un paciente que necesita tratamiento.

50 Tal como se emplea en la presente, el término "sustancialmente" se refiere a "la mayor parte", a una "mayoría", o al menos 50%, 60%, 70%, 80%, y 90% del peso o la cantidad, por ejemplo, en un mamífero que no padece cáncer.

55 Los términos "tratar", "reducir", "reprimir", "inhibir", "prevenir" o términos similares, tal como se emplean en la presente, no significan necesariamente 100% o un tratamiento o prevención completos. Por el contrario, estos términos se refieren a diversos grados de tratamiento o prevención de una enfermedad concreta (por ejemplo, 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, o 1%), según se reconoce en la técnica como beneficiosos.

- Los términos "tratamiento" o "prevención" también se refieren a retrasar la aparición de una enfermedad durante un periodo de tiempo o retrasar su aparición indefinidamente. El término "tratamiento" o "tratar" se refieren a administrar un fármaco o un tratamiento a un paciente o recetar un fármaco a un paciente (por ejemplo, por un médico, enfermero u otro profesional médico), en el que el paciente o una tercera persona (por ejemplo, cuidador, miembro de la familia o profesional sanitario) administra el fármaco o el tratamiento. La expresión "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco o tratamiento (por ejemplo, el inhibidor de HDAC de clase I y IIb AR-42) que tratará, reducirá, reprimirá, inhibirá, evitará una o más enfermedades o trastornos (por ejemplo, caquexia) o prolongará la supervivencia de un mamífero con una enfermedad o trastorno.
- El término "prolongar" o "prolongación", tal como se emplea en la presente, se refiere a aumentar el tiempo de supervivencia de un mamífero que recibe un tratamiento, comparado con un mamífero que no recibe tratamiento. En este aspecto, una "supervivencia prolongada" puede indicar aumentar el tiempo de vida del mamífero, por ejemplo, en 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% del tiempo de vida de un mamífero que no padece cáncer.
- El inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente puede administrarse por vía oral, parenteral (IV, IM, depot-IM, SQ, y depot-SQ), sublingual, intranasal (inhalación), intratecal, tópica o rectal. Las formas de dosificación conocidas por los expertos en la técnica resultan adecuadas para la administración del inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente.
- En un aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 se administra en una forma de dosificación oral (por ejemplo, píldora, cápsula, comprimido oblongo o comprimido, etc.) a un paciente diagnosticado con un cáncer asociado a caquexia (por ejemplo, cáncer pancreático, de vejiga, de cabeza y cuello).
- El inhibidor de HDAC AR-42 puede formularse en preparaciones farmacéuticas adecuadas, tales como comprimidos, cápsulas o elixires para la administración oral, o en disoluciones o suspensiones estériles para la administración parenteral. El inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente puede formularse en composiciones farmacéuticas usando técnicas y procedimientos muy conocidos en la técnica.
- En un aspecto, de aproximadamente 0,1 a 1000 mg, de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 mg del inhibidor de HDAC AR-42, o un éster o sal fisiológicamente aceptable, puede mezclarse con un vehículo, portador, excipiente, tampón, conservante, estabilizante, aroma, etc., fisiológicamente aceptables en una forma de dosificación unitaria, según se denomina en la práctica farmacéutica aceptada. La cantidad de sustancia activa en las composiciones o preparaciones que comprenden el inhibidor de HDAC AR-42 es de tal forma que se obtiene una dosificación adecuada en el intervalo indicado.
- En otro aspecto, las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, y cada dosificación contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mg del ingrediente activo. La expresión "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos humanos y otros mamíferos, y cada unidad contiene una cantidad predeterminada del material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.
- En un aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 se mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para formar composiciones. Tras el mezclado o la adición del compuesto o compuestos, la mezcla resultante puede ser una disolución, una suspensión, una emulsión o similares. También pueden usarse suspensiones liposómicas como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas pueden prepararse según métodos conocidos por los expertos en la técnica. La forma de la mezcla resultante depende de una serie de factores, que incluyen el modo previsto de administración y la solubilidad del compuesto en el vehículo o portador seleccionado. En un aspecto, la concentración eficaz es suficiente para disminuir o mejorar al menos un síntoma de la enfermedad, el trastorno o la afección que se está tratando y pueden ser determinada de modo empírico.
- En otro aspecto, AR-42 reprime el desgaste muscular en la caquexia, tal como se demuestran en los modelos de tumor C-26 y LLC de caquexia. Las citoquinas proinflamatorias IL-6 y TNF representan los principales factores procaquécicos en los dos modelos (31, 32). Un análisis del perfil de citoquinas indica que, aunque AR-42 no produce ningún efecto sobre los niveles de TNF en suero en ratones que portan tumores C-26, sí reduce los niveles en suero de IL-6 y la expresión del ARNm de IL-6R α intramuscular. No obstante, estos ratones que portan tumores C-26 tratados con AR-42 siguen mostrando unos niveles elevados de IL-6 en suero y de ARNm de IL-6R α , comparado con ratones sin tumores, lo cual sugiere que una menor señalización de IL-6 no es la única responsable de la supresión mediada por AR-42 del desgaste muscular.
- Desde el punto de vista del mecanismo, el efecto anticaquécico de AR-42 es exclusivo, puesto que los inhibidores de HDAC ácido valproico y tricostatina-A no pueden revertir la pérdida de músculo en ratones que portan tumores C-26, a pesar de su capacidad para modular el eje de miostatina/folistatina (33). De modo similar, los descubrimientos de los inventores demuestran que, a diferencia de AR-42, el vorinostato y la romidepsina no son eficaces para atenuar la pérdida de peso inducida por caquexia en el modelo de C-26. Esta discrepancia se atribuye a la mayor capacidad de AR-42 para reprimir la expresión del ARNm de las E3 ligasas atrogina-1 y MuRF1 en los músculos de

- ratones que portan tumores, lo cual puede reflejar diferencias en sus respectivas capacidades para modular la expresión génica global en músculos esqueléticos. Pruebas recientes sugieren una conexión de mecanismos entre la expresión de factores de transcripción/acetilación aberrante y el desgaste muscular en músculos enfermos, lo cual conduce a la expresión desregulada de los genes asociados a la caquexia [análisis: (34)]. Se ha indicado que la actividad histona acetiltransferasa de p300/CBP regula diferencialmente la actividad transcripcional y la localización nuclear de factores de transcripción de la familia Foxo en músculos esqueléticos (35), y que las HDAC de clase I, en especial HDAC1, desempeñan un papel crucial en la mediación de la atrofia del músculo inducida por la privación de nutrientes o la falta de uso de los músculos, por medio de la regulación de la expresión de Foxo y sus dianas atrogina-1 y MuRF1 (22).
- 5 El análisis de la secuencia de ARN reveló la capacidad de AR-42 para revertir el cambio en la expresión génica inducido por el tumor. Se identificaron un total de 677 genes que son expresados diferencialmente en 4 veces o más entre ratones que portan tumores tratados con AR-42 y tratados con vehículo. Es posible que este gran número de genes expresados diferencialmente pueda surgir del efecto de AR-42 sobre la actividad transcripcional y/o la expresión de múltiples reguladores/factores de transcripción. Además de Foxo1, AR-42 también modula la expresión de muchos otros reguladores/factores de transcripción, que incluyen C/EBP δ , Fos, Jun-b, DAXX, ERN1, HIF3 α , MAFF, MAFK, y Mef2c (figura 11). Entre estos factores de transcripción, la importancia de Mef2c en el desarrollo del músculo esquelético, cardíaco y liso está bien documentada (36), y se ha implicado a la cascada de señalización de AP-1 en el desgaste muscular asociado a cáncer (37).
- 10 Se ha propuesto que los músculos caquéticos en ratones que portan tumores C-26 muestran una fisiología del tumor de Warburg, que se caracteriza por una alta tasa de glicólisis (38). Los datos metabólicos de los inventores revelan una pronunciada reprogramación del metabolismo del músculo esquelético en ratones que portan tumores C-26, que fue completamente revertida por AR-42. Además, merece la pena mencionar el efecto supresor de AR-42 sobre la producción de 2-hidroxiacetilacetato y optalmato, que son biomarcadores para la resistencia a la insulina (17) y el estrés oxidativo (18), puesto que un gran número de pruebas han asociado la resistencia a la insulina (39, 40) y el estrés oxidativo (41) con la caquexia.
- 15 Desde el punto de vista del mecanismo, la capacidad de AR-42 para mantener la integridad de los músculos esqueléticos en ratones que portan tumores surge de sus efectos diversos y acumulativos sobre los cambios inducidos por el tumor en múltiples programas transcripcionales y fenotipos metabólicos. Desde el punto de vista terapéutico, es importante que la administración oral de AR-42 en un estadio tardío del crecimiento tumoral sigue siendo eficaz para frenar el avance del desgaste muscular en ratones que portan tumores C-26. Conjuntamente, estos descubrimientos demuestran que pueden usarse inhibidores de HDAC (por ejemplo, AR-42) como parte de una estrategia terapéutica exhaustiva para la caquexia del cáncer, tal como se describe en la presente.
- 20 Los vehículos o portadores farmacéuticos adecuados para la administración del inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente incluyen cualquier vehículo adecuado para el modo concreto de administración. Además, los materiales activos también pueden mezclarse con otros materiales activos que no alteren la acción deseada, o con materiales que suplementan la acción deseada o que tienen otra acción. Los compuestos pueden formularse como el único ingrediente farmacéuticamente aceptable en la composición, o pueden combinarse con otros ingredientes activos.
- 25 En otro aspecto, si el inhibidor de HDAC AR-42 muestra una solubilidad insuficiente, pueden usarse métodos para la solubilización. Estos métodos son conocidos e incluyen, pero no se limitan a emplear codisolventes, tales como sulfóxido de dimetilo (DMSO), emplear tensioactivos, tales como TWEEN, y la disolución en bicarbonato de sodio acuoso. También pueden utilizarse derivados de los compuestos, tales como sales o profármacos, en la formulación de composiciones farmacéuticas eficaces.
- 30 La concentración del compuesto es eficaz para la administración de una cantidad que, tras su administración, disminuye o mejora al menos un síntoma del trastorno para el cual se administra el compuesto. Generalmente, las composiciones se formulan para la administración de dosificaciones individuales.
- 35 En otro aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente puede prepararse con vehículos que lo protejan frente a la eliminación rápida del cuerpo, tales como revestimientos o formulaciones de liberación a lo largo del tiempo. Estos vehículos incluyen formulaciones de liberación controlada, tales como, pero sin limitarse a sistemas de administración microencapsulados. El compuesto activo puede incluirse en el vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia de efectos secundarios indeseables sobre el paciente tratado. La concentración terapéuticamente eficaz puede determinarse de modo empírico ensayando los compuestos en sistemas de modelos *in vitro* e *in vivo* conocidos para el trastorno tratado.
- 40 En otro aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 y las composiciones descritas en la presente pueden introducirse en recipientes de dosis individuales o múltiples. Los compuestos y composiciones dentro de estos recipientes pueden proporcionarse en kits, por ejemplo, que incluyen partes componentes que pueden ensamblarse para su uso. Por ejemplo, puede proporcionarse AR-42 en forma liofilizada y un diluyente adecuado, como componentes separados para su combinación antes del uso. Un kit puede incluir AR-42 y un segundo agente terapéutico para la coadministración. El AR-42 y un segundo agente terapéutico pueden proporcionarse como partes componentes
- 45
- 50
- 55

5 separadas. Un kit puede incluir una pluralidad de recipientes, y cada recipiente puede incluir una o más dosis unitarias de los compuestos descritos en la presente. En un aspecto, los recipientes pueden adaptarse para el modo de administración deseado e incluyen, pero no se limitan a comprimidos, cápsulas de gel, cápsulas de liberación sostenida y similares para la administración oral; productos depot (depósito de liberación lenta), jeringas previamente cargadas, ampollas, viales y similares para la administración parenteral; y parches, almohadillas Medipad, cremas y similares para la administración tópica.

La concentración del ejemplo de inhibidor de HDAC en la composición farmacéutica dependerá de las tasas de absorción, inactivación y excreción del compuesto activo, el programa de dosificación y la cantidad administrada, así como de otros factores conocidos por los expertos en la técnica.

10 En otro aspecto, el ingrediente activo puede administrarse de una vez o puede dividirse en una serie de dosis más pequeñas para ser administradas a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento están en función de la enfermedad que se está tratando, y pueden ser determinadas de modo empírico empleando protocolos de ensayo conocidos o mediante una extrapolación de datos de ensayos *in vivo* o *in vitro*. Debe advertirse que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar según la gravedad del trastorno que se va a aliviar. También debe entenderse que, para cualquier sujeto concreto, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse a lo largo del tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o que supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración indicados en la presente son solo ejemplos y no pretenden limitar el alcance o la práctica de las composiciones reivindicadas.

20 Si se desea la administración oral, el compuesto puede proporcionarse en una composición que lo proteja frente al entorno ácido del estómago. Por ejemplo, la composición puede formularse en un revestimiento entérico que mantiene su integridad en el estómago y libera el compuesto activo en el intestino. La composición también puede formularse en combinación con un antiácido u otro ingrediente.

25 Las composiciones orales en general incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible, y pueden prensarse en comprimidos o introducirse en cápsulas de gelatina. Con el objetivo de una administración terapéutica oral, el compuesto o compuestos activos pueden incorporarse con excipientes y emplearse en forma de comprimidos, cápsulas o trociscos. Pueden incluirse agentes ligantes y materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles como parte de la composición.

30 Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de naturaleza similar; un ligante, tal como, pero sin limitarse a goma de tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina; un excipiente, tal como celulosa microcristalina, almidón o lactosa; un agente disgregante, tal como, pero sin limitarse a ácido algínico y almidón de maíz; un lubricante, tal como, pero sin limitarse a estearato de magnesio; un deslizante, tal como, pero sin limitarse a dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante, tal como sacarosa o sacarina; y un agente aromatizante, tal como menta, salicilato de metilo o aroma de fruta.

35 Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, esta puede contener, además de materiales del tipo anterior, un vehículo líquido, tal como un aceite graso. Además, las formas de dosificación unitarias pueden contener diversos otros materiales, que modifican la forma física de la dosificación unitaria, por ejemplo, revestimientos de azúcares y otros agentes entéricos. Los compuestos también pueden administrarse como un componente de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, goma de mascar o similares. Un jarabe puede contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y ciertos conservantes, tintes y colorantes, y aromas.

40 Los materiales activos también pueden mezclarse con otros materiales activos que no alteren la acción deseada, o con materiales que suplementan la acción deseada. El inhibidor de HDAC AR-42 puede usarse, por ejemplo, en combinación con un agente antitumoral, una hormona, un esteroide, o un retinoide. El agente antitumoral puede ser cualquiera de numerosos agentes quimioterapéuticos, tales como un agente alquilante, un antimetabolito, un agente hormonal, un antibiótico, colchicina, un vinca-alcaloide, L-asparaginasa, procarbazona, hidroxiurea, mitotano, nitrosoureas o una imidazol carboxamida. Los agentes adecuados incluyen los agentes que estimulan la despolarización de la tubulina. Los ejemplos incluyen colchicina y vinca-alcaloides, que incluyen vinblastina y vincristina.

45 En otro aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente puede coadministrarse o administrarse antes o después de la inmunización de un paciente con una vacuna para potenciar la respuesta inmunológica a la vacuna. En un aspecto, la vacuna es una vacuna de ADN, por ejemplo, y una vacuna de HPV.

50 En un aspectos, las disoluciones o suspensiones empleadas para la aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir cualquiera de los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, disolución salina, un aceite no volátil, un aceite vegetal natural, tal como aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de cacahuete, aceite de algodón, o similares, o un vehículo graso sintético, tal como oleato de etilo y similares, polietilenglicol, glicerina, propilenglicol u otro disolvente sintético; agentes antimicrobianos, tales como alcohol bencílico y metilparabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico y bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales

como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); tampones, tales como acetatos, citratos y fosfatos; y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio y dextrosa. Las preparaciones parenterales pueden introducirse en ampollas, jeringas desechables o viales de múltiples dosis fabricados de vidrio, plástico u otro material adecuado. Pueden incorporarse tampones, conservantes, antioxidantes y similares según sea necesario.

5 Cuando se administra por vía intravenosa, los vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a disolución salina fisiológica, disolución salina tamponada con fosfato (PBS), y disoluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol, polipropilenglicol y sus mezclas. También pueden usarse suspensiones liposómicas, que incluyen liposomas dirigidos a tejidos, como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas pueden prepararse según métodos conocidos en la técnica.

10 En otro aspecto, el inhibidor de HDAC AR-42 puede prepararse con vehículos que protejan al compuesto frente a la eliminación rápida del cuerpo, tales como revestimientos o formulaciones de liberación a lo largo del tiempo. Estos vehículos incluyen formulaciones de liberación controlada, tales como, pero sin limitarse a implantes y sistemas de administración microencapsulados, y polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como colágeno, etilenoacetato de vinilo, polianhídridos, poli(ácido glicólico), poliortoésteres, poli(ácido láctico) y similares. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones son conocidos por los expertos en la técnica.

15 En otro aspecto, los compuestos empleados en los métodos de la descripción pueden administrarse por vía entérica o parenteral. Cuando se administran por vía oral, los compuestos empleados en los métodos de la descripción pueden administrarse en formas de dosificación habituales para la administración oral, tal como conocen los expertos en la técnica. Estas formas de dosificación incluyen las formas de dosificación unitaria sólidas habituales de comprimidos y cápsulas, así como formas de dosificación líquidas, tales como disoluciones, suspensiones y elixires. Cuando se emplean formas de dosificación sólidas, estas pueden ser del tipo de liberación sostenida, de modo que los compuestos empleados en los métodos descritos en la presente solo deben administrarse una o dos veces diarias.

20 Las formas de dosificación oral pueden administrarse al paciente 1, 2, 3 o 4 veces diarias. El inhibidor de HDAC AR-42 descrito en la presente puede administrarse tres o menos veces, o incluso una o dos veces diarias. Por tanto, el compuesto inhibidor de HDAC AR-42 empleado en los métodos de la descripción se administra en una forma de dosificación oral. Cualquiera que sea la forma de dosificación oral empleada, esta puede diseñarse para proteger a los compuestos empleados en los métodos descritos en la presente del entorno ácido del estómago. Los comprimidos con revestimiento entérico son muy conocidos por los expertos en la técnica. Además, las cápsulas rellenas de esferas pequeñas que están revestidas para protegerlas frente a la acidez del estómago también son muy conocidas por los expertos en la técnica.

25 Las expresiones "cantidad terapéuticamente eficaz" y "periodo de tiempo terapéuticamente eficaz" se emplean para indicar tratamientos a unas dosificaciones y durante unos periodos de tiempo eficaces para reducir el crecimiento de células neoplásicas. Tal como se indicó anteriormente, esta administración puede ser parenteral, oral, sublingual, transdérmica, tópica, intranasal, o intrarrectal. En un aspecto, cuando se administra sistémicamente, la composición terapéutica puede administrarse a una dosificación suficiente para lograr un nivel en sangre de los compuestos de aproximadamente 0,1 μM a aproximadamente 100 mM. Para la administración localizada, unas concentraciones mucho más bajas que estas pueden ser eficaces, y pueden tolerarse unas concentraciones mucho mayores. Los expertos en la técnica apreciarán que dicho efecto terapéutico que da como resultado una concentración eficaz menor de un inhibidor de HDAC o AR-42 puede variar considerablemente dependiendo del tejido, órgano o animal o paciente concretos que se va a tratar. También se entiende que aunque un paciente puede comenzar con una dosis, esta dosis puede variar a lo largo del tiempo a medida que cambia el estado del paciente.

30 Para los expertos en la técnica será evidente que la dosificación exacta y la frecuencia de administración dependerá de los compuestos concretos empleados en los métodos de la descripción administrados, el trastorno concreto que se está tratando, la gravedad del trastorno que se está tratando, la edad, el peso, las condiciones físicas generales del paciente concreto, y otras medicaciones que pueda estar tomando el individuo, tal como conocen los médicos encargados que son expertos en la técnica.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran aspectos descritos en la presente.

50 Ejemplo 1: Modelos de caquexia del cáncer

Modelo de C-26

55 En un aspecto, se establecieron tumores mediante la inyección subcutánea de células C-26 (0,5 x 10⁶ células en 0,1 ml) en el flanco derecho de ratones CD2F1 macho (aproximadamente 6 semanas de edad; Harlan Laboratories, Indianápolis, IN) (11). Los ratones que portan tumores, así como los ratones sin tumores que sirven como controles no caquéxicos, se aleatorizaron en grupos que se trataron con AR-42 (50 mg/kg, p.o. mediante sonda oral, en días alternos; Arno Therapeutics, Inc., Flemington, NJ) o con vehículo (metilcelulosa al 0,5% (en p/v) y Tween-80 al 0,1% (en v/v) en agua estéril) comenzando 6 días después de la inyección de las células. Para investigar el efecto del

tratamiento retrasado, los tratamientos con fármaco y/o vehículo comenzaron 6, 10 y 12 días después de la inyección de las células del cáncer.

5 En otro aspecto, se compararon los efectos de AR-42 con otros inhibidores de HDAC. En este aspecto, otros grupos de ratones que portan tumores C-26 se trataron con vorinostatato (50 mg/kg, p.o., una vez diaria) y romidepsina (0,6 mg/kg; i.p., dos veces diarias) (ChemieTek (Indianápolis, IN)).

Modelo de LLC

10 En otro aspecto, se establecieron tumores subcutáneos en ratones C57BL/6 macho (aproximadamente 6 semanas de edad; Harlan) mediante la inyección de 0,5 x 10⁶ células LLC en el flanco derecho. El tratamiento con AR-42 y con el vehículo se realizó del mismo modo que en el modelo de C-26 comenzando 6 días después de la inyección de las células. En ambos modelos, los pesos corporales y el consumo de alimento se controlaron a diario, y el tamaño del tumor se midió no menos que cada dos días. Los ratones se dejaron en ayunas durante 2 horas antes del sacrificio, tras el cual se recogieron los músculos de la pata trasera, el corazón, el bazo, la grasa epididímic y sangre, y se midió el peso de los tejidos sólidos. Las muestras de músculo se congelaron en 2-metilbutano enfriado en nitrógeno líquido y después se conservaron a -80 °C hasta el análisis.

15 Ejemplo 2: Medición de la fuerza de asir

Se midió la fuerza de asir de la pata anterior en ratones usando un medidor de la fuerza de asir digital (Columbus Instruments, Columbus, OH). Se tomaron cinco mediciones de cada ratón, y su promedio se denominó la fuerza de asir del ratón.

Análisis morfométrico del tamaño de las fibras musculares

20 Se cortaron secciones de 10 µm de las muestras de músculo esquelético congelado empleando un criostato (Leica) y después se tiñeron con H&E. Las imágenes se capturaron usando un microscopio Olympus BX51 (Olympus America, Inc.) y se determinaron las áreas transversales de las fibras musculares usando el programa informático Olympus CellSens 1.11. Se obtuvieron mediciones de cinco secciones diferentes de músculos de cada uno de los cinco ratones de cada grupo.

25 *Aislamiento de ARN, qRT-PCR, y análisis de la secuencia de ARN*

30 Se aisló el ARN total del músculo gastrocnemio homogeneizado (n = 3/grupo) con reactivo TRIzol (Life Technologies, Carlsbad, CA) y después se purificó usando el minikit RNAeasy (Qiagen, Valencia, CA). Se realizó una qRT-PCR como ha sido descrito previamente (42) usando el sistema de detección de PCR a tiempo real Bio-Rad CFX96 con iQ SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Hércules, CA). Las secuencias de los cebadores se listan en la figura 8. La generación del banco de secuencias de ARN y el análisis de los datos se realizaron en The Ohio State University Comprehensive Cancer Center (OSUCCC) Nucleic Acid Shared Resource.

Perfil metabólico y de citoquinas

35 Se recogió el músculo gastrocnemio y suero en el día 17 después de la inyección de las células en cada grupo de tratamiento (n = 8/grupo). El músculo se envió a Metabolon, Inc. (Durham, NC) para el análisis metabólico de los 270 intermedios metabólicos a través de plataformas de espectrometría de masas patentadas. El suero se envió a Eve Technologies (Alberta, Canadá) para el análisis de 32 citoquinas usando una matriz de citoquinas de ratón (panel 32-plex).

Análisis estadístico

40 El análisis de los datos se realizó usando el programa informático SAS 9.3 (SAS, Inc; Cary, NC). Para los experimentos con mediciones repetidas, los datos se analizaron mediante modelos de efecto mixtos, incorporando dependencias observacionales a través de cada sujeto. Para otros experimentos que implican a grupos independientes, los datos se analizaron mediante ANOVA. Para el experimento del tiempo hasta el acontecimiento (figura 2B), la diferencia en las funciones de supervivencia se comparó mediante ensayos de rangos logarítmicos. Las multiplicidades se ajustaron mediante el método de Holm para controlar la tasa de error como familias global a 45 0,05. Los datos de la secuenciación del ARN se analizaron usando el programa informático Ingenuity Pathway Analysis (IPA) (Ingenuity Systems, Redwood City, CA). Solo se seleccionaron los genes con un cambio >4 en número de veces y P<0,05 para el análisis de la vía.

Ejemplo 3: El AR-42 reprime la caquexia del cáncer en el modelo de adenocarcinoma de colon C-26

50 En un aspecto, se trataron ratones por vía oral mediante sonda oral con AR-42 (50 mg/kg) o con vehículo en días alternos, comenzando en el día 6 después de la inyección de las células C-26, cuando ya se habían formado tumores palpables. Mientras que el grupo con vehículo mostró una gran disminución en el peso corporal, que se inicia en el día 12, los ratones tratados con AR-42 mantuvieron su peso a niveles comparables a los de los controles sin tumor (figura 1A, izquierda). En el momento del final del estudio (día 15), la magnitud de la pérdida de peso, después de restar la masa de los tumores (1 cm³ volumen = 1 gramo de masa), alcanzó >20% para el grupo tratado

con vehículo, y 6% para los ratones tratados con AR-42 (centro). Este efecto no puede atribuirse a una disminución en la carga tumoral, puesto que AR-42 no altera el crecimiento tumoral con relación al vehículo (derecha) o al aumento en el consumo de alimento, puesto el promedio de consumo diario fue comparable en los grupos tratados con AR-42 y tratados con vehículo, y fue menor que en los ratones sin tumores (figura 1C). Los ratones tratados con AR-42, a pesar de su gran carga tumoral, se mantuvieron alertas, receptivos, activos y carecen de la postura encogida y el pelo áspero observados en sus homólogos tratados con vehículo al final de este estudio (figura 1B).

Ejemplo 4: El AR-42 protege al músculo frente a la atrofia inducida por caquexia

En coherencia con la conservación del peso corporal, la masa del músculo esquelético se mantuvo en ratones que portan tumores tratados con AR-42. Como indicación de caquexia, los pesos del músculo gastrocnemio, tibial anterior y cuádriceps de ratones que portan tumores tratados con vehículo (portan tumores/vehículo) se redujeron en 20,6%, 10,5% y 18,1%, respectivamente, con relación a los correspondiente músculos en ratones control sin tumores, mientras que los pesos en los ratones que portan tumores tratados con AR-42 (portan tumores/AR-42) se redujeron en 9,6%, 0,8% y 5,8%, respectivamente (figura 1D).

Los ratones que portan tumores/vehículo mostraron otras características de la caquexia, que incluyen pérdidas significativas de masa del tejido cardíaco y, en particular, del tejido adiposo ($29,3 \pm 6,0\%$ del control sin tumor), que fueron mejoradas por el tratamiento con AR-42 (figura 1E, superior). De manera interesante, el AR-42 reduce significativamente la masa del tejido adiposo en aproximadamente 50% en ratones sin tumores, y restablece la pérdida de masa del tejido adiposo en ratones que portan tumores a un nivel comparable al de los ratones sin tumores/AR-42, un efecto dicotómico que sugiere su capacidad para mantener la homeostasis de lípidos.

En otro aspecto, los ratones que portan tumores C-26 muestran unos bazos muy agrandados con relación a los ratones control sin tumores (11), que no obtuvieron una mejoría con AR-42 (figura 1E, inferior). Puesto que la esplenomegalia en los ratones que portan tumores C-26 se produce como resultado de la expansión de células supresoras derivadas de mieloides y otras células inmunológicas en el bazo (12), este descubrimiento sugiere que AR-42 está actuando predominantemente sobre el músculo, y no a través de un mecanismo inmunológico.

El efecto protector del AR-42 frente al desgaste muscular se manifiesta mediante la abrogación de la reducción inducida por caquexia en el tamaño de las fibras del músculo esquelético. Los ratones que portan tumores/vehículos muestran una disminución del 48,2% con relación a los controles sin tumores en el área transversal promedio de las fibras musculares en el día 15 ($1297,6 \pm 638,8$ frente a $2503,5 \pm 917,5 \mu\text{m}^2$), que fue restablecida por el AR-42 ($2146,3 \pm 923,4 \mu\text{m}^2$) (figura 2A, izquierda). El importante desplazamiento en la distribución del tamaño de las fibras hacia áreas transversales más pequeñas en los músculos caquécicos de los ratones que portan tumores/vehículo fue revertido por el AR-42 (figura 2A, derecha).

El AR-42 prolonga la supervivencia de ratones que portan tumores C-26

El efecto del AR-42 se comparó con otros inhibidores de HDAC (concretamente, vorinostato y romidepsina) en ratones que portan tumores C-26. Comenzando en el día 6 después de la inyección de las células tumorales, los ratones se trataron continuamente con AR-42 (50 mg/kg en días alternos, por vía oral), vorinostato [50 mg/kg una vez diaria, por vía oral (13)], romidepsina [0,6 mg/kg dos veces semanales, i.p. (14)], o vehículo, hasta que la pérdida de peso, determinada mediante mediciones diarias del peso corporal y resta de la masa tumoral, alcanzó 20% del peso inicial. Tal como se muestra, el AR-42 oral resultó eficaz para proteger a estos ratones del desgaste asociado a los tumores, con una supervivencia cumulativa del 100% en el día 21, cuando el volumen tumoral alcanzó el umbral para la eutanasia (figura 2B). Por contraste, el vorinostato y la romidepsina mostraron muy pocos efectos protectores o inapreciables sobre el peso corporal. Además, los ratones que portan tumores/AR-42 se mantuvieron alertas, receptivos, activos y parecían sanos a los 21 días después de la inyección de células tumorales, por contraste con los ratones tratados con vehículo (día 15), romidepsina (día 16), y vorinostato (día 18) (figura 2C).

Ejemplo 5: Efectos diferenciales sobre la regulación del recambio de proteínas del músculo esquelético

La masa del músculo esquelético se regula mediante un equilibrio entre la síntesis y la degradación de proteínas. Aunque no se pretenda limitación alguna por la teoría, se cree que el efecto anticaquécico diferencial del AR-42 frente al vorinostato y la romidepsina puede atribuirse a diferencias en su capacidad para regular las vías que gobiernan el recambio de proteínas. Esto se ve apoyado por el efecto represor del AR-42 sobre la expresión del ARNm de atrogina-1/MAFbx y, MuRF1, dos E3 ligasas implicadas en la degradación de proteínas del músculo esquelético mediada por ubiquitina (15, 16) (figura 2D).

El análisis de qPCR del músculo gastrocnemio reveló un aumento significativo en los niveles de ARNm de atrogina-1 y MuRF1 (en $29,4 \pm 3,5$ veces y en $25,8 \pm 3,9$ veces, respectivamente) en el músculo caquécico (portan tumores/vehículo; n = 8) con relación al control sin tumores/vehículo (n = 6). El AR-42 fue capaz de restablecer la expresión del ARNm de atrogina-1 (en $2,7 \pm 0,7$ veces) y MuRF1 (en $1,1 \pm 0,2$ veces) hasta los niveles basales (n = 8). El vorinostato (n = 8) y la romidepsina (n = 5) también redujeron significativamente la expresión del ARNm de estas dos E3 ligasas en los músculos caquécicos, pero en un grado menor que el AR-42 (atrogina-1/MuRF1: vorinostato, en $9,6 \pm 1,8/5,5 \pm 1,1$ veces; romidepsina, en $19,6 \pm 3,1/14,6 \pm 3,3$ veces) (figura 2D).

Para confirmar que la actividad anticaquética del AR-42 no es específica del modelo de C-26, también se evaluó en el modelo de LLC. Ratones C57BL/6 que portan tumores LLC subcutáneos se trataron con AR-42 (50 mg/kg, p.o., en días alternos), comenzando en el día 6 después de la inyección de las células tumorales y continuando hasta el día 20, cuando los músculos de la pata trasera se recogieron tras el sacrificio. Tal como se muestra en la figura 7, el AR-42 protege a los ratones C57B1/6 que portan tumores LLC frente a la pérdida de masa muscular (gastrocnemio: vehículo, $81,7 \pm 3,7\%$ del control no caquético; AR-42, $92,2 \pm 3,5\%$; tibial anterior: vehículo, $80,3 \pm 4,0\%$; AR-42, $93,4 \pm 3,9\%$; cuádriceps: vehículo, $84,4 \pm 4,6\%$; AR-42, $93,4 \pm 4,8\%$; todos los valores de $P < 0,05$, $n = 8$).

Ejemplo 6: El AR-42 mantiene la integridad metabólica del músculo en ratones que portan tumores

Con la caquexia, los músculos esqueléticos sufren complejos cambios metabólicos en respuesta a factores estresantes neuroendocrinos e inflamatorios derivados del hospedante/tumor (1). Por consiguiente, los inventores realizaron un análisis del perfil metabólico para investigar el efecto del AR-42 sobre los desplazamientos inducidos por caquexia en el fenotipo metabólico en el músculo esquelético. Ratones sin tumores y que portan tumores C-26 se trataron con vehículo o AR-42 tal como se mencionó anteriormente, y se recogió el músculo gastrocnemio en el día 17 para el análisis metabólico. La comparación de los perfiles bioquímicos del músculo entre los cuatro grupos ($n = 8/\text{grupo}$) reveló la capacidad del AR-42 para restablecer los cambios metabólicos inducidos por caquexia en los músculos esqueléticos, que se resume como sigue.

Glicólisis. Los músculos caquéticos de ratones que portan tumores/vehículos mostraron niveles significativamente menores de glucosa y de intermedios glicolíticos clave que los controles sin tumores (figura 3A). El AR-42 revierte estos cambios metabólicos, restableciendo los niveles intramusculares de glucosa e intermedios a los niveles de línea de base, o en algunos casos, por encima de estos, detectados en los ratones sin tumores/vehículo. Además, la glucosa alta se envió a las vías de biosíntesis de sorbitol-fructosa y pentosa fosfato, conduciendo a una mayor producción de sorbitol, fructosa y ribosa, un metabolito derivado de la vía de pentosa fosfato.

Almacenamiento de glucógeno. El músculo de los ratones que portan tumores/vehículo muestra una disminución significativa en malto-oligosacáridos de cadena corta y glucosa 1-fosfato (figura 3B), lo cual sugiere la disminución del almacenamiento de glucógeno en los músculos caquéticos. El tratamiento con AR-42 vuelve a abastecer significativamente de estos intermedios metabólicos del glucógeno.

Aminoácidos libres. En coherencia con el aumento en la degradación de proteínas que caracteriza al desgaste muscular, un gran número de aminoácidos libres aumentan significativamente de cantidad en los músculos caquéticos en ratones que portan tumores/vehículo, con relación a los ratones sin tumores/vehículo (figura 4), lo cual indica un fenotipo caquético. De modo similar, varios metabolitos/derivados de aminoácidos que actúan como neurotransmisores, que incluyen kinurenina, *N*-acetil-aspartil-glutamato, y γ -aminobutirato, aumentaron en cantidad. Por contraste, la alanina, que se libera de los músculos para apoyar la gluconeogénesis hepática, se redujo en los músculos caquéticos. Este fenotipo caquético fue revertido por el tratamiento con AR-42, lo cual indica su capacidad para bloquear la degradación de las proteínas musculares.

Ácidos orgánicos. Los metabolitos de aminoácidos 2-hidroxi-butirato y oftalmato son biomarcadores de la resistencia a la insulina (17) y el estrés oxidativo (18), respectivamente. El aumento en estos dos ácidos orgánicos en los músculos de los ratones que portan tumores/vehículo (figura 4) sugiere que la caquexia estimula la resistencia a la insulina y el estrés oxidativo, que, a su vez, exacerban el desgaste muscular. El AR-42 reduce notablemente los dos biomarcadores hasta niveles comparables a los medidos en ratones sin tumores.

Ejemplo 7: El AR-42 suprime la caquexia del cáncer dirigiéndose a múltiples impulsores procaquexia

Para arrojar luz sobre el mecanismo mediante el cual AR-42 media en su efecto anticaquético, se empleó suero y músculo gastrocnemio de ratones que portan tumores C-26 y sin tumores tratados con vehículo o con AR-42 para un análisis del perfil de citoquinas y secuenciación de pistola del transcriptoma completo (secuenciación de ARN), respectivamente.

Perfiles de citoquinas. De las 32 citoquinas examinadas (figura 10), la IL-6 y el factor inhibidor de leucemia ("leukemia inhibitory factor", LIF), dos impulsores de la caquexia bien reconocidos (19), aumentaron significativamente en el suero de ratones que portan tumores/vehículo con relación a los ratones sin tumores/vehículo (IL-6; 230 ± 105 frente a $2,9 \pm 1,3$ pg/ml; LIF, $19,7 \pm 9,3$ frente a $1,7 \pm 1,5$ pg/ml) (figura 5A, superior), mientras que no se advirtieron diferencias significativas con otras citoquinas. El AR-42 reduce los niveles de IL-6 y LIF en 56% y 88%, respectivamente, en ratones que portan tumores (IL-6, 102 ± 38 pg/ml; LIF, $3,8 \pm 1,6$ pg/ml), comparado con sus homólogos tratados con vehículo. A la luz de la capacidad de AR-42 de cortar los aumentos asociados con la caquexia en IL-6, los inventores examinaron el efecto del AR-42 sobre los niveles de ARNm intramuscular de la cadena alfa del receptor de IL-6 (IL-6R α). El ARNm de IL-6R α aumentó significativamente (en $13 \pm 1,4$ veces) en el músculo de ratones que portan tumores/vehículo ($n = 9$), comparado con los ratones sin tumores ($n = 6$). El AR-42 reduce este aumento inducido por la caquexia en 85% (en $2,0 \pm 0,2$ veces; $n = 10$) (figura 5, inferior). Estos descubrimientos sugieren que el AR-42 inhibe el desgaste muscular, en parte a través del bloqueo de la señalización de IL-6.

Análisis de la secuencia del ARN. El análisis de los componentes principales de los datos de secuenciación de ARN

reveló un efecto pronunciado del tumor C-26 sobre el patrón de expresión génica global en el músculo de ratones que portan tumores/vehículo, con relación a sus homólogos sin tumores/vehículo (figura 5B, izquierda). Aunque AR-42 no produce un efecto apreciable sobre el patrón de expresión génica en el músculo no caquéxico de ratones sin tumores, también revertió el desplazamiento inducido por el tumor en la expresión génica en el músculo caquéxico hasta un estado cercano al de los ratones sin tumores. Después de esto, se realizaron análisis apareados de genes expresados diferencialmente entre los ratones que portan tumores/vehículo y los otros tres grupos de tratamiento, cuyos resultados se representan en un diagrama de Venn (figura 5B, derecha). Las áreas en gran parte solapantes entre estos análisis apareados sugieren que el AR-42 restablece, en gran medida, los cambios inducidos por el tumor en la expresión génica global.

La comparación apareada de la expresión génica en músculos de ratones que portan tumores tratados con vehículo y con AR-42 reveló un total de 677 genes con una expresión diferencial mayor en 4 o más veces (376 sobrerregulados y 301 infrarregulados) (figura 10). El análisis de estos datos genómicos para sus asociaciones funcionales y de enfermedad usando el análisis de vías de ingenuidad ("Ingenuity Pathway Analysis", IPA) reveló que 66 de estos genes expresados diferencialmente se incluyen en las categorías de atrofia, contractilidad, desarrollo, y morfología del músculo, y tamaño de células del músculo esquelético, muerte de las células musculares, y catabolismo de proteínas (figura 11).

De esos genes asociados a enfermedad y función muscular, merece la pena destacar los efectos del AR-42 sobre los siguientes seis genes, a la luz de sus vínculos demostrados con la caquexia inducida por el cáncer. Estos incluyen *Foxo1* (que codifica la proteína de caja Forkhead O1) (20-23) y sus genes diana *Trim63* (MuRF1) y *Fbxo32* (atrogina-1) (24, 25), *PNPLA2* [adiposo triglicérido lipasa (ATGL)] (26, 27), *UCP3* (proteína no acoplada 3) (28, 29), y *Mef2c* [factor de transcripción miogénico factor potenciador de miocitos] (30) (figura 5C). La validación de los datos de secuenciación del ARN para estos seis genes mediante qRT-PCR demostró una alta correlación entre los conjuntos de datos para los niveles de expresión de ARNm relativos entre los cuatro grupos de tratamiento (figura 5D).

Ejemplo 8: El tratamiento retrasado con AR-42 sigue siendo eficaz para reprimir el desgaste muscular

Los anteriores descubrimientos demuestran la eficacia del AR-42 oral para reprimir el desgaste muscular asociado al cáncer restableciendo los perfiles de expresión génicos y metabólicos en el músculo esquelético. En estos experimentos, el tratamiento se inició en un estadio temprano en el avance de la caquexia, cuando las señales explícitas del desgaste aún no eran detectables. Para investigar si el inicio tardío del tratamiento con AR-42 sigue protegiendo frente a la caquexia, ratones que portan tumores C-26 fueron tratados con AR-42 (50 mg/kg, p.o., en días alternos), comenzando 6, 10 y 12 días después de la inyección de las células tumorales.

En coherencia con los datos anteriores (figura 1), los ratones que portan tumores/vehículo perdieron 19% de peso corporal (excluyendo el tumor) para el día 17. Por contraste, el tratamiento con AR-42 comenzando en el día 6 (D6), 10 (D10), o 12 (D12) limitó la pérdida de peso al 6%, 11%, y 12%, respectivamente (n = 8) (figura 6A, izquierda), sin efectos apreciables sobre el crecimiento tumoral (derecha). Además, los ratones tratados con AR-42 mostraron señales de mejor salud que sus homólogos tratados con vehículo (figura 6B). Este efecto protector del AR-42 se reflejó en la conservación del peso del músculo gastrocnemio y, en un grado menor, del tibial anterior y el cuádriceps (figura 6C). En coherencia con el efecto protector sobre la masa muscular, la dinamometría de asir indicó que AR-42 ayuda a conservar la fuerza muscular de la pata anterior en todos los grupos tratados con fármaco, con relación al control tratado con vehículo en el día 15 y 16 (figura 6D).

Ejemplo 9

Los ratones que portan tumores/vehículo mostraron otras características de la caquexia, que incluyen pérdidas significativas de masa del tejido cardíaco y, en particular, del tejido adiposo (29,3±6,0% del control sin tumor), que fueron mejoradas por el tratamiento con AR-42 (figura 1E, superior). De manera interesante, el AR reduce significativamente la masa del tejido adiposo en aproximadamente 50% en ratones sin tumores, y restablece la pérdida de masa del tejido adiposo en ratones que portan tumores a un nivel comparable al de los ratones sin tumores/AR-42, un efecto dicotómico que sugiere su capacidad para mantener la homeostasis de lípidos.

Los ratones que portan tumores C-26 muestran unos bazo muy agrandados con relación a los ratones control sin tumores (11), que no obtuvieron una mejoría con AR-42 (figura 1E, inferior). Puesto que la esplenomegalia en los ratones que portan tumores C-26 se produce como resultado de la expansión de células supresoras derivadas de mieloides y otras células inmunológicas en el bazo (12), este descubrimiento sugiere que AR-42 está actuando predominantemente sobre el músculo, y no a través de un mecanismo inmunológico.

El efecto protector del AR-42 frente al desgaste muscular se manifiesta mediante la abrogación de la reducción inducida por caquexia en el tamaño de las fibras del músculo esquelético. Los ratones que portan tumores/vehículos muestran una disminución del 48,2% con relación a los controles sin tumores en el área transversal de las fibras musculares en el día 15 (1297,6±638,8 frente a 2503,5±917,5 μm^2), que fue restablecida por el AR-42 (2146,3±923,4 μm^2) (figura 2A, izquierda). El importante desplazamiento en la distribución del tamaño de las fibras hacia áreas transversales más pequeñas en los músculos caquéxicos de los ratones que portan tumores/vehículo fue revertido

por el AR-42 (figura 2A, derecha).

Ejemplo 10: Efectos diferenciales sobre la regulación del recambio de proteínas del músculo esquelético

Puesto que la masa del músculo esquelético se regula mediante un equilibrio entre la síntesis y la degradación de proteínas, el efecto anticaquético diferencial del AR-42 frente al vorinostato y la romidepsina puede atribuirse a diferencias en su capacidad para regular las vías que gobiernan el recambio de proteínas. Esto se ve apoyado por el efecto represor del AR-42 sobre la expresión del ARNm de atrogina-1/MAFbx y, MuRF1, dos E3 ligasas implicadas en la degradación de proteínas del músculo esquelético mediada por ubiquitina (15, 16) (figura 2D). Tal como se esperaba, el análisis de qPCR del músculo gastrocnemio reveló un aumento significativo en los niveles de ARNm de atrogina-1 y MuRF1 (en $29,4 \pm 3,5$ veces y en $25,8 \pm 3,9$ veces, respectivamente) en el músculo caquético (portan tumores/vehículo; $n = 8$) con relación al control sin tumores/vehículo ($n = 6$). El AR-42 fue capaz de restablecer la expresión del ARNm de atrogina-1 (en $2,7 \pm 0,7$ veces) y MuRF1 (en $1,1 \pm 0,2$ veces) hasta los niveles basales ($n = 8$). El vorinostato ($n = 8$) y la romidepsina ($n = 5$) también redujeron significativamente la expresión del ARNm de estas dos E3 ligasas en los músculos caquéticos, pero en un grado menor que el AR-42 (atrogina-1/MuRF1: vorinostato, en $9,6 \pm 1,8/5,5 \pm 1,1$ veces; romidepsina, en $19,6 \pm 3,1/14,6 \pm 3,3$ veces) (figura 2D).

Ejemplo 11

Células

Las células C-26 y LLC cultivadas se mantuvieron en medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal ("fetal bovine serum", FBS) (al 10%) y medio DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA), respectivamente, a 37 °C en un incubador humidificado con 5% de CO₂. Para la inyección en ratones para los modelos de caquexia del cáncer, las células se recolectaron mediante tripsinización, se sedimentaron en el medio de cultivo suplementado con FBS, y después se resuspendieron en PBS estéril a una concentración de 5×10^6 células/ml.

Ratones

Se alojaron grupos de ratones CD2F1 y C57BL/6 bajo condiciones de fotoperiodo (12 horas de luz/12 horas de oscuridad), temperatura y humedad constantes con acceso sin límite al agua y a una dieta convencional. Los ratones se anestesiaron brevemente (isoflurano, al 3-4%) durante la administración de los fármacos (AR-42, vorinostato, vehículo) mediante sonda oral. Se calculó el consumo de alimento pesando el alimento en cada jaula a diario, y dividiendo la disminución diaria en alimento entre el número de ratones en la jaula. Los volúmenes tumorales se calcularon a partir de mediciones con un calibrador usando una fórmula convencional ($\text{longitud} \times \text{anchura}^2 \times \pi/6$).

Medición de la fuerza de asir

Para medir la fuerza de asir de la pata anterior, cada ratón fue sujetado por la base de la cola y se le hizo descender sobre el aparato hasta que sus patas delanteras asieron la barra de agarre. Después el ratón se desplazó con cuidado horizontalmente en línea recta alejándolo del medidor de asir hasta que el ratón libera la barra y se registra la fuerza máxima lograda. Se tomaron cinco mediciones de cada ratón, y su promedio se denominó la fuerza de asir del ratón.

Generación del banco de secuencias de ARN y línea de análisis de datos

Se evaluó la calidad del ARN en un bioanalizador Agilent 2100 usando un chip de ARN Pico, y se evaluó la cantidad de ARN total de entrada usando el ensayo de ARN Agilent Qubit. Se prepararon bancos de transcriptomas usando el kit de preparación de muestras de ARN Illumina TruSeq V2. Los bancos resultantes se evaluaron para la cantidad y la calidad usando el ensayo de ADN Agilent Qubit y el análisis PerkinElmer Labchip DNA GX, respectivamente. Todos los bancos se mezclaron en proporciones iguales, generando agrupamientos de muestras que producen aproximadamente 40 millones de lecturas que pasan el filtro cuando se secuencian con el secuenciador Illumina HiSeq 2500. Los datos de secuenciación brutos de la línea de Illumina HiSeq CASAVA se evaluaron para la calidad usando los programas informáticos FastQC, RNASeQC y RSeQC. Los posteriores análisis fueron los siguientes: las lecturas de secuencias que pasan el filtro desmultiplexadas se alinearon con GRCm38/mm10 usando el alineador de secuencias de ARN TopHat 2 (v2.0.7); se usó CuffLinks 2 (c2.1.1) para ensamblar las lecturas alineadas con la anotación de genes UCSC mm10; se emplean CuffCompare y CuffMerge para compilar las lecturas alineadas con genes mm10 y fusionar los transcritos ensamblados en una anotación de genes convencional; se usó CuffDiff para comparar la expresión de genes diferencial asociada con cada grupo de tratamiento.

Ejemplo 12

Para confirmar que la actividad anticaquética del AR-42 no es específica del modelo de C-26, también se evaluó en el modelo de LLC. Ratones C57BL/6 que portan tumores LLC subcutáneos se trataron con AR-42 (50 mg/kg, p.o., en días alternos), comenzando en el día 6 después de la inyección de las células tumorales y continuando hasta el día 20, cuando los músculos de la pata trasera se recogieron tras el sacrificio.

Tal como se muestra en la figura 7, AR-42 protege frente al desgaste muscular inducido por cáncer en el modelo de ratón LLC de caquexia. Los efectos del AR-42 frente al vehículo sobre la masa de los músculos de la pata trasera, que incluyen el gastrocnemio, tibial anterior, y cuádriceps en ratones sin tumores y ratones que portan tumores, se compararon con los de los ratones que portan tumores tratados con vehículo. Los ratones se trataron de la misma manera que se describe en la figura 1A, excepto que los ratones se sacrificaron en el día 20 después de la inyección de las células tumorales. Los datos se presentan como promedios \pm D.E. (n = 8); (gastrocnemio: vehículo, 81,7 \pm 3,7% del control no caquético; AR-42, 92,2 \pm 3,5%; tibial anterior: vehículo, 80,3 \pm 4,0%; AR-42, 93,4 \pm 3,9%; cuádriceps: vehículo, 84,4 \pm 4,6%; AR-42, 93,4 \pm 4,8%; todos los valores de P <0,05, n = 8).

Referencias bibliográficas

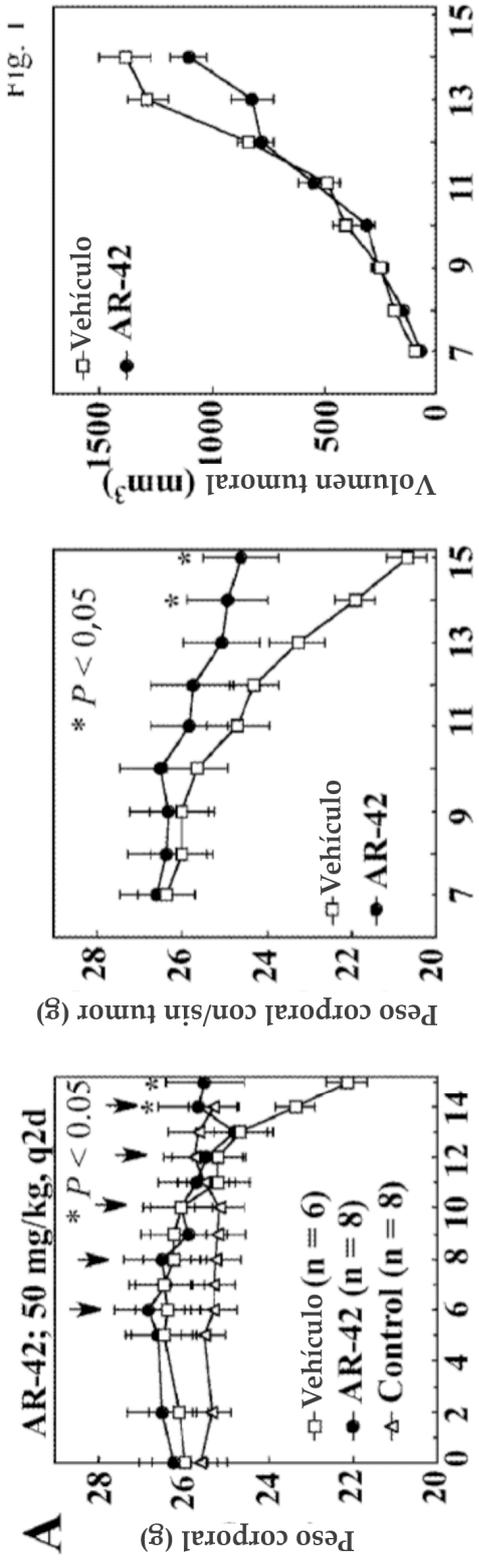
1. Fearon K.C., Glass D.J., Guttridge D.C., Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways, *Cell Metab.*, 2012, 16:153-166.
2. Tisdale M.J., Cachexia in cancer patients, *Nat. Rev. Cancer*, 2002, 2:862-871.
3. von Haehling S., Anker S.D., Cachexia as a major underestimated and unmet medical need: facts and numbers, *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2010, 1:1-5.
4. Tisdale M.J., Mechanisms of cancer cachexia, *Physiol. Rev.*, 2009, 89:381-410.
5. Lee S.J., Glass D.J., Treating cancer cachexia to treat cancer, *Skelet Muscle*, 2011, 1:2.
6. Maccio A., Madeddu C., Mantovani G., Current pharmacotherapy options for cancer anorexia and cachexia, *Expert. Opin. Pharmacother.*, 2012, 13:2453-2472.
7. Kulp S.K., Chen C.S., Wang D.S., Chen C.Y., Chen C.S., Antitumor effects of a novel phenylbutyrate-based histone deacetylase inhibitor, (S)-HDAC-42, in prostate cancer, *Clin. Cancer Res.*, 2006, 12:5199-5206.
8. Lu Y.S., Kashida Y., Kulp S.K., Wang Y.C., Wang D., Hung J.H., *et al.*, Efficacy of a novel histone deacetylase inhibitor in murine models of hepatocellular carcinoma, *Hepatology*, 2007, 46:1119-1130.
9. Sargeant A.M., Rengel R.C., Kulp S.K., Klein R.D., Clinton S.K., Wang Y.C., *et al.*, OSU-HDAC42, a histone deacetylase inhibitor, blocks prostate tumor progression in the transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate model, *Cancer Res.*, 2008, 68:3999-4009.
10. Yang Y.T., Balch C., Kulp S.K., Mand M.R., Nephew K.P., Chen C.S., A rationally designed histone deacetylase inhibitor with distinct antitumor activity against ovarian cancer, *Neoplasia*, 2009, 11:552-563, 3 p tras 563.
11. Acharyya S., Ladner K.J., Nelsen L.L., Damrauer J., Reiser P.J., Swoap S., *et al.*, Cancer cachexia is regulated by selective targeting of skeletal muscle gene products, *J. Clin. Invest.*, 2004, 114:370-378.
12. Mundy-Bosse B.L., Lesinski G.B., Jaime-Ramírez A.C., Benninger K., Khan M., Kuppusamy P., *et al.*, Myeloid-derived suppressor cell inhibition of the IFN response in tumor-bearing mice, *Cancer Res.*, 2011, 71:5101-5110.
13. Lucas D.M., Alinari L., West D.A., Davis M.E., Edwards R.B., Johnson A.J., *et al.*, The novel deacetylase inhibitor AR-42 demonstrates pre-clinical activity in B-cell malignancies *in vitro* and *in vivo*, *PLoS One*, 2010, 5:e10941.
14. Sasakawa Y., Naoe Y., Inoue T., Sasakawa T., Matsuo M., Manda T., *et al.*, Effects of FK228, a novel histone deacetylase inhibitor, on human lymphoma U-937 cells *in vitro* and *in vivo*, *Biochem. Pharmacol.*, 2002, 64:1079-1090.
15. Bodine S.C., Latres E., Baumhueter S., Lai V.K., Nunez L., Clarke B.A., *et al.*, Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy, *Science*, 2001, 294:1704-1708.
16. Lecker S.H., Jagoe R.T., Gilbert A., Gomes M., Baracos V., Bailey J., *et al.*, Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression, *FASEB J.*, 2004, 18:39-51.
17. Gall W.E., Beebe K., Lawton K.A., Adam K.P., Mitchell M.W., Nakhle P.J., *et al.*, Alpha-hydroxybutyrate is an early biomarker of insulin resistance and glucose intolerance in a nondiabetic population, *PLoS One*, 2010, 5:e10883.
18. Soga T., Baran R., Suematsu M., Ueno Y., Ikeda S., Sakurakawa T., *et al.*, Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption, *J. Biol. Chem.*, 2006, 281:16768-16776.
19. Tisdale M.J., Biology of cachexia, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1997, 89:1763-1773.
20. Kamei Y., Miura S., Suzuki M., Kai Y., Mizukami J., Taniguchi T., *et al.*, Skeletal muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, downregulated Type I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control, *J. Biol. Chem.*, 2004, 279:41114-41123.

21. Reed S.A., Sandesara P.B., Senf S.M., Judge A.R., Inhibition of FoxO transcriptional activity prevents muscle fiber atrophy during cachexia and induces hypertrophy, *FASEB J.*, 2012, 26:987-1000.
22. Beharry A.W., Sandesara P.B., Roberts B.M., Ferreira L.F., Senf S.M., Judge A.R., HDAC1 activates FoxO and is both sufficient and required for skeletal muscle atrophy, *J. Cell Sci.*, 2014, 127:1441-1453.
- 5 23. Sandri M., Sandri C., Gilbert A., Skurk C., Calabria E., Picard A., *et al.*, Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy, *Cell*, 2004, 117:399-412.
24. Gumucio J.P., Mendias C.L., Atrogin-1, MuRF-1, and sarcopenia, *Endocrine*, 2013, 43:12-21.
25. Bonaldo P., Sandri M., Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy, *Dis. Model Mech.*, 2013, 6:25-39.
- 10 26. Das S.K., Hoefler G., The role of triglyceride lipases in cancer associated cachexia, *Trends Mol. Med.*, 2013, 19:292-301.
27. Young S.G., Zechner R., Biochemistry and pathophysiology of intravascular and intracellular lipolysis, *Genes Dev.*, 2013, 27:459-484.
28. Collins P., Bing C., McCulloch P., Williams G., Muscle UCP-3 mRNA levels are elevated in weight loss associated with gastrointestinal adenocarcinoma in humans, *Br. J. Cancer*, 2002, 86:372-375.
- 15 29. Constantinou C., Fontes de Oliveira C.C., Mintzopoulos D., Busquets S., He J., Kesarwani M., *et al.*, Nuclear magnetic resonance in conjunction with functional genomics suggests mitochondrial dysfunction in a murine model of cancer cachexia, *Int. J. Mol. Med.*, 2011, 27:15-24.
30. Shum A.M., Mahendradatta T., Taylor R.J., Painter A.B., Moore M.M., Tsoli M., *et al.*, Disruption of MEF2C signaling and loss of sarcomeric and mitochondrial integrity in cancer-induced skeletal muscle wasting, *Aging (Albany NY)*, 2012, 4:133-143.
- 20 31. Sherry B.A., Gelin J., Fong Y., Marano M., Wei H., Cerami A., *et al.*, Anticachectin/tumor necrosis factor-alpha antibodies attenuate development of cachexia in tumor models, *FASEB J.*, 1989, 3:1956-1962.
32. Strassmann G., Fong M., Kenney J.S., Jacob C.O., Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia, *J. Clin. Invest.*, 1992, 89:1681-1684.
- 25 33. Bonetto A., Penna F., Minero V.G., Reffo P., Bonelli G., Baccino F.M., *et al.*, Deacetylase inhibitors modulate the myostatin/follistatin axis without improving cachexia in tumor-bearing mice, *Curr. Cancer Drug Targets*, 2009, 9:608-616.
34. Alamdari N., Aversa Z., Castellero E., Hasselgren P.O., Acetylation and deacetylation—novel factors in muscle wasting, *Metabolism*, 2013, 62:1-11.
- 30 35. Senf S.M., Sandesara P.B., Reed S.A., Judge A.R., p300 Acetyltransferase activity differentially regulates the localization and activity of the FOXO homologues in skeletal muscle, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2011, 300:C1490-1501.
36. Black B.L., Olson E.N., Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (MEF2) proteins, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 1998, 14:167-196.
- 35 37. Moore-Carrasco R., Garcia-Martinez C., Busquets S., Ametller E., Barreiro E., López-Soriano F.J., *et al.*, The AP-1/CJUN signaling cascade is involved in muscle differentiation: implications in muscle wasting during cancer cachexia, *FEBS Lett.*, 2006, 580:691-696.
38. Der-Torossian H., Wysong A., Shadfar S., Willis M.S., McDunn J., Couch M.E., Metabolic derangements in the gastrocnemius and the effect of Compound A therapy in a murine model of cancer cachexia, *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2013, 4:145-155.
- 40 39. Asp M.L., Tian M., Wendel A.A., Belury M.A., Evidence for the contribution of insulin resistance to the development of cachexia in tumor-bearing mice, *Int. J. Cancer*, 2010, 126:756-763.
40. Honors M.A., Kinzig K.P., The role of insulin resistance in the development of muscle wasting during cancer cachexia, *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2012, 3:5-11.
- 45 41. Moylan J.S., Reid M.B., Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting, *Muscle Nerve*, 2007, 35:411-429.
42. Chu P.C., Kulp S.K., Chen C.S., Insulin-like growth factor-I receptor is suppressed through transcriptional repression and mRNA destabilization by a novel energy restriction-mimetic agent, *Carcinogenesis*, 2013, 34:2694-2705.

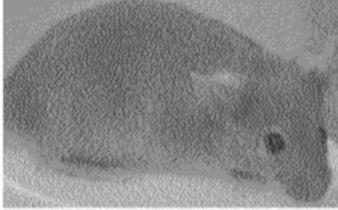
REIVINDICACIONES

- 5 1.- El inhibidor de HDAC AR-42 para su uso en la represión de la caquexia inducida por cáncer en un mamífero con cáncer, en el que el inhibidor de HDAC AR-42 se administra a dicho mamífero en una cantidad eficaz para mantener el peso del mamífero, comparado con un mamífero que no recibe el inhibidor de HDAC AR-42, y en el que el AR-42 para su uso para reprimir la caquexia inducida por cáncer es independiente de los efectos de AR-42 sobre la reducción de la carga tumoral.
- 2.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que el peso del mamífero no se reduce en más de aproximadamente 6% después de aproximadamente los primeros 15 días tras el tratamiento con AR-42.
- 10 3.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer pancreático, de colon, cabeza, cuello, gástrico y esofágico.
- 4.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que el mamífero es un ser humano.
- 5.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que el AR-42 se administra en una cantidad de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg del mamífero.
- 15 6.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que el AR-42 se administra al menos una vez diaria.
- 7.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 6, en el que el AR-42 se administra dos veces diarias en una cantidad de aproximadamente 50 mg/kg del mamífero.
- 8.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 7, en el que los niveles de IL-6 se reducen en aproximadamente 56%, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 20 9.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 8, en el que los niveles de LIF se reducen en aproximadamente 88%, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 10.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que la expresión del ARNm de atrogina-1 se restablece a los niveles basales, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 25 11.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que la expresión del ARNm de MuRF1 se restablece a los niveles basales, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 12.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que el aumento inducido por la caquexia en los niveles del ARNm de IL-6R α se reduce en aproximadamente 85%, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 30 13.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que la pérdida de tejido adiposo inducida por la caquexia se restablece, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 14.- El inhibidor de HDAC AR-42 para el uso de la reivindicación 1, en el que la reducción en el tamaño de las fibras del músculo esquelético inducida por la caquexia es restablecida por AR-42, comparado con un mamífero que no recibe AR-42.
- 35 15.- El inhibidor de HDAC AR-42 para su uso para mantener el peso del músculo esquelético en un mamífero que padece cáncer, en el que el AR-42 se administra a dicho mamífero en una cantidad eficaz para mantener al menos aproximadamente 90% del peso del músculo esquelético de dicho mamífero a lo largo de un periodo de tiempo de al menos 15 días, comparado con un mamífero que no recibe AR-42, y en el que el AR-42 para su uso para mantener el peso del músculo esquelético es independiente de los efectos de AR-42 sobre la reducción de la carga tumoral.

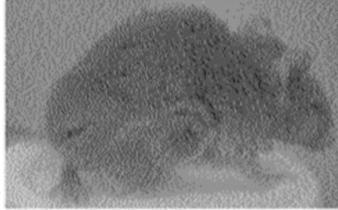
Figura 1A



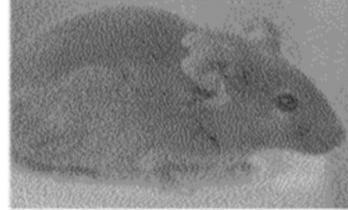
Días después de la inoculación de células tumorales



Ratones sin tumores



Tratados con vehículo



Tratados con AR-42

Ratones que portan tumores

FIG. 1B

Figura 1C

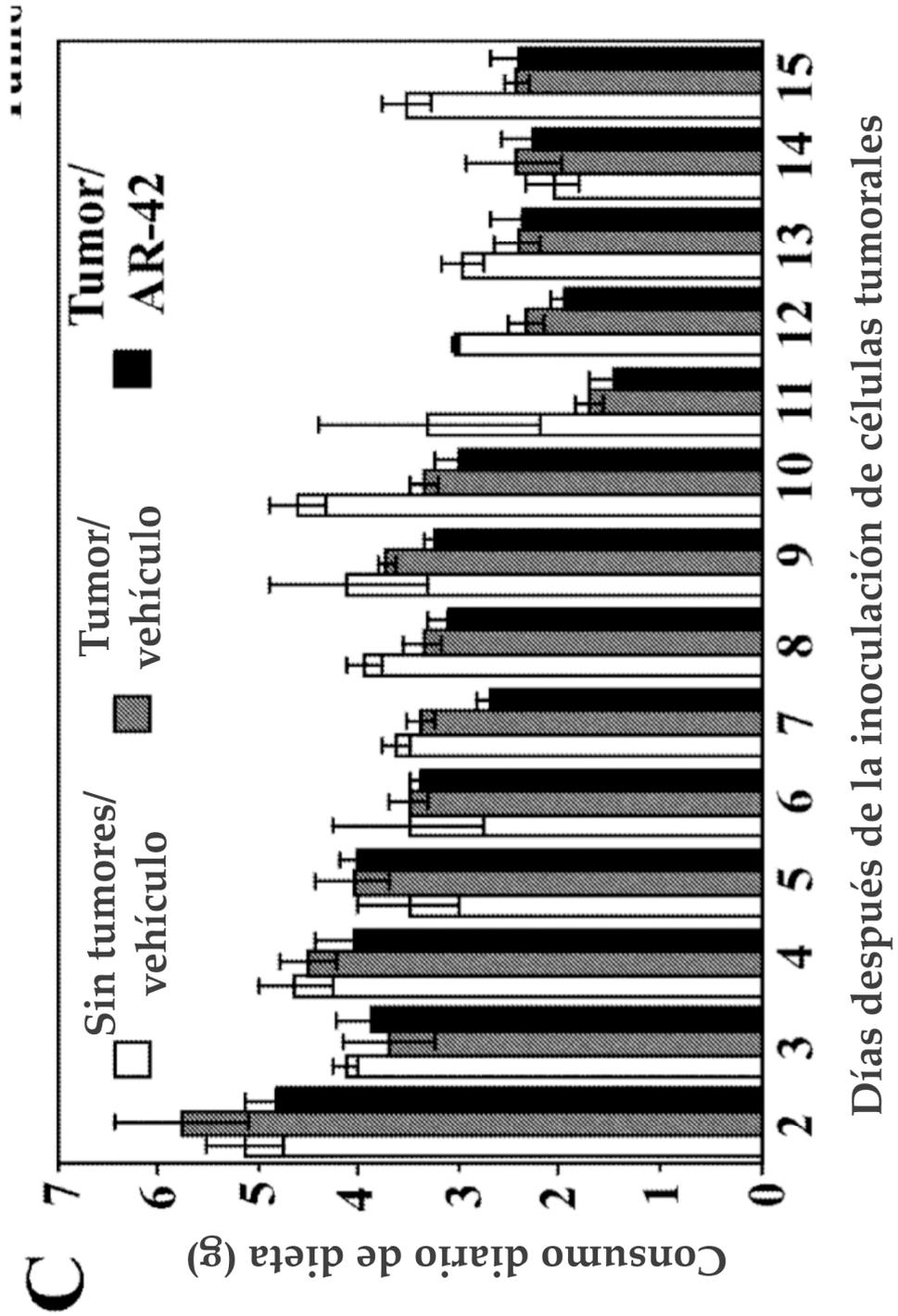


Figura 1D

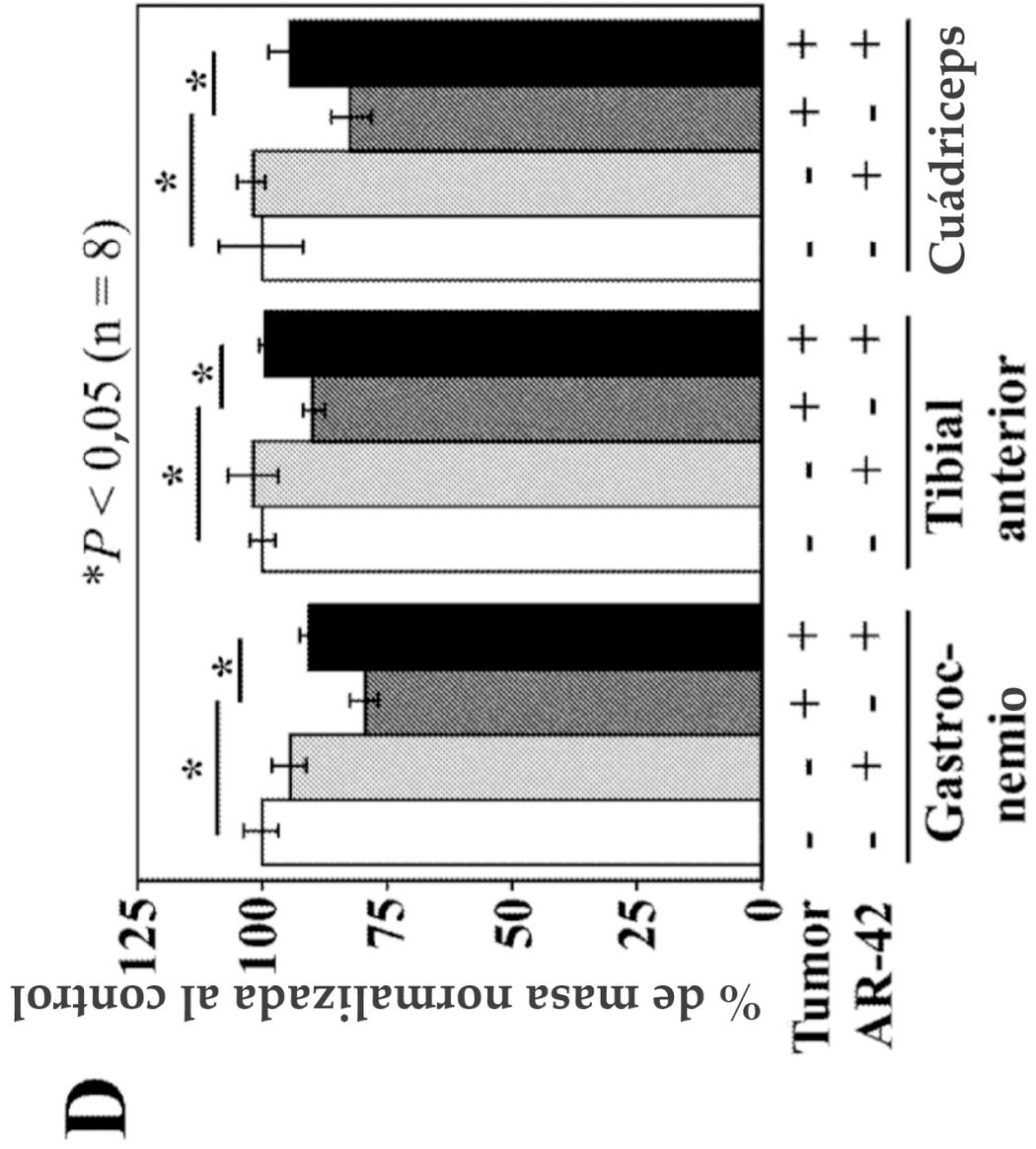
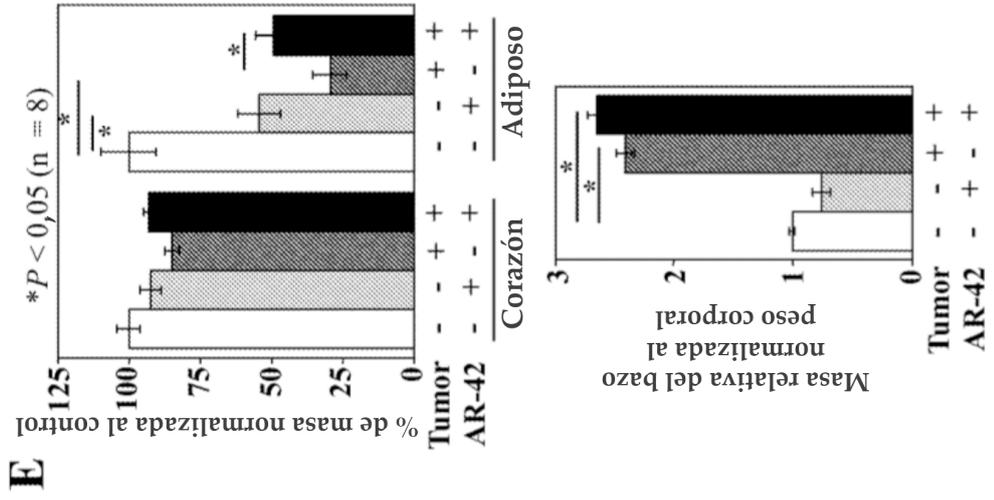


Figura 1E



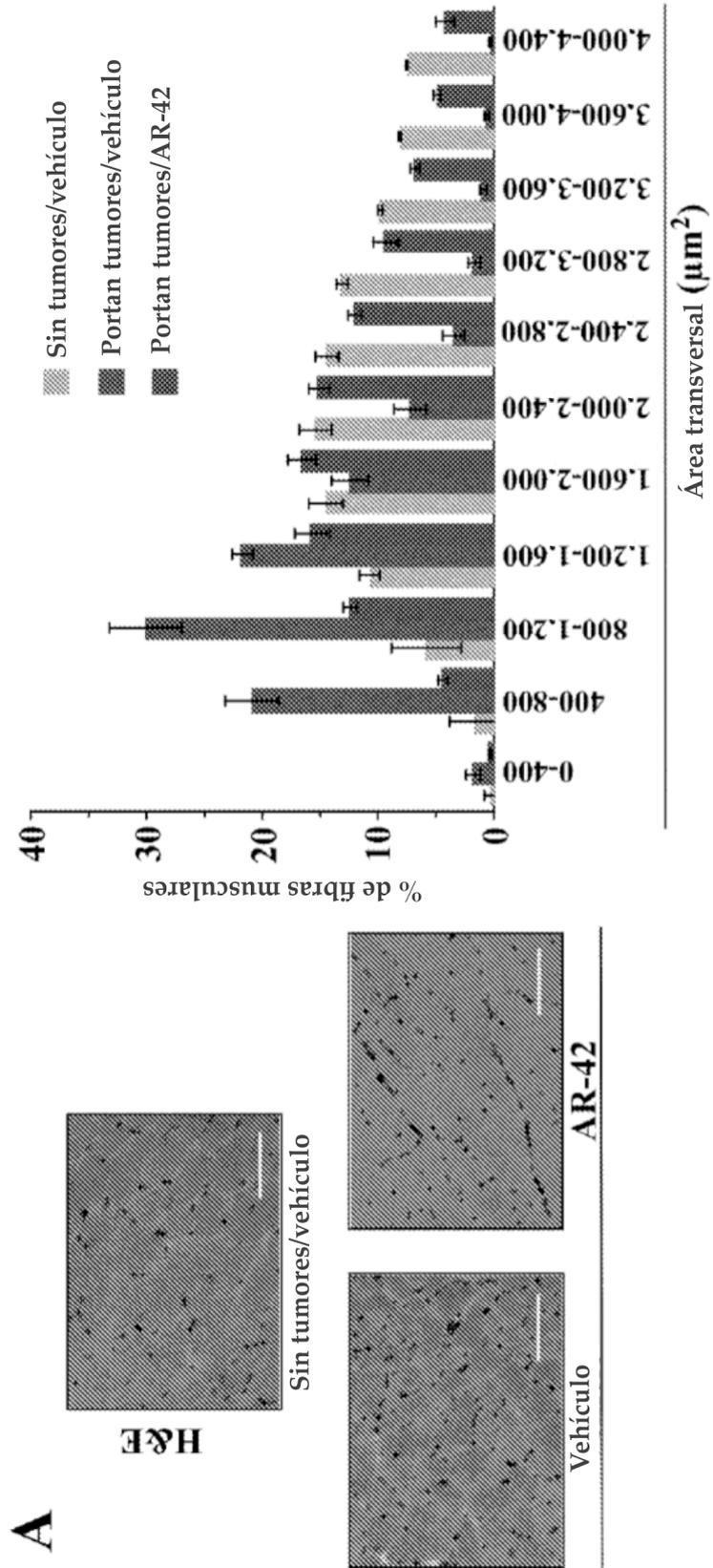
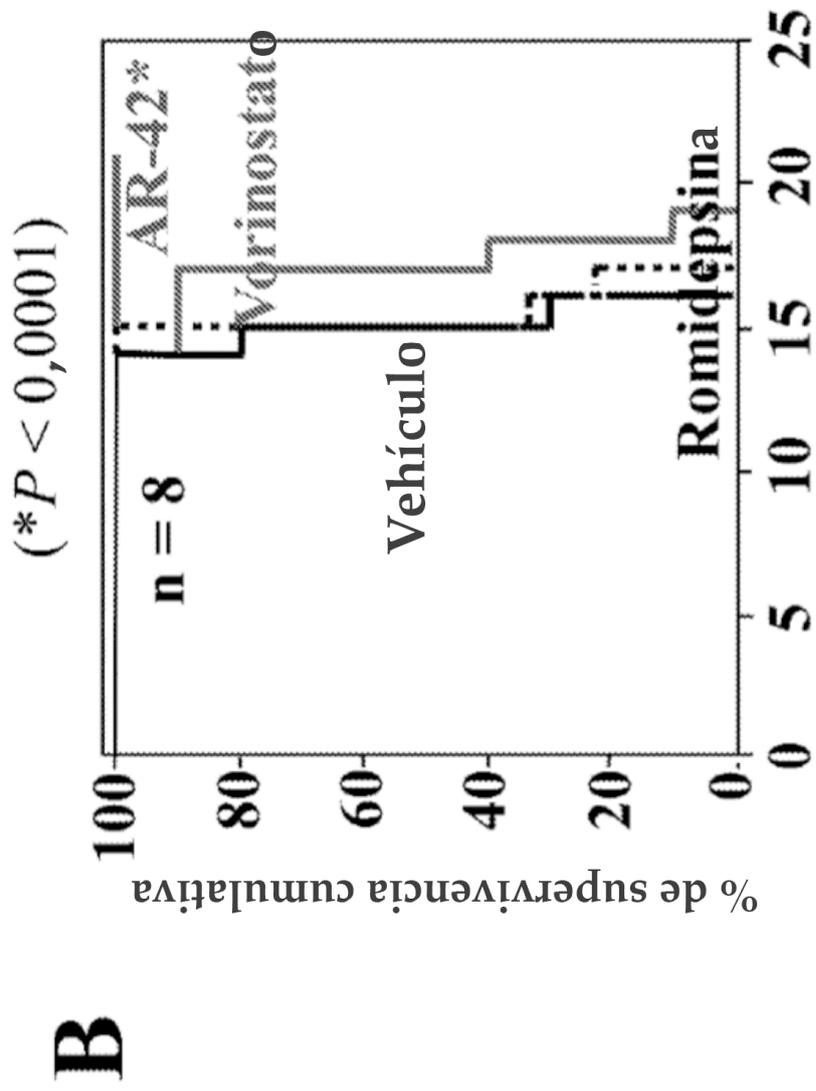


Figura 2A

Figura 2B



Días después de la inoculación de células tumorales

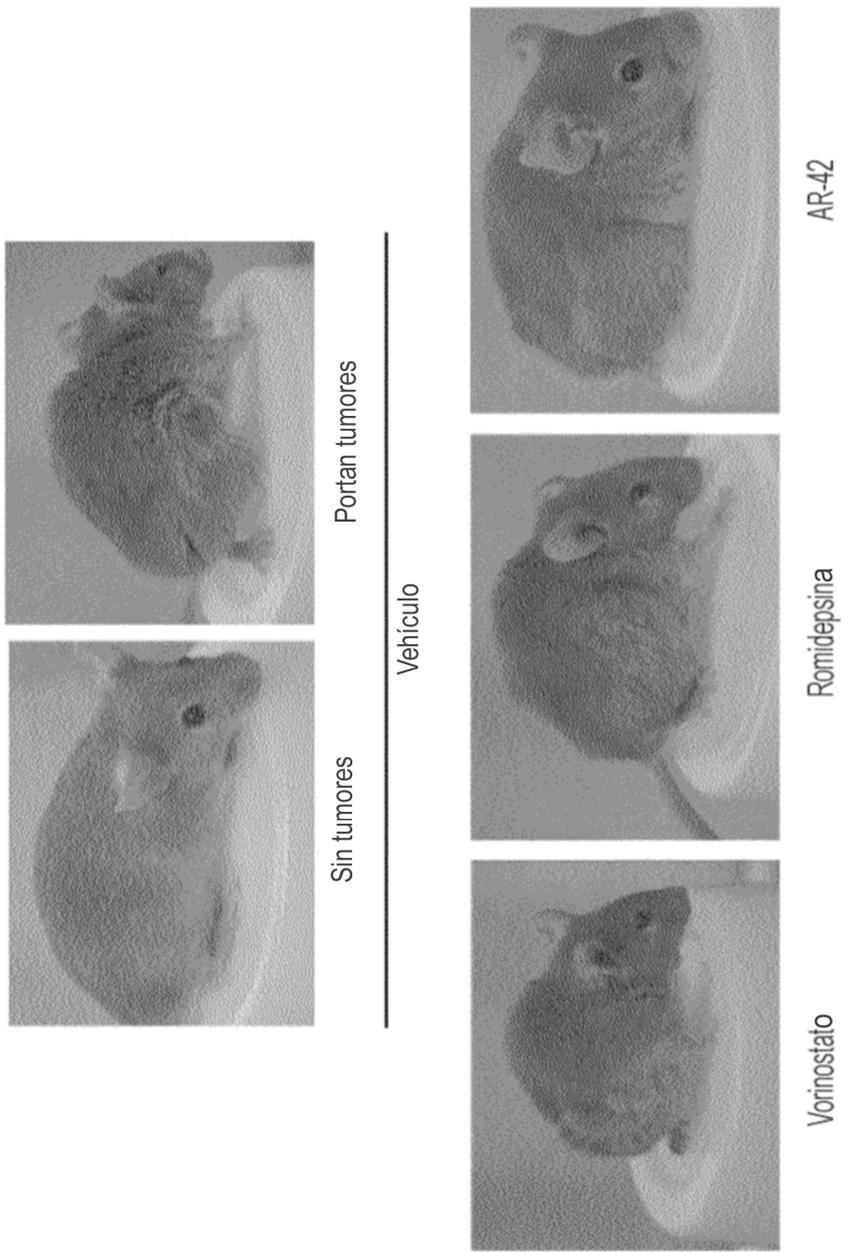


FIG. 2C

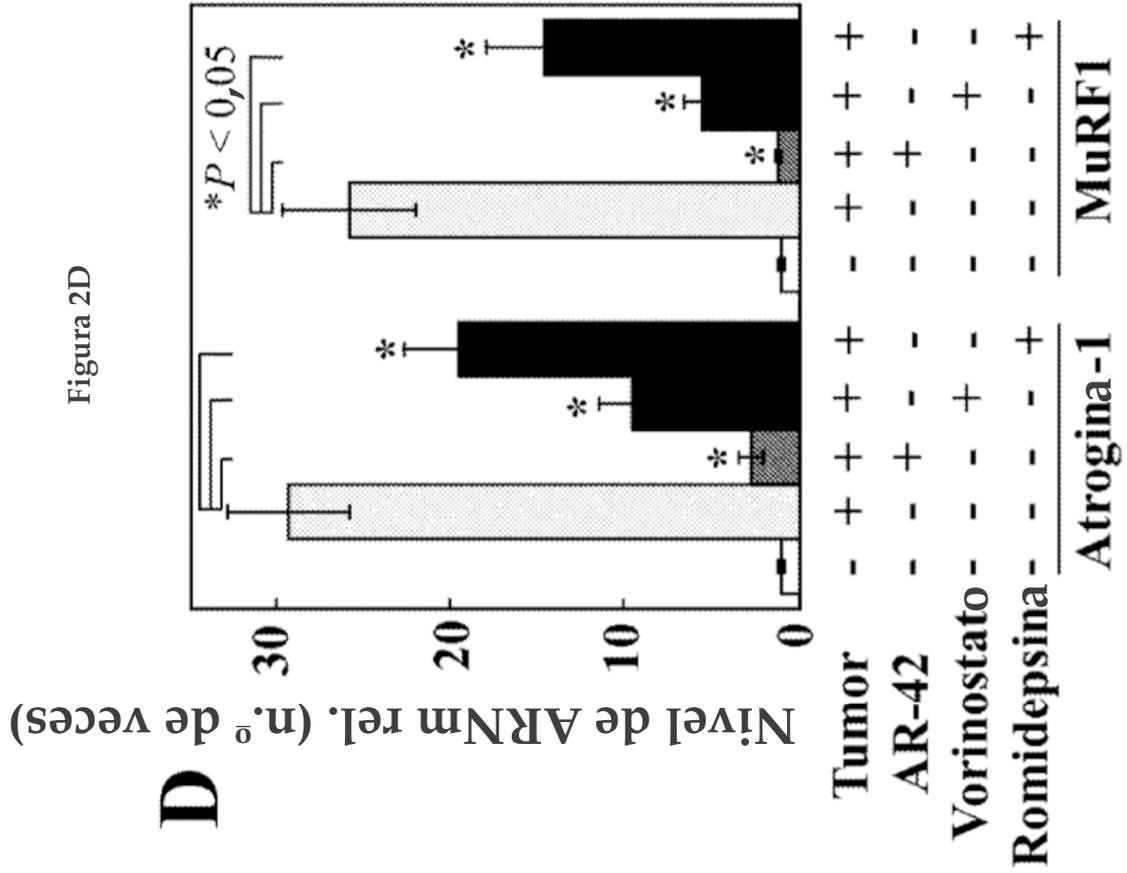


FIGURA 4

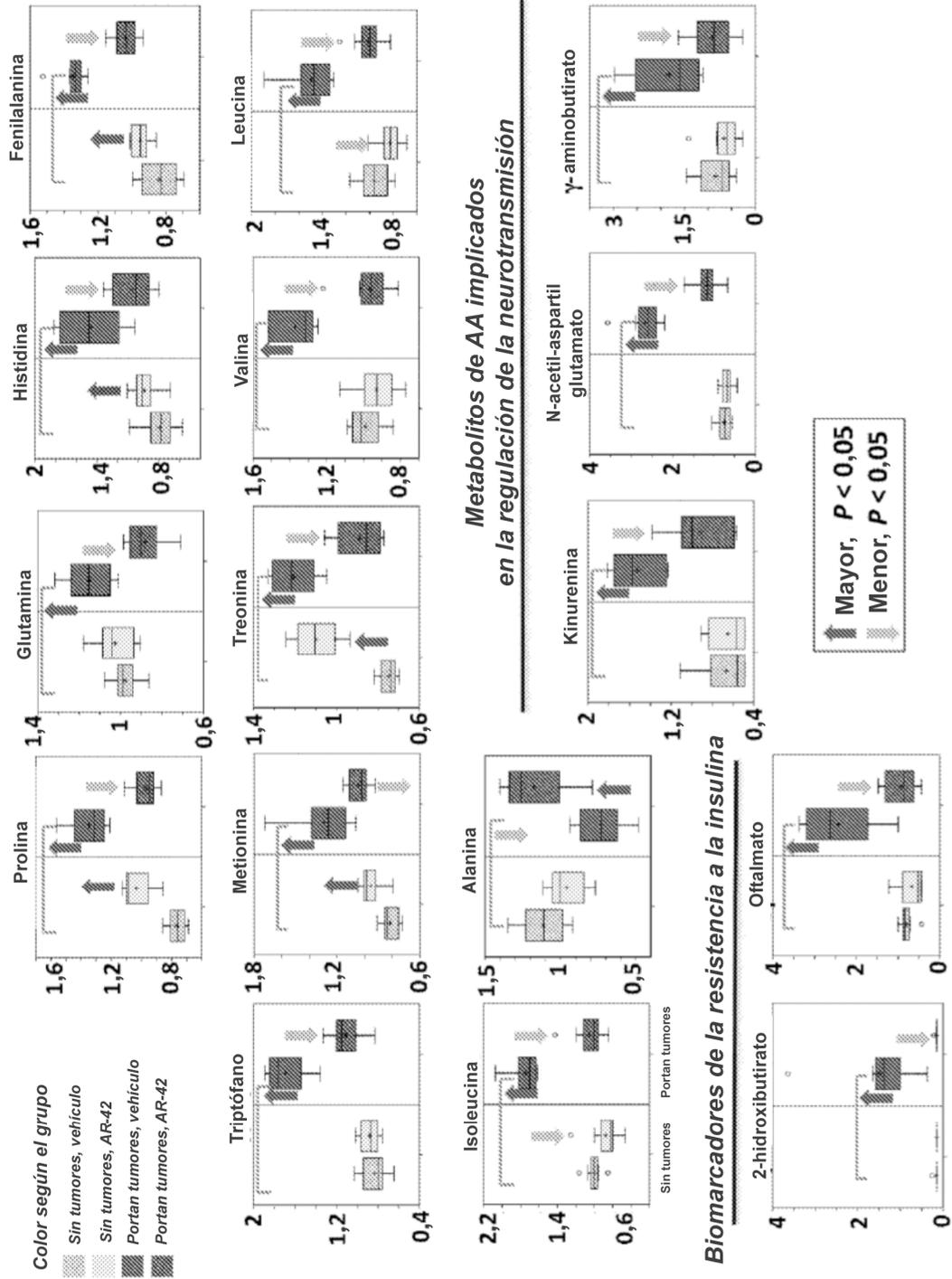
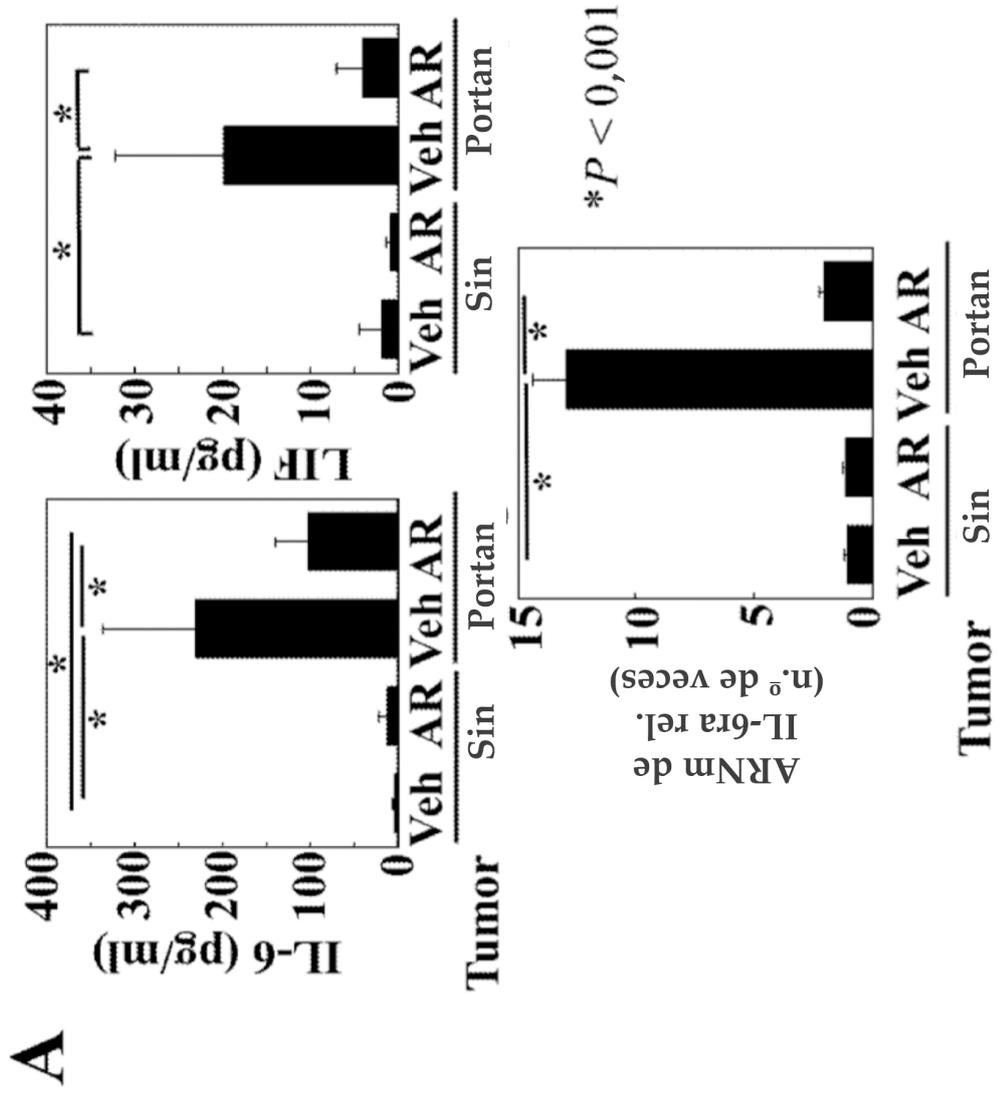


FIGURA 5A



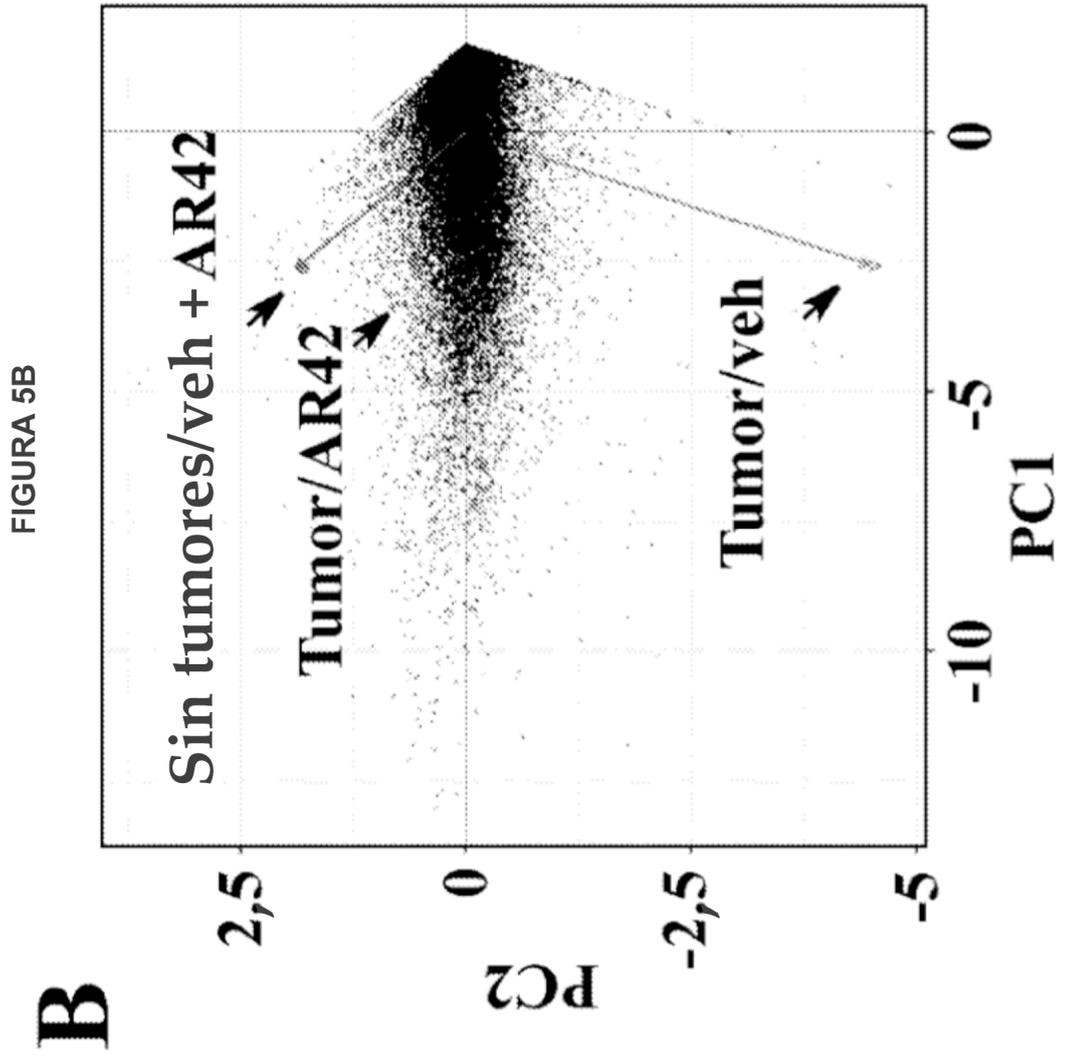


FIGURA 5C

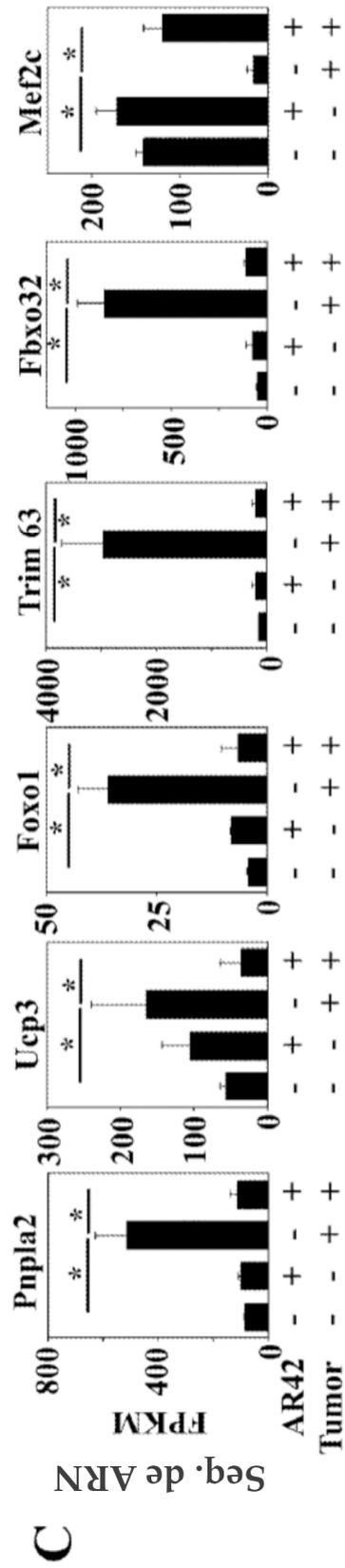


FIGURA 5D

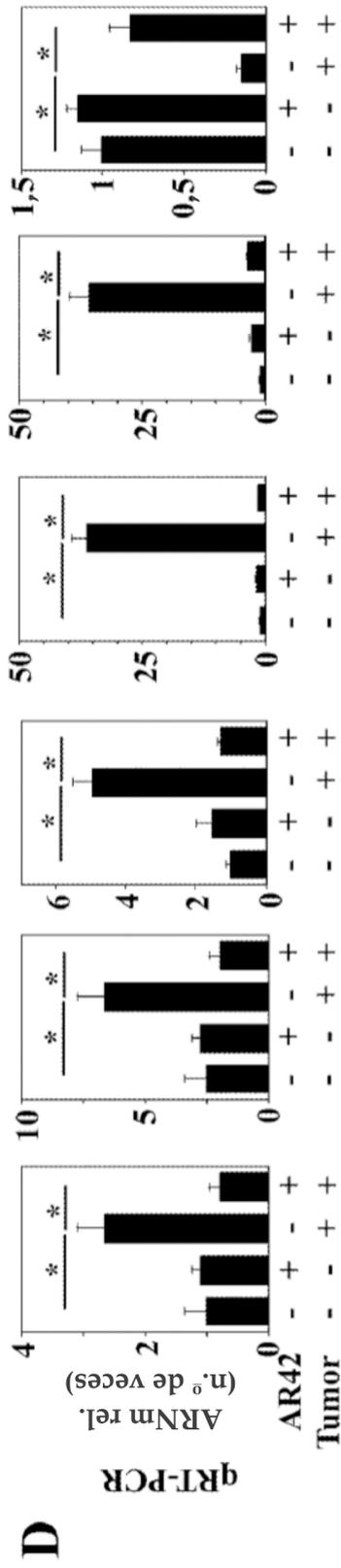
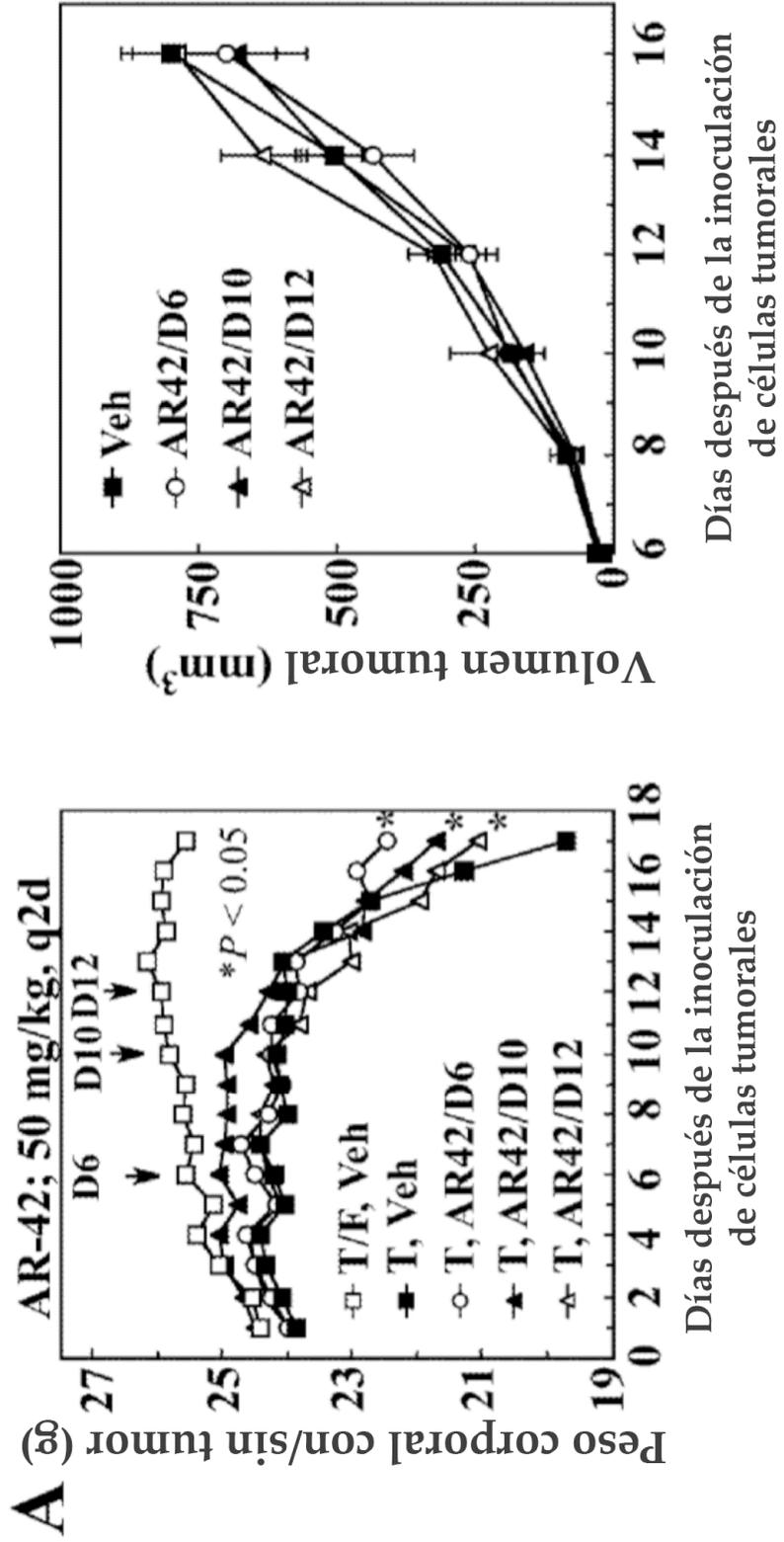


FIGURA 6A



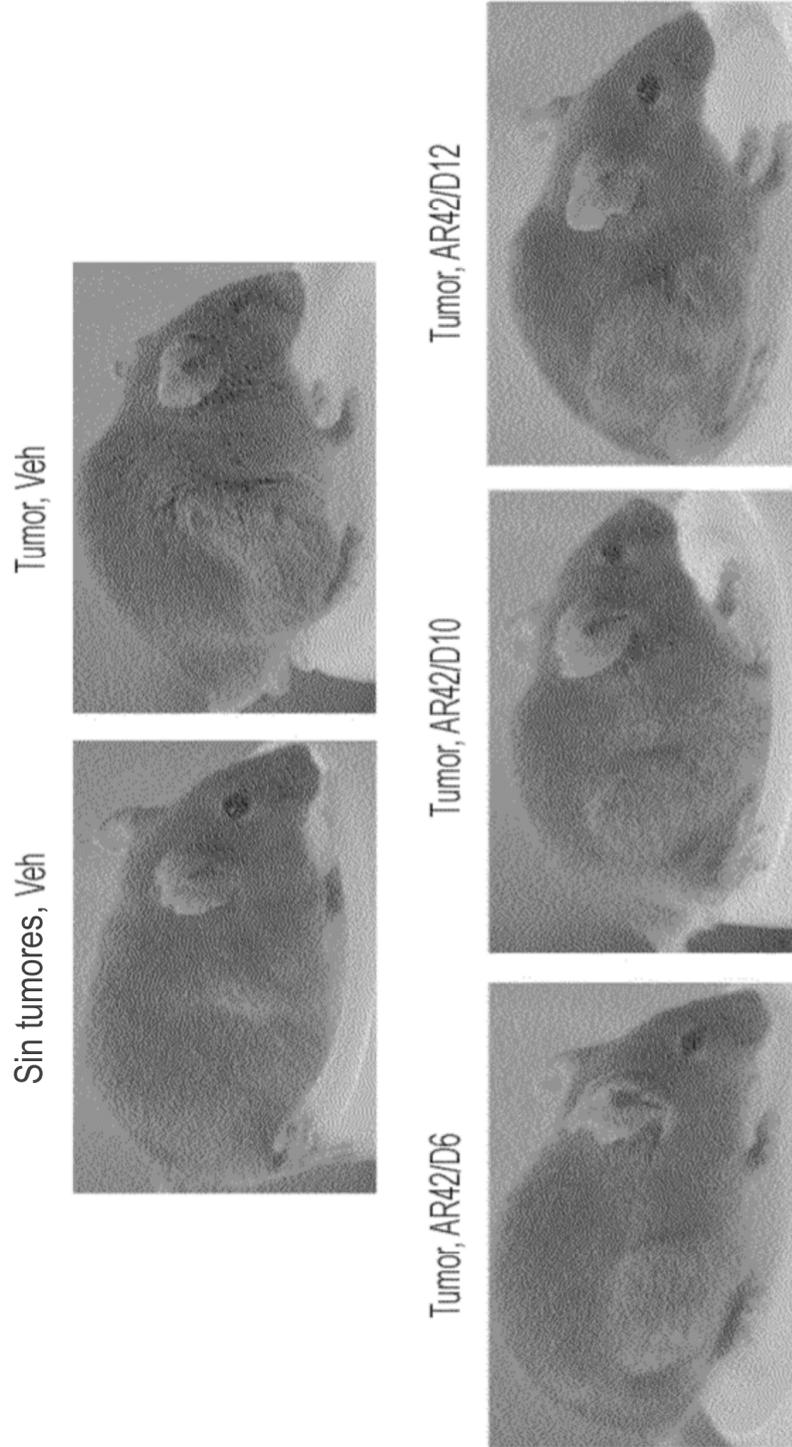


FIG. 6B

Figura 6C

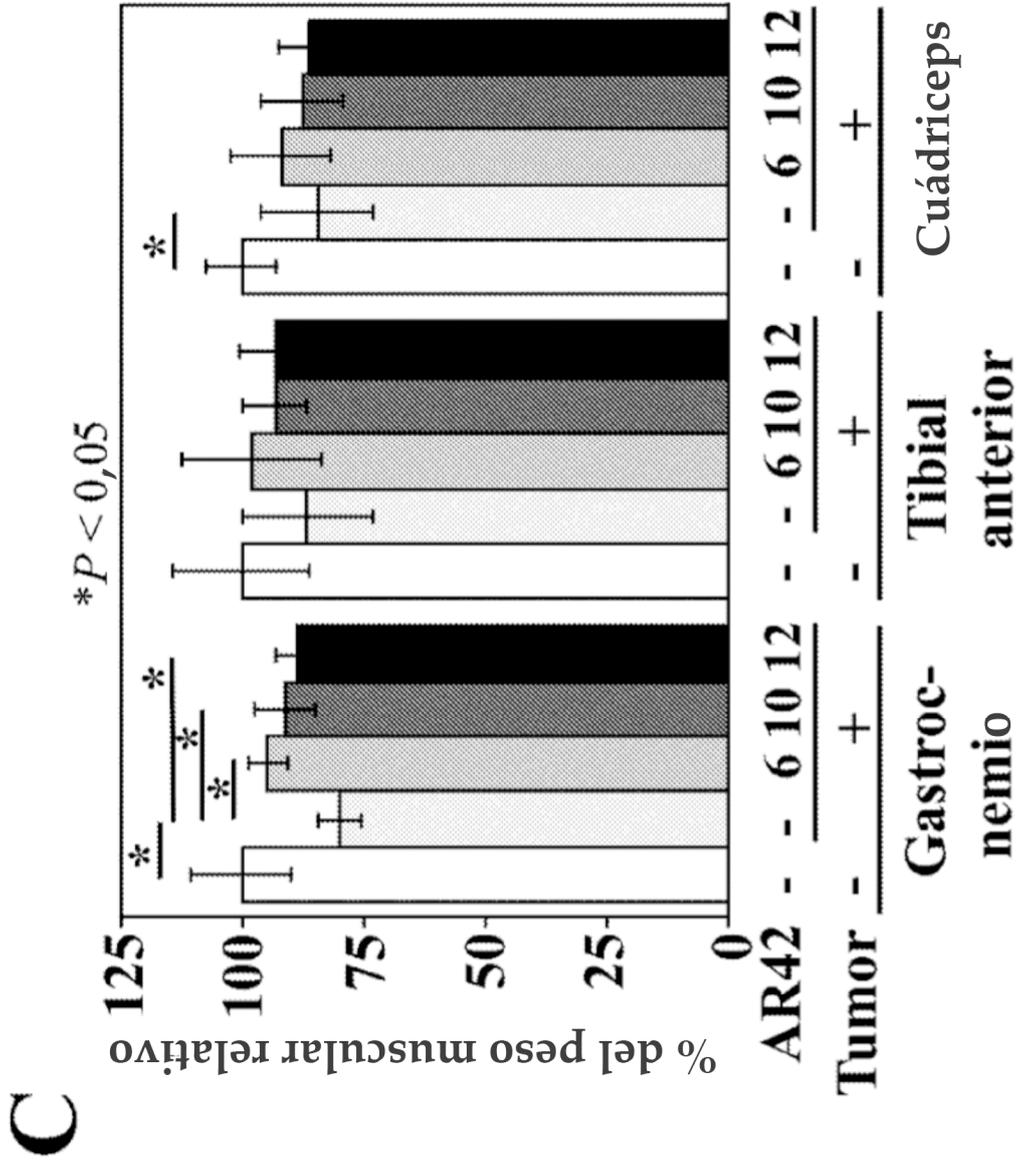


Figura 6D

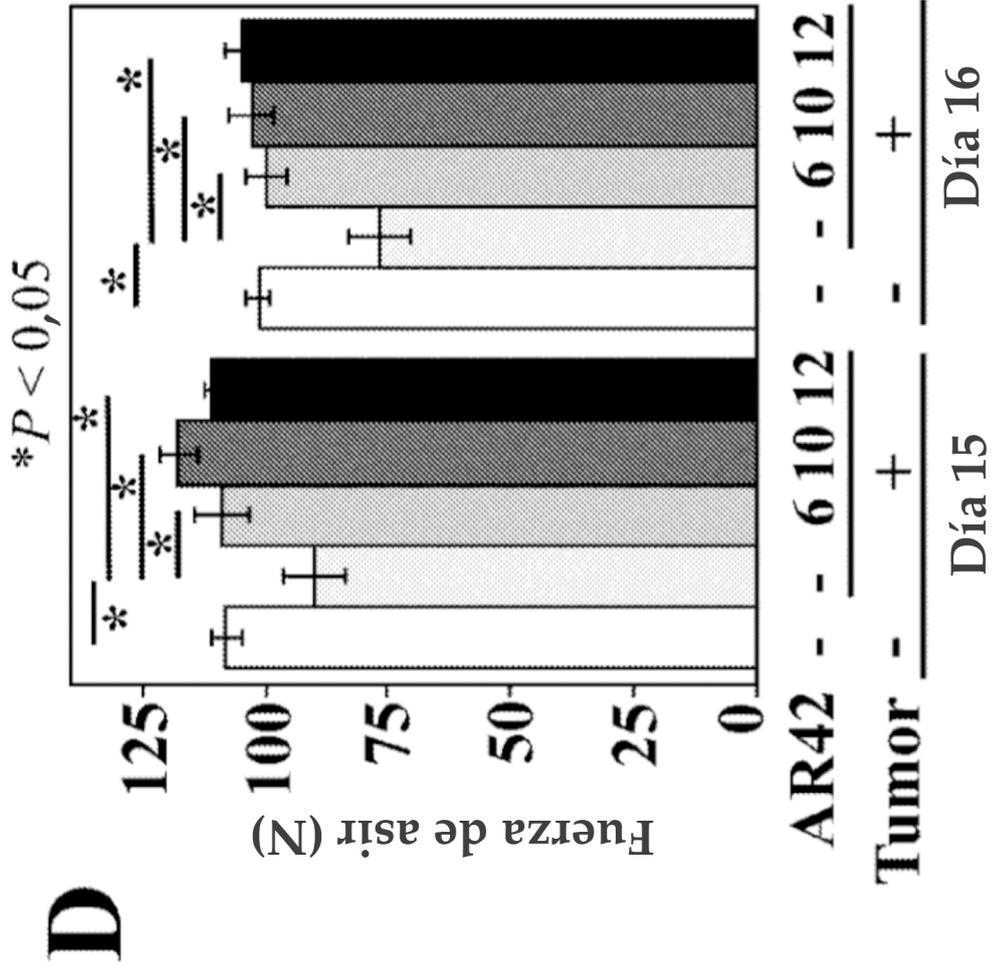


Figura 8

Tabla suplementaria 1: Secuencias de cebadores usados para la RT-PCR a tiempo real

Diana	Parejas de cebadores (5' → 3')	
ATGL (<i>PNPLA2</i>)	AACACCCAGCATCCAGTTCAA	GGTTCAGTAGGCCCATTCCTC
Atrogina-1 (<i>Fbxo32</i>)	CACATTCCTCCTCCIGGAAGGGC	TTGATAAAGTCTTTGAGGGGAAAGTG
Foxo1	TTCAAATTCGCCACAACTCTGTCC	GGGTGATTTTCCGGCTCTTGC
GAPDH	CATGGCCCTCCGTGTTCTA	GCGGCACCGTCAGATCCA
IL-6R α	CTCCCGGTGGCCCAGTACCA	TGCACTGGGGCGAGGACACT
Mef2c	GCTGTTCAGTACGCCAGCAC	AGTGCCGTGGGTGAGTGCATAA
MuRF1 (<i>Trim63</i>)	CACGAAAGACGAGAAGATCAACATC	AGCCCCAAACACCTTGCA
UCP3	CCAACATCACAGAATAATGC	TACAAACATCATCACGTTCC

ES 2 729 619 T3

Tabla 1. IPA de genes expresados diferencialmente (≥ 4 n.º de veces) relacionados con funciones o enfermedades musculares entre ratones que portan tumores C-26 tratados con AR-42 y con vehículo (n = 6)

Ref. Seq. ID	ID del gen	Log2 del cambio en n.º de veces	Valor de P	Descripción	Anotación de enfermedad o función
<i>Sobrerregulados por AR-42</i>					
NM_024291	Ky	4,3	0,0004	quifoscólicos peptidasa inducida por gangliósido	Desarrollo del músculo
NM_010267	Gdapl	4,2	0,0004	proteína 1 asociada a la diferenciación	Atrofia del músculo; miopatía
NM_013569	Kcnh2	4,1	0,0004	canal controlado por voltaje de potasio, subfamilia H, miembro 2	Atrofia del músculo; miopatía
NM_009608	Actc1	3,9	0,0004	actina, alfa, cardíaca	Desarrollo y morfología del músculo; miopatía; muerte de células musculares
NM_183408	Pde4a	3,7	0,0004	fosfodiesterasa 4A, específica de AMPc	Miopatía
NM_022322	Tnmd	3,5	0,0004	tenomodulina	Morfología del músculo
NM_013803	Casr	3,5	0,0004	receptor sensible al calcio	Muerte de células musculares
NM_008596	Sypl2	3,5	0,0004	similar a sinaptofisina 2	Contractilidad, desarrollo y morfología del músculo; tamaño de las células del músculo esquelético
NM_010518	Igftop5	3,3	0,0004	proteína 5 de unión al factor del crecimiento similar a la insulina	Desarrollo del músculo; masa del músculo esquelético
NM_008876	Pld2	3,2	0,0191	fosfolipasa D2	Muerte de células musculares
NM_080440	Sk8a3	3,2	0,0004	familia 8 de transportadores de solutos (intercambiador de sodio/calcio), miembro 3	Muerte de células musculares
NM_198190	Ntf5	3,2	0,0004	neurotrofina 4	Desarrollo del músculo
NM_001170537	Mef2c	2,9	0,0004	factor 2C potenciador de miocitos	Contractilidad y desarrollo del músculo
NM_176848	Fbxo2	2,8	0,0004	proteína F-box 2	Catabolismo de proteínas
NM_022027	Synel	2,7	0,0004	envuelta nuclear sináptica 2	Desarrollo, función y morfología del músculo; miopatía
NM_009255	Serpina2	2,6	0,0004	inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado F, miembro 2	Catabolismo de proteínas
NM_001256224	Wnt5a	2,6	0,0011	sitio de integración 5A de MMTV relacionado con áptero	Catabolismo de proteínas
NM_134028	Tubg2	2,6	0,0004	tubulina, gamma 2	Miopatía

Figura 9

ES 2 729 619 T3

NM_021508	Myox1	2,5	0,0004	mioxenina 1	Desarrollo y morfología del músculo, masa del músculo esquelético y tamaño de las células
NM_110361	Cflar	2,5	0,0004	regulador de la apoptosis similar a FADD y CASP8	Morfología del músculo
NM_178608	Reep1	2,3	0,0004	proteína 1 accesoria de receptor	Miopatía
NM_001252455	Ptpns	2,3	0,0004	proteína tirosina fosfatasa, de tipo receptor, S	Morfología del músculo, miopatía
NM_013491	Clcn1	2,3	0,0004	canal de cloruro 1	Función del músculo
NM_008305	Hspg2	2,3	0,0004	perlecano (proteoglicano 2 de sulfato de heparano)	Morfología y desarrollo del músculo
NM_025358	Ndnfa9	2,3	0,0004	NADH deshidrogenasa (ubiquinona) 1 alfa, subcomplejo 9	Miopatía
NM_011436	Sort1	2,3	0,0004	receptor relacionado con sortilina, contiene repeticiones de LDLR de clase A	Función del músculo
NM_001243009	Col6a3	2,3	0,0004	colágeno, tipo VI, alfa 3	Desarrollo del músculo, miopatía
NM_025343	Rmnd1	2,3	0,0200	homólogo 1 necesario para la división nuclear meiótica (<i>S. cerevisiae</i>)	Miopatía
NM_001289762	Rarb	2,2	0,0004	receptor del ácido retinoico, beta	Muerte de células musculares
NM_021355	Fmod	2,1	0,0004	fibromodulina	Morfología del músculo
NM_013645	Pvalb	2,1	0,0004	parvalbúmina	Contractilidad y desarrollo del músculo
NM_172259	Myl6b	2,1	0,0004	miosina, polipéptido ligero 6B	Desarrollo del músculo
NM_008551	Mapkap2	2,1	0,0004	proteína quinasa 2 activada por MAP quinasa	Muerte de células musculares
NM_013712	Itgblp2	2,1	0,0004	proteína de unión 2 a la integrina beta 1	Desarrollo del músculo
NM_021566	Jph2	2,1	0,0004	junctofilina 2	Desarrollo y morfología del músculo, miopatía
NM_025823	Pcyox1	2,0	0,0004	prenilcisteína oxidasa 1	Catabolismo de proteínas
NM_001013833	Prkg1	2,0	0,0004	proteína quinasa, dependiente de GMPc, de tipo 1	Contractilidad y función del músculo
NM_019735	Apip	2,0	0,0004	proteína de interacción con APAF1	Muerte de células musculares
NM_009022	Aldh1a2	2,0	0,0004	familia 1 de aldehído deshidrogenasa, subfamilia A2	Desarrollo y morfología del músculo
NM_008524	Lum	2,0	0,0004	lumicano	Morfología del músculo

Figura 9 (continuación)

ES 2 729 619 T3

<i>Infrarregulados por AR-42</i>					
NM_138677	Edeml	-2,0	0,0004	potenciador de la degradación de ER, similar a manosidasa alfa 1	Catabolismo de proteínas
NM_001163704	Fbxo6	-2,0	0,0004	proteína 6 de caja F	Catabolismo de proteínas
NM_0011724	Xirpl	-2,1	0,0004	contiene repetición de unión a Xin actina 1	Contractilidad, desarrollo y morfología del músculo
NM_001111099	Cdkn1a	-2,1	0,0004	inhibidor de quinasa 1A dependiente de ciclina (P21)	Desarrollo y morfología del músculo, masa del músculo esquelético y tamaño de las células, muerte de células musculares
NM_001199733	Daxx	-2,1	0,0004	proteína asociada al dominio de muerte Fas	Muerte de células musculares
NM_001081044	Mylk2	-2,1	0,0004	miosina, quinasa de polipéptido ligero 2, músculo esquelético	Desarrollo del músculo, miopatía
NM_016736	Nub1	-2,1	0,0004	regulador negativo de proteínas similares a ubiquitina 1	Catabolismo de proteínas
NM_007582	Cacng1	-2,2	0,0004	canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad gamma 1	Desarrollo del músculo, catabolismo de proteínas
NM_020033	Ankrd2	-2,2	0,0004	dominio de repetición de anquirina 2 (músculo que responde al estiramiento)	Función y morfología del músculo
NM_172845	Adamts4	-2,2	0,0004	similar a disintegrina A y metalopeptidasa (de tipo reprotisina) con motivo de tipo 1 de trombospondina, 4	Desarrollo del músculo, catabolismo de proteínas
NM_009464	Ucp3	-2,2	0,0004	proteína desacoplante 3	Masa del músculo esquelético
NM_028142	Pupla2	-2,2	0,0004	contiene dominio de fosfolipasa similar a patatina 2	Morfología del músculo, muerte de células musculares
NM_104580	Slc8a1	-2,3	0,0004	Familia de transportadores de solutos 8 (intercambiador de sodio/calcio), miembro 1	Desarrollo y morfología del músculo, muerte de células musculares, miopatía
NM_008871	Serpina1	-2,3	0,0004	inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado E, miembro 1	Desarrollo del músculo
NM_001081185	Finc	-2,3	0,0004	filamina C, gamma (proteína de unión a actina 280)	Desarrollo y morfología del músculo, miopatía
NM_009238	Sox4	-2,3	0,0004	gen 4 que contiene caja SRY	Desarrollo y morfología del músculo
NM_001289716	Bcl211	-2,4	0,0004	similar a Bcl2 1	Muerte de células musculares, miopatía
NM_001165894	Akt1	-2,4	0,0004	protooncogén 1 vírico de timoma	Atrofia, desarrollo y función del músculo, tamaño de las células del músculo esquelético, miopatía, catabolismo de proteínas

Figura 9 (continuación)

NM_007428	Agt	-2,5	0,0004	angiotensina (inhibidor de serpina peptidasa, clado A, miembro 8)	Atrofia del músculo, masa del músculo liso, muerte de células musculares, miopatía, catabolismo de proteínas
NM_019739	Foxo1	-2,5	0,0004	caja Forkhead O1	Atrofia y desarrollo del músculo, masa del músculo esquelético, muerte de las células musculares, miopatía
NM_013560	Hspbl	-2,5	0,0004	proteína 1 de choque térmico	Atrofia del músculo, muerte de células musculares, miopatía
NM_026346	Fbxo32	-3,0	0,0004	proteína 32 de caja F	Atrofia del músculo, miopatía, catabolismo de proteínas
NM_001159324	Gaa	-3,0	0,0004	glucosidasa, alfa, ácida	Atrofia, desarrollo, función y morfología del músculo, miopatía
NM_008244	Hgs	-3,3	0,0004	sustrato de tirosina quinasa regulado por HGF	Catabolismo de proteínas
NM_013468	Ankrd1	-3,6	0,0004	dominio 1 de repetición de anquirina (músculo cardíaco)	Desarrollo, función y morfología del músculo, muerte de células musculares
NM_001039048	Trim63	-3,9	0,0004	contiene el motivo tripartito 63	Contractilidad y morfología del músculo, masa del músculo esquelético y tamaño de las células, atrofia del músculo, miopatía
NM_008491	Lcn2	-4,9	0,0004	lipocalina 2	Muerte de células musculares

Figura 9 (continuación)

Figura 10

Tabla suplementaria 2. Análisis del perfil de citoquinas de muestras de suero procedentes de ratones sin tumores y ratones que portan tumores C-26 tratados con vehículo o con AR-42 (promedios +/- D.E.; n = 3 para cada grupo)

pg/ml	Ratones sin tumores		Ratones que portan tumores C-26	
	Vehículo	AR-42 (n = 3)	Vehículo	AR-42
Eotaxina	677,2 ± 34,2	633,9 ± 84,8	766,8 ± 191,7	636,2 ± 146,0
G-CSF	145,4 ± 27,5	1215 ± 291	2520 ± 1533	2284 ± 989
GM-CSF	31,9 ± 18,3	44,7 ± 14,8	36,4 ± 21,1	41,1 ± 23,7
IPN γ	4,7 ± 2,9	1,2 ± 1,7	0,39 ± 0,76	0,89 ± 1,34
IL-1 α	293,0 ± 184,7	169,5 ± 130,2	78,7 ± 50,7	25,1 ± 15,7
IL-1 β	11,1 ± 17,0	4,7 ± 2,7	2,9 ± 2,3	2,2 ± 1,8
IL-2	3,6 ± 1,1	4,0 ± 1,6	3,8 ± 1,7	1,7 ± 1,3
IL-3	3,0 ± 1,9	1,2 ± 1,4	0,5 ± 0,7	1,7 ± 2,6
IL-4	0,02 ± 0,05	0	0	0,5 ± 0,9
IL-5	3,4 ± 0,6	4,3 ± 1,1	0,76 ± 1,09	25,2 ± 40,6
IL-6	3,0 ± 1,3	5,1 ± 3,6	216,6 ± 108,8	100,6 ± 43,1
IL-7	8,8 ± 2,5	13,0 ± 10,2	10,9 ± 5,2	5,8 ± 2,2
IL-9	38,8 ± 8,7	34,0 ± 13,0	54,4 ± 42,0	11,4 ± 21,2
IL-10	5,6 ± 2,0	6,8 ± 1,0	8,2 ± 3,6	14,9 ± 9,8
IL-12 (p40)	57,7 ± 33,1	42,8 ± 44,6	7,3 ± 1,8	7,4 ± 2,8
IL-12 (p70)	4,6 ± 1,5	5,0 ± 1,9	3,8 ± 2,2	15,3 ± 32,0
IL-13	109,9 ± 20,7	63,0 ± 27,6	88,0 ± 24,8	68,3 ± 26,8
IL-15	36,2 ± 13,0	70,7 ± 88,1	94,1 ± 161,3	18,6 ± 8,7
IL-17	5,1 ± 1,1	6,838 ± 3,010	3,293 ± 2,925	3,277 ± 2,774
IP-10	166,2 ± 53,3	135,6 ± 42,4	180,5 ± 59,9	311,5 ± 140,4
KC	89,7 ± 38,2	156,4 ± 62,4	115,1 ± 43,9	1070 ± 1072
LIF	1,7 ± 2,7	5,1 ± 10,247	20,8 ± 13,1	4,7 ± 3,0
LIX	6778 ± 2835	5625 ± 2760	4917 ± 3165	1197 ± 1376
MCP-1	41,8 ± 12,1	24,8 ± 5,9	35,5 ± 27,3	63,1 ± 17,8
M-CSF	9,5 ± 4,3	5,9 ± 1,7	4,2 ± 2,3	6,6 ± 2,4
MIG	136,5 ± 94,3	66,0 ± 35,1	30,2 ± 18,0	77,4 ± 33,0
MIP-1 α	51,3 ± 17,7	42,2 ± 25,0	40,2 ± 24,1	22,9 ± 19,3
MIP-1 β	103,7 ± 8,8	89,7 ± 14,7	63,6 ± 17,9	70,2 ± 8,8
MIP-2	81,1 ± 20,9	68,1 ± 20,4	57,4 ± 21,9	49,8 ± 4,0
RANTES	27,9 ± 4,5	21,8 ± 7,3	21,2 ± 7,5	20,2 ± 5,5
TNF α	5,5 ± 3,5	0,23 ± 0,52	2,8 ± 3,7	3,2 ± 3,5
VEGF	1,7 ± 0,36	1,5 ± 0,6	1,4 ± 0,5	1,1 ± 0,3

Tabla suplementaria 3. Análisis de la secuencia de ARN de genes expresados diferencialmente (≥ 4 n.º de veces) en músculos procedentes de ratones que portan tumores C-26 tratados con AR-42 frente a los tratados vehículo (n = 3)

Ref. Seq. ID (UCSC)	ID del gen	Log2 del cambio en n.º de veces	Valor de P	Descripción
Sobrerregulados por AR-42				
NM_009700	Aqp4	6,7	0,0004	Acuaporina 4
NM_009867	Cdh4	6,2	0,0004	Cadherina 4
NM_002870	Dnm3os	6,1	0,0004	Dinamina 3, hebra opuesta
NM_207281.3	4832428D23Rik	6,0	0,0004	Gen 4832428D23 del ADNc de RIKEN
NM_001081116	Arhgef17	5,8	0,0083	Factor intercambiador de nucleótidos de guanina Rho (GEF) 17
NM_008438	Kera	5,8	0,0004	Queratocano
NM_008393	Irx 3	5,6	0,0004	Homeocaja 3 relacionado con iroqués (<i>Drosophila</i>)
NM_008473	Krt1	5,5	0,0004	Queratina 1
NM_001198886	Dpp6	5,4	0,0004	Dipeptidilpeptidasa 6
NM_016749	Mybph	5,1	0,0004	Proteína H de unión a miosina
NM_001162983	Lrrc38	5,0	0,0004	Contiene repetición rica en leucina 38
NM_001109988.1	D0H4S114	4,9	0,0004	Segmento de ADN, D4S114 humano
NM_001101475	F830016B08Rik	4,9	0,0382	Gen F830016B08 de ADNc de RIKEN
NM_045431	4933401D09Rik	4,9	0,0004	Gen 4933401D09 de ADNc de RIKEN
NM_001205219	Sorbs2	4,9	0,0436	Contiene dominio SH3 y sorbina 2
NM_010254	Galr2	4,9	0,0004	Receptor de galanina 2
NM_0011825	Grem2	4,9	0,0004	Homólogo de gremlin 2, superfamilia del nudo de cisteína (<i>Xenopus laevis</i>)
NM_001081456	Plcd4	4,8	0,0004	Fosfolipasa C, delta 4
NM_181664	Crip3	4,7	0,0004	Proteína rica en cisteína 3
NM_027948	1700003E16Rik	4,7	0,0004	Gen 1700003E16 de ADNc de RIKEN
NM_028639	Ttc7	4,7	0,0317	Dominio de repetición de tetratricopéptido 7
NM_045491	2310016D03Rik	4,7	0,0004	Gen 2310016D03 de ADNc de RIKEN
NM_025734	Kcng4	4,6	0,0004	Canal de apertura por voltaje de potasio, subfamilia G, miembro 4
NM_025290	Rsph1	4,6	0,0004	Homólogo 1 de cabeza de radios de rueda (<i>Chlamydomonas</i>)
NM_011506	Sucla2	4,5	0,0014	Succinato-coenzima A ligasa, subunidad B formadora de ADP
NM_001101475	F830016B08Rik	4,5	0,0021	Gen F830016B08 de ADNc de RIKEN
NM_001081052	Nhs	4,5	0,0004	Síndrome de Nance-Horan (humano)
NM_001008533	Adoral	4,4	0,0004	Receptor A1 de adenosina
NM_029932	Spns3	4,4	0,0004	Homólogo 3 de soltera (<i>Drosophila</i>)
NM_001013013	Dhrs7c	4,4	0,0008	Deshidrogenasa/reductasa (familia SDR), miembro 7C
NM_024291	Ky	4,3	0,0004	Quifoscoliosis peptidasa
NM_010742	Ly6d	4,2	0,0085	Complejo de antígeno de linfocitos 6, locus D
NM_010267	Gdap1	4,2	0,0004	Proteína 1 asociada a la diferenciación inducida por gangliósido
NM_013569	Kcnh2	4,1	0,0004	Canal de apertura por voltaje de potasio, subfamilia 1 (relacionada con eag), miembro 2
NM_176916	Pld5	4,1	0,0004	Familia de fosfolipasa D, miembro 5

Figura 11

ES 2 729 619 T3

NM_001164223	Rpa1	4,1	0,0102	Proteína de replicación A1
NM_008508	Lor	4,1	0,0004	Loricrina
NM_001114116	Syt3	4,0	0,0004	Sinaptotagmina III
NM_013530	Gnb3	4,0	0,0004	Proteína de unión a nucleótidos de guanina, beta 3
NM_020036	Calm4	3,9	0,0004	Calmodulina 4
NM_145128	Mgat5	3,9	0,0319	Manósido acetilglucosaminiltransferasa 5
NM_008974	Ptp4a2	3,9	0,0004	Proteína tirosina fosfatasa 4a2
NM_148941	E3ovl4	3,9	0,0004	Similar a alargamiento de ácidos grasos de cadena muy larga (FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, levadura) 4
NM_030133	Srbd1	3,9	0,0011	Dominio de unión a ARN S1 1
NM_009608	Actc1	3,9	0,0004	Actina, alfa, cardíaca
NM_198166.3	Uts2d	3,9	0,0004	Contiene dominio de urotensina 2
NM_001003667	Krt77	3,8	0,0004	Queratina 77
NM_001291129	Nnat	3,8	0,0480	Neuronatina
NM_025771	Cntnap2	3,8	0,0004	Similar a proteína asociada con contactina 2
NM_001136084	Tph1	3,8	0,0004	Triptófano hidroxilasa 1
NM_026278	Lrp2bp	3,8	0,0004	Proteína de unión a Lrp2
NM_001081052	Nhs	3,8	0,0004	Síndrome de Nance-Horan (humano)
NM_001205219	Sorbs2	3,7	0,0242	Contiene dominio SH3 y sorbina 2
NM_001199224	Agb11	3,7	0,0004	Similar a proteína de unión a ATP/GTP 1
NM_027011	Krt5	3,7	0,0004	Queratin 5
NM_183408	Pde4a	3,7	0,0004	Fosfodiesterasa 4A, específica de AMPc
NM_175486	6430571L13Rik	3,7	0,0004	Gen 6430571L13 del ADNc de RIKEN
NM_021359	Itgb6	3,7	0,0004	Integrina beta 6
NM_016958	Krt14	3,6	0,0004	Queratina 14
NM_001013826	Dupd1	3,6	0,0004	Contiene dominio de pro isomerasa y fosfatasa de especificidad dual 1
NM_001244200	Pax6	3,6	0,0014	Gen de caja apareada 6
NM_198112	Ostn	3,6	0,0004	Osteocrina
NM_182993	Slc17a7	3,6	0,0004	Familia de transportadores de solutos 17 (cotransportador de fosfato inorgánico dependiente de sodio), miembro 7
NM_001146275	Ilgp1	3,6	0,0004	GTPasa 1 inducible por interferón
NM_007975	F2r13	3,6	0,0078	Similar al receptor del factor de coagulación II (trombina) 3
NM_023695	Crybb1	3,5	0,0004	Cristalina, beta B1
NM_010067	Trdmt1	3,5	0,0492	TRNA ácido aspártico metiltransferasa 1
NM_022322	Tnmd	3,5	0,0004	Tenomodulina
NM_16667	Sntb1	3,5	0,0004	Sintrofina, básica 1
NM_013803	Casr	3,5	0,0004	Receptor detector de calcio
NM_008596	Syp12	3,5	0,0004	Similar a sinaptofisina 2
NM_027258	Rnf157	3,5	0,0308	Proteína de dedo anular 157
NM_021443	Ccl8	3,4	0,0004	Ligando de quimioquina (motivo C-C) 8
NM_011356	Frzb	3,4	0,0004	Proteína relacionada con encrespamiento
NM_009813	Casq1	3,4	0,0004	Calsecuestrina 1
NM_015523	A730017L22Rik	3,4	0,0017	Gen A730017L22 de ADNc de RIKEN
NM_010518	Igfbp5	3,3	0,0004	Proteína de unión al factor de crecimiento similar a insulina 5
NM_198300	Cpeb3	3,3	0,0029	Proteína de unión al elemento de poliadenilación citoplásmico 3
NM_001081160	Mdga1	3,3	0,0004	Anclaje de glicosilfosfatidilinositol 1 que contiene dominio MAM
NM_020509	Retnla	3,3	0,0004	Similar a resistina alfa

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_175541	Mum111	2,8	0,0004	Similar 1 al antígeno asociado a melanoma (mutado) 1
NM_175486	6430571L13Rik	2,8	0,0080	Gen 6430571L13 de ADNc de RIKEN
NM_001025577	Maf	2,8	0,0004	Homólogo del oncogén AS42 de fibrosarcoma musculoaponeurótico aviar (v-maf)
NM_133226	Pdzd3	2,8	0,0004	Contienen dominio PDZ 3
NM_008469	Krt15	2,8	0,0004	Queratin 15
NM_029037.4	493044A02Rik	2,8	0,0004	Gen 493044A02 de ADNc de RIKEN
NM_029297	Dynlrb2	2,8	0,0112	Barricada de cadena ligera de dineína de tipo 2
n/a	Ercc2,Mir343	2,8	0,0004	Reparación de excisión que complementa de modo cruzado la deficiencia en la reparación de roedores, grupo de complementación 2
NM_1786848	Fbxo2	2,8	0,0004	Proteína de caja F 2
NM_007670	Cdkn2b	2,8	0,0004	Inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (p15, inhibe CDK4)
NM_001081416	Fndc1	2,7	0,0336	Contiene dominio de fibronectina de tipo III 1
NM_172794	Zfp454	2,7	0,0004	Proteína de dedos de cinc 454
NM_026794	Deb1	2,7	0,0004	Expresado diferencialmente en B16F10 1
NM_177784	Klhl23	1,7	0,0004	Similar a Kelch 23 (<i>Drosophila</i>)
NM_022027	Syne1	2,7	0,0004	Envuelta nuclear sináptica 1
NM_028798	Crct1	2,7	0,0208	C-terminal rico en cisteína 1
NM_001009951.1	BC088983	2,7	0,0214	Secuencia de ADNc de BC088983
NM_001289450	Kcanb1	2,7	0,0004	Subfamilia relacionada con agitador del canal con apertura por voltaje de potasio, miembro beta 1
NM_001290825	Co117al	2,7	0,0004	Colágeno de tipo XVII, alfa 1
NM_016685	Comp	2,7	0,0004	Proteína de matriz oligomérica de cartílago
NM_177222	Casc1	2,7	0,0166	Candidato a susceptibilidad al cáncer 1
NM_001290679	Tmem14a	2,7	0,0004	Proteína transmembrana 14A
NM_198111	Akap6	2,7	0,0004	Proteína de anclaje de quinasa A (PRKA) 6
NM_020278	Lgi1	2,7	0,0004	Familia de LGI de repetición rica en leucina, miembro 1
NM_008496	Lgals7	2,7	0,0004	Lectina, de unión a galactosa, soluble 7
NM_025500	Mrp137	2,6	0,0004	Proteína ribosómica mitocondrial L37
NM_001290708	Smarcal	2,6	0,0004	Subfamilia a de regulador de cromatina dependiente de actina, asociada a matriz, relacionada con SWI/SNF, miembro 1
NM_053166	Trim7	2,6	0,0004	Proteína de motivo tripartito 7
NM_139152	Asb18	2,6	0,0004	Contiene caja SOCS y repetición de anquirina 18
NM_009255	Serpina2	2,6	0,0004	Inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado E, miembro 2
NM_207205	Igsf3	2,6	0,0004	Superfamilia de inmunoglobulina, miembro 3
NM_023734	Pi16	2,6	0,0206	Inhibidor de peptidasa 16
NM_045837	9130227L01Rik	2,6	0,0083	Gen 9130227L01 de ADNc de RIKEN
NM_011638	Tfrc	2,6	0,0004	Receptor de transferrina
NM_001256224	Wnt5a	2,6	0,0011	Sitio de integración de MMTV relacionado con áptero 5A
NM_181541	Caprina2	2,6	0,0004	Miembro 2 de la familia de caprina
NM_001077202	Hs6st2	2,6	0,0004	Sulfato de heparano 6-O-sulfotransferasa 2
NM_010271	Gpd1	2,6	0,0004	Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (soluble)
NM_017392	Celsr2	2,6	0,0004	Receptor 2 de tipo G de paso siete LAG EGF cadherina
NM_010576	Itga4	2,6	0,0004	Integrina alfa 4

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_011994	Abcd2	2,6	0,0004	Módulo de unión a ATP, subfamilia D(ALD), miembro 2
n/a	Fabp9	2,6	0,0004	Proteína de unión a ácido graso 9, testículo
NM_001030305.2	Pmp2	2,6	0,0004	Proteína de mielina periférica 2
NM_001289498	Egflam	2,6	0,0004	Tubulina, gamma 2
NM_134028	Tubg2	2,6	0,0004	Dominios de laminina G y de fibronectina de tipo III, similar a EGF
n/a	Snora31	2,6	0,0035	Proteína tumoral, controlada traduccionalmente 2
n/a	Tpt1	2,6	0,0035	Proteína tumoral, controlada traduccionalmente 2
NM_001198765	Postn	2,6	0,0004	Periostina, factor específico de osteoblastos
NM_025998	Nkain1	2,5	0,0004	De interacción con ATPasa, transportadora de Na+/K+ 1
NM_007988	Fasn	2,5	0,0004	Ácido graso sintasa
NM_016788	Tnk2	2,5	0,0004	Tirosina quinasa, no receptor, 2
NM_029761	Dok5	2,5	0,0004	Proteína de atraque 5
NM_133729	2610018G03Rik	2,5	0,0004	Gen 2610018G03 de ADNc de RIKEN
NM_001145887	Tiaml	2,5	0,0004	Invasión y metástasis de linfoma de células T 1
NM_025420	Lce1m	2,5	0,0008	Envuelta de campo de maíz tardío 1M
NM_145134	Spsb4	2,5	0,0004	Contiene caja SOCS y dominio de receptor de rianodina/SplA 4
NM_040577	1700123M08Rik	2,5	0,0004	Gen 1700123M08 de ADNc de RIKEN
NM_023047	Dpysl5	2,5	0,0004	Similar a dihidropirimidinas 5
NM_139152	Asb18	2,5	0,0004	Contiene caja SOCS y repetición de anquirina 18
NM_008409	Iitm2a	2,5	0,0004	Proteína de membrana integral 2A
NM_021508	Myoz1	2,5	0,0004	Miozenina 1
NM_029568	Mfap4	2,5	0,0004	Proteína asociada a microfibrillas 4
NM_026626	Efcab2	2,5	0,0011	Dominio de unión a calcio de mano-EG 2
NM_172784	Lrp11	2,5	0,0004	Regulador de la apoptosis similar a FADD y CASP8
NM_110361	Cflar	2,5	0,0004	Proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad 11
NM_001291104	Fgf11	2,5	0,0004	Factor de crecimiento de fibroblastos 11
NM_027756	Mfap31	2,5	0,0004	Similar a proteína asociada a microfibrillas 3
NM_001111145	Gm514	2,5	0,0004	Modelo de gen 514 (NCBI)
NM_009469	Ulk1	2,5	0,0212	Quinasa 1 similar a Unc-41 (<i>C. elegans</i>)
NM_026956	Cd209f	2,5	0,0004	Antígeno CD209f
NM_019718	Arl3	2,5	0,0004	Similar al factor de ribosilación-ADP 3
NM_026617	Tmbim4	2,4	0,0092	Dopa descarboxilasa
NM_0016672	Ddc	2,4	0,0004	Contiene motivo inhibidor de BAX transmembrana 4
NM_172899	Dmkn	2,4	0,0004	Dermoquina
NM_019563	Cited4	2,4	0,0004	Dominio carboxi-terminal rico en Glu/Asp, 4
NM_013803	Casr	2,4	0,0119	Transactivador de interacción con Cbp/p300, con receptor detector de calcio
NM_194350	Mafa	2,4	0,0004	Familia de oncogenes del fibrosarcoma musculoaponeurótico V-maf, proteína A (aviar)
NM_013933	Vapa	2,4	0,0004	Proteína de membrana asociada a vesículas, proteína A asociada
NM_025384	Dnajc15	2,4	0,0287	Homólogo de ADNI (hsp40), subfamilia C, miembro 15
NM_009873	Cdk6	2,4	0,0004	Quinasa dependiente de ciclina 6
NM_030764	2700097O09Rik	2,4	0,0021	Gen 2700097O09 de ADNc de RIKEN

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_153546	Mboat1	2,2	0,0004	Contiene dominio de O-aciltransferasa unido a membrana
NM_001289762	Rarb	2,2	0,0004	Receptor del ácido retinoico, beta
NM_134079	Adk	2,2	0,0026	Adenosina quinasa
NM_010357	Gsta4	2,2	0,0004	Glutación S-transferasa, alfa 4
NM_177073	Relt	2,2	0,0004	Receptor del factor de necrosis tumoral RELT
NM_001033131	Krtdap	2,2	0,0011	Proteína asociada a la diferenciación de queratinocitos
NM_175645	Xylt1	2,2	0,0004	Xilosiltransferasa 1
NM_007742	Colla1	2,2	0,0004	Colágeno, tipo 1, alfa 1
NM_040577	1700123M08Rik	2,2	0,0004	Gen 1700123M08 de ADNc de RIKEN
NM_016785	Tpmt	2,2	0,0004	Tiopurina metiltransferasa
NM_001013771	Gm973	2,2	0,0008	Modelo de gen 973 (NCBI)
NM_021717	Nrip2	2,2	0,0210	Proteína de interacción con receptor nuclear 2
NM_001012450	Ankrd6	2,2	0,0004	Dominio de repetición de anquirina 6
NM_172600	6720456H20Rik	2,2	0,0057	Gen 6720456H20 de ADNc de RIKEN
NM_145523	Gca	2,2	0,0218	Grancalcina
NM_017378	Pcdh12	2,2	0,0004	Protocadherina 12
NM_153801	Tecr1	2,2	0,0260	n/a
NM_027865	Tmem25	2,2	0,0004	Proteína transmembrana 25
NM_177698	Psd3	2,2	0,0218	Contiene dominio Sec7 y pleckstrina 3
NM_010924	Nnmt	2,2	0,0004	Nicotinamida N-metiltransferasa
NM_078479	Mrps21	2,2	0,0112	Proteína ribosómica mitocondrial S21
NM_001285849	Paqr7	2,2	0,0004	Miembro VII de la familia del receptor de adipoQ y progestina
NM_028132	Pgm2	2,1	0,0004	Fosfoglucomutasa 2
NM_172527	Nudt15	2,1	0,0004	Motivo 15 de tipo nudix (resto X unido a nucleósido difosfato)
NM_026732	Mrpl14	2,1	0,0248	Proteína ribosómica mitocondrial L14
NM_194060	Foxo6	2,1	0,0004	Caja Forkhead O6
NM_024619	2610001J05Rik	2,1	0,0216	Gen 2610001J05 de ADNc de RIKEN
NM_021355	Fmod	2,1	0,0004	Fibromodulina
NM_011775	Zp2	2,1	0,0004	Glicoproteína 2 de la zona pelúcida
NM_146188	Kctd15	2,1	0,0008	Contiene dominio de tetramerización del canal de potasio 15
NM_008571	Mcpt2	2,1	0,0004	Proteasa de células cebadas 2
NM_013645	Pvalb	2,1	0,0004	Parvalbúmina
NM_001076681	1810012P15Rik	2,1	0,0070	Gen 1810012P15 de ADNc de RIKEN
NM_172259	Myl6b	2,1	0,0004	Miosina, polipéptido ligero 6B
NM_040577	1700123M08Rik	2,1	0,0470	Gen 1700123M08 de ADNc de RIKEN
NM_012048	Polk	2,1	0,0004	Polimerasa (dirigida a ADN), kappa
NM_001168476	Ttc23	2,1	0,0004	Dominio de repetición de tetratricopéptido 23
NM_172522	Megf11	2,1	0,0004	Dominios similares a EGF múltiples 11
NM_017382	Rab11a	2,1	0,0004	RAB11a, miembro de la familia del oncogén RAS
NM_008609	Mmp15	2,1	0,0004	Metalopeptidasa de matriz 15
NM_054088	Pnpla3	2,1	0,0004	Contiene dominio de fosfolipasa similar a patatina 3
NM_007590	Calm3	2,1	0,0004	Calmodulina 3
NM_001168471	Dynl12	2,1	0,0355	Cadena ligera LC8 de dineína de tipo 2
NM_080856	Asbl4	2,1	0,0004	Proteína 14 que contiene caja SOCS y repetición de anquirina
NM_198414	Paqr9	2,1	0,0004	Miembro IX de la familia del receptor de adipoQ y progestina

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_017394	Slc7a10	2,1	0,0321	Familia de transportadores de solutos 7 (transportador de aminoácidos catiónicos, sistema y+), miembro 10
NM_001271758	Wnt5b	2,1	0,0393	Sitio de integración de MMTV relacionado con áptero 5B
NM_011035	Pak1	2,1	0,0004	Quinasa 1 activada por P21 (CDKN1A)
NM_058212	Dpf3	2,1	0,0014	D4, familia 3 de dedos de PHD doble y cinc
NM_008832	Phka1	2,1	0,0004	Fosforilasa quinasa alfa 1
NM_008551	Mapkapk2	2,1	0,0004	Proteína quinasa 2 activada por MAP quinasa
NM_013712	Itgb1bp2	2,1	0,0004	Proteína 2 de unión a integrina beta 1
NM_016673	Cntfr	2,1	0,0004	Receptor del factor neurotrófico ciliar
NM_021566	Jph2	2,1	0,0004	Junctofilina 2
NM_013415	Atp1b2	2,1	0,0004	ATPasa, transportador de Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido beta 2
NM_133687	Cxxc5	2,1	0,0004	Dedo de CXXC 5
NM_011932	Dapp1	2,0	0,0004	Adaptador dual para fosfotirosina y 3-fosfoinositidas 2
NM_153554	Aldh1a2	2,0	0,0004	Familia 18 de aldehído deshidrogenasa, miembro A1
NM_001290761	Nmra1	2,0	0,0004	Contiene dominio de la familia similar a NmrA
NM_146030	Plekhh3	2,0	0,0004	Contiene dominio de homología con pleckstrina, familia H (con dominio MyTH4), miembro 3
NM_025823	Pcyox1	2,0	0,0004	Prenilcisteína oxidasa 1
NM_176920	Lrtm1	2,0	0,0004	Dominios 1 transmembrana y repeticiones ricas en leucina
NM_001013833	Prkg2	2,0	0,0004	Proteína quinasa, dependiente de GMPc, de tipo 1
NM_019735	Apip	2,0	0,0004	Proteína de interacción con APAF1
NM_011734	Siac	2,0	0,0004	Ácido siálico acetilesterasa
NM_009022	Aldh1a2	2,0	0,0004	Familia 1 de aldehído deshidrogenasa, subfamilia A2
NM_008524	Lum	2,0	0,0004	Lumicano
NM_001198790	Ak1	2,0	0,0216	Adenilato quinasa 1
NM_178401	Ramp1	2,0	0,0004	Proteína 1 modificadora de la actividad de receptor (calcitonina)
NM_172752	Sorbs2	2,0	0,0004	Contiene dominio SH3 y sorbina 2
NM_013737	Pla2g7	2,0	0,0004	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)
NM_027236	Al854703	2,0	0,0004	Secuencia expresada Al854703
NM_145602	Ndrg4	2,0	0,0004	Gen regulado cadena abajo N-myc 4
NM_0011759	Zfp41	2,0	0,0004	Proteína de dedos de cinc 41
NM_007506	Atp5gl	2,0	0,0004	ATP sintasa, transportador de H ⁺ , complejo F0 mitocondrial, subunidad c (subunidad 9), isoforma 1
NM_019573	Wwox	2,0	0,0004	Oxidoreductasa que contiene el dominio WW
NM_009073	Rom1	2,0	0,0004	Proteína de membrana del segmento externo de varilla 1
NM_027289	Nt5dc2	2,0	0,0130	Contiene dominio de 5'-nucleotidasa 2
Infrarregulados por AR-42				
NM_025994	Efh2	-2,0	0,0004	Contiene dominio de mano Ef 2
NM_016868	Hif3a	-2,0	0,0004	Factor inducible por hipoxia 3, subunidad alfa

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_029936	Ddx10	2,4	0,0008	Polipéptido de caja DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 10
NM_133769	Cyfp2	2,4	0,0004	Proteína de interacción con FMR1 citoplásmico 2
NM_153546	Mboat1	2,4	0,0004	Contiene dominio de O-aciltransferasa unido a membrana 1
NM_173431	Rpgrip1	2,4	0,0032	Similar a Rpgrip1
NM_138953	EII2	2,4	0,0107	Factor de alargamiento de ARN polimerasa II 2
NM_010264	Nr6a1	2,4	0,0420	Subfamilia 6 de receptor nuclear, grupo A, miembro 1
NM_001127725	Sec14I5	2,4	0,0004	Similar a SEC14 5 (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_182930	Plekha6	2,4	0,0116	Contiene dominio de homología con pleckstrina, familia A, miembro 6
NM_011331	Ccl12	2,4	0,0004	Ligando de quimioquina (motivo C-C) 12
NM_207278	Tigd4	2,4	0,0004	Derivado del elemento transposable tigger 4
NM_177039	A530016L24Rik	2,4	0,0004	Gen A530016L24 de ADNc de RIKEN
NM_178929	Kazald1	2,3	0,0004	Dominio 1 inhibidor de serina peptidasa de tipo Kazal
NM_178608	Recp1	2,3	0,0004	Proteína accesoria de receptor 1
NM_001252455	Ptprs	2,3	0,0004	Proteína tirosina quinasa, de tipo receptor, S
NM_028639	Ttc7	2,3	0,0004	Dominio de repetición de tetratricopéptido 7
NM_013491	Clcn1	2,3	0,0004	Canal de cloruro 1
NM_025474	Mrps14	2,3	0,0004	Proteína ribosómica mitocondrial S14
NM_008305	Hspg2	2,3	0,0004	Perlecano (proteoglicano de sulfato de heparano 2)
NM_009533	Xrcc5	2,3	0,0353	Reparación de rayos X que complementa a reparación defectuosa en células de hámster chino 5
NM_019573	Wwox	2,3	0,0314	Oxidoreductasa que contiene dominio WW
NM_025358	Ndufa9	2,3	0,0004	Subcomplejo alfa de NADH deshidrogenasa (ubiquinona) 1, 9
NM_011923	Angptl2	2,3	0,0004	Similar a angiopoyetina 2
NM_026728	Echdc2	2,3	0,0004	Contiene dominio de enoíl coenzima A hidratasa 2
NM_177471	Ccdc69	2,3	0,0004	Contiene dominio de hélice helicoidal 69
NM_001291282	Tm6sf1	2,3	0,0004	Miembro 1 de la superfamilia 6 transmembrana
NM_009396	Tnfaip2	2,3	0,0004	Factor de necrosis tumoral, proteína 2 inducida por alfa
NM_001007578	Armcx6	2,3	0,0004	Contiene repetición de armadillo, unido a X, 6
NM_133804	Tmem132a	2,3	0,0004	Proteína transmembrana 132A
NM_011436	Sorl1	2,3	0,0004	Receptor relacionado con sortilina, contiene repeticiones de LDLR de clase A
NM_001164225	Fbx116	2,3	0,0004	Proteína de repetición rica en leucina y caja F 16
NM_001007583	Best3	2,3	0,0004	Bestrofina 3
NM_133903	Spon2	2,3	0,0004	Espondina 2, proteína de matriz extracelular
NM_001243009	Col6a3	2,3	0,0004	Colágeno, tipo VI, alfa 3
NM_025343	Rmnd1	2,3	0,0200	Requerida para la división nuclear meiótica 1, homólogo (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_010272	Gdf11	2,3	0,0004	Factor de diferenciación de crecimiento 11
NM_026219	Uqcrb	2,3	0,0008	Proteína de unión a la ubiquinol-citocromo ceductasa
NM_001039562	Ankrd37	2,2	0,0004	Dominio de repetición de anquirina 37
NM_146188	Kctd15	2,2	0,0004	Contiene dominio de tetramerización del canal de potasio 15

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_012065	Pde6g	-2,0	0,0004	Fosfodiesterasa 6G, específica de GMPC, varilla, gamma
NM_023476	Tinag11	-2,0	0,0488	n/a
NM_001042655	Tbcdl7	-2,0	0,0004	Familia del dominio TCB1, miembro 17
NM_007695	Chi311	-2,0	0,0004	Similar a quitinasa 3 1
NM_026877	Aspscr1	-2,0	0,0004	Región del cromosoma del sarcoma de partes blandas alveolar, candidato 1 (humano)
NM_138677	Edcm1	-2,0	0,0004	Potenciador de la degradación del ER, similar a manosidasa alfa 1
NM_026220	Mfapla	-2,0	0,0004	Proteína 1A asociada a microfibrillas
NM_001033411	Gm826	-2,0	0,0004	Modelo de gen 826 (NCBI)
NM_153075	Catsper2	-2,0	0,0004	Asociado al canal de cationes de esperma 2
NM_001163704	Fbxo6	-2,0	0,0004	Proteína de caja F 6
NM_001162465	Dtnb	-2,0	0,0004	Distrobrevina, beta
NM_0011690	Vars	-2,0	0,0004	Valy1-ARNt sintasa
NM_001081349	Slc43al	-2,0	0,0004	Familia 43 de transportadores de solutos, miembro 1
NM_133765	Fbxo31	-2,1	0,0004	Proteína de caja F 31
NM_029008	4833403115Rik	-2,1	0,0004	Gen 4833403115 de ADNc de RIKEN
NM_001286498	Tex264	-2,1	0,0004	Gen expresado en testículo 264
NM_001289917	Rora	-2,1	0,0004	Receptor alfa huérfano relacionado con RAR
NM_010220	Fkbp5	-2,1	0,0004	Proteína de unión a FK506 5
NM_011724	Xirp1	-2,1	0,0004	Contiene repetición de unión a xin actn 1
NM_001145858	Sh3bp2	-2,1	0,0004	Proteína de unión al dominio SH3 2
NM_001037129	Musk	-2,1	0,0004	Músculo, receptor de tirosina quinasa esquelético
NM_025341	Abhd6	-2,1	0,0004	Contiene dominio de abhidridasa 6
NM_010176	Fah	-2,1	0,0004	Fumarilacetoacetato hidrolasa
NM_007923	Elk4	-2,1	0,0004	ELK4, miembro de la familia del oncogén ETS
NM_153136	Nudt18	-2,1	0,0004	Motivo 18 de tipo nudix (resto X unido a nucleósido difosfato)
NM_016684	Zscan12	-2,1	0,0004	Contiene dominio SCAN y dedos de cinc 12
NM_001291014	Zkscan17	-2,1	0,0004	Dominios SCAN y KRAB con dedos de cinc 17
NM_016972	Slc7a8	-2,1	0,0004	Familia 7 de transportadores de solutos (transportador de aminoácidos catiónicos, systema y+), miembro 8
NM_057172	Fubp1	-2,1	0,0112	Proteína 1 de unión al elemento cadena arriba lejano (FUSE)
NM_022882	Lpin2	-2,1	0,0004	Lipina 2
NM_011663	Zrsr1	-2,1	0,0004	Dedo de cinc (de tipo CCCH), motivo de unión a ARN y rico en serina/arginina 11
NM_016896	Map3k14	-2,1	0,0004	Proteína quinasa quinasa quinasa activada por mitógenos 14
NM_138950	Wdr81	-2,1	0,0004	Dominio de repetición WD 81
NM_104298	Gn13	-2,1	0,0004	Similar a proteína de unión a nucleótidos de guanina 3 (nucleolar)
NM_016661	Ahcy	-2,1	0,0004	S-adenosil homocisteína hidrolasa
NM_010757	Mafk	-2,1	0,0004	Familia del oncogén de fibrosarcoma musculoaponeurótico V-maf, proteína K (aviar)
NM_021897	Trp53inp1	-2,1	0,0004	Proteína nuclear 1 inducible por proteína relacionada con la transformación 53

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_009025	Rasa3	-2,1	0,0004	Activador 3 de la proteína p21 de RAS
NM_133895	Sic15a4	-2,1	0,0004	Familia 15 de transportadores de solutos, miembro 4
NM_053098	Lmod2	-2,1	0,0004	Leiomodina 2 (cardíaca)
NM_052994	Spock2	-2,1	0,0021	Proteoglicano 2 de dominios similares a kazal, cwcw y sparc/osteonectina
NM_176968	Nt5dc1	-2,1	0,0004	Contiene dominio de 5'-nucleotidasa 1
NM_027493	Actr8	-2,1	0,0004	Proteína 8 relacionada con actina ARP8, homólogo (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_001111099	Cdkn1a	-2,1	0,0004	Inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (P21)
NM_001256042	Hsf4	-2,1	0,0062	Factor de transcripción de choque térmico 4
NM_010100	Edar	-2,1	0,0004	Receptor de ectodisplasina-A
NM_007746	Map3k8	-2,1	0,0004	Proteína quinasa quinasa quinasa activada por mitógenos 8
NM_023913	Em1	-2,1	0,0004	Señalización del retículo endoplasmático (ER) al núcleo 1
NM_001199733	Daxx	-2,1	0,0004	Proteína asociada al dominio de muerte 6
NM_007570	Btg2	-2,1	0,0004	Gen 2 de translocación de células B, antiproliferativo
NM_019822	Adrm1	-2,1	0,0004	Molécula 1 reguladora de la adhesión
NM_029415	S1c10a6	-2,1	0,0004	Familia 10 de transportadores de solutos (familia de cotransportadores de sodio/ácido biliar), miembro 6
NM_001081044	My1k2	-2,1	0,0004	Miosina, polipéptido ligero quinasa 2, músculo esquelético
NM_175133	1110038D17Rik	-2,1	0,0004	Gen 1110038D17 de ADNc de RIKEN
NM_029083	Ddit4	-2,1	0,0004	Transcrito inducible por ADN-damasa 4
NM_145135	Rnh1	-2,1	0,0004	Inhibidor de angiogenina/ribonucleasa 1
NM_016736	Nub1	-2,1	0,0004	Regulador negativo de proteína similares a ubiquitina 1
NM_027560	Arrdc2	-2,1	0,0004	Contiene dominio de arrestina 2
NM_025514	Anapcl6	-2,1	0,0004	n/a
NM_044986	4933406C10Rik	-2,2	0,0004	Gen 4933406C10 de ADNc de RIKEN
NM_008407	Itih3	-2,2	0,0004	Inhibidor de inter-alfa tripsina, cadena pesada 3
NM_010813	Mnt	-2,2	0,0004	Proteína de unión a max
NM_026483	Mphosph10	-2,2	0,0004	Fosfolipoproteína de fase M 10 (ribonucleoproteína nucleolar pequeña U3)
NM_001081044	Mylk2	-2,2	0,0004	Miosina, polipéptido ligero quinasa 2, músculo esquelético
NM_001290727	Arid5a	-2,2	0,0004	Dominio interactivo rico en AT 5A (similar a Mrf1)
NM_010115	Klk1b26	-2,2	0,0121	Peptidasa b26 relacionada con calicreína 1
NM_015818	Hs6st1	-2,2	0,0240	Sulfato de heparano 6-O-sulfotransferasa 1
NM_015787	Hist1h1e	-2,2	0,0004	Agrupación de histonas 1, H1e
NM_023422	Hist1h2be	-2,2	0,0004	Agrupación de histonas 1, H2be
NM_177362	Zfp771	-2,2	0,0004	Proteína de dedos de cinc 771
NM_172713	Sdad1	-2,2	0,0004	Contiene dominio SDA 1 1
NM_007582	Cacng1	-2,2	0,0004	Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad gamma 1
NM_020033	Ankrd2	-2,2	0,0004	Dominio de repetición de anquirina 2 (músculo que responde al estiramiento)
NM_011874	Psmc4	-2,2	0,0004	Subunidad 26S de proteasoma (prosoma, macropaina), ATPasa, 4
NM_172845	Adamts4	-2,2	0,0004	Similar a distintegrina A y metalopeptidasa (de tipo reprotisina) con motivo de tipo 1 de trombospondina, 4

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_025635	Zwint	-2,2	0,0004	Interactuador ZW10
NM_009464	Ucp3	-2,2	0,0004	Proteína desacoplante 3 (mitocondrial, transportador de protones)
NM_026853	Asb11	-2,2	0,0004	Contiene caja SOCS y repetición de anquirina 11
NM_001290727	Arid5a	-2,2	0,0060	Dominio interactivo rico en AT 5A (similar al Mrf1)
NM_183270	Chchd8	-2,2	0,0004	Contiene dominio de hélice helicoidal-hélice helicoidal 8
NM_153065	Ddx27	-2,2	0,0004	Polipéptido de caja DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 27
NM_027965	2310061J03Rik	-2,2	0,0155	Gen 2310061J03 de ADNc de RIKEN
NM_133218	Zfp704	-2,2	0,0004	Proteína de dedos de cinc 704
NM_008694	Ngp	-2,2	0,0004	Proteína de gránulos neutrofílicos
NM_001272031	Arvef	-2,2	0,0024	Gen de repetición de armadillo delecionado en síndrome velo-cardio-facial
NM_001164560	Trmt1	-2,2	0,0004	TRM1 ARNt metiltransferasa 1, homólogo (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_028142	Pnp1a2	-2,2	0,0004	Contiene dominio de fosfolipasa similar a paratina 2
NM_023248	Sbds	-2,2	0,0004	Homólogo de síndrome de Shwachman-Bodian-Diamond (humano)
NM_027460	Slc25a33	-2,2	0,0004	Familia 25 de transportadores de solutos, miembro 33
NM_025706	Tbcd15	-2,2	0,0004	Familia de dominio TBC1, miembro 15
NM_175456	Abra	-2,2	0,0004	Proteína activadora de Rho de unión a actina
NM_019930	Ranbp9	-2,2	0,0004	Proteína de unión a RAN 9
NM_025324	Zfp524	-2,2	0,0004	Proteína de dedos de cinc 524
NM_177325	Tsr1	-2,2	0,0004	TSR1, acumulación de ARNr 20S, homólogo (levadura)
NM_001290698	Synj2	-2,2	0,0004	Sinaptojanina 2
NM_033450	Serpina3h	-2,2	0,0316	Inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado A, miembro 3H
NM_199469	Np1oc4	-2,2	0,0004	Homólogo de localización de proteína nuclear 4 (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_026674	Aph1c	-2,2	0,0004	Homólogo de faringe anterior defectuosa 1c (<i>C. elegans</i>)
NM_010234	Fos	-2,3	0,0004	Oncogén de osteosarcoma FBJ
NM_010908	Nfkbib	-2,3	0,0004	Inhibidor del potenciador del gen de cadena ligera kappa del factor nuclear en células B, beta
NM_045702	AW549542	-2,3	0,0004	Secuencia expresada AW549542
NM_011377	Sim2	-2,3	0,0004	Homólogo de un solo propósito 2 (<i>Drosophila</i>)
NM_009349	Inmt	-2,3	0,0004	Indoletilamina N-metiltransferasa
NM_026545	Psm8	-2,3	0,0004	Subunidad 26S de proteasoma (prosoma, macropaina), no ATPasa, 8
NM_009272	Srm	-2,3	0,0004	Espermidina sintasa
NM_104580	Slc8a1	-2,3	0,0004	Familia 8 de transportadores de solutos (intercambiador de sodio/calcio), miembro 1
NM_001146707	Nap111	-2,3	0,0004	Similar 1 a la proteína de ensamblaje del nucleosoma 1
NM_008871	Serpina1	-2,3	0,0004	Inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado E, miembro 1

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_009963	Cry2	-2,3	0,0004	Criptocromo 2 (similar a fotoliasa)
NM_001081185	Finc	-2,3	0,0004	Filamina C, gamma (proteína de unión a actina 280)
NM_009238	Sox4	-2,3	0,0004	Gen que contiene la caja SRY 4
NM_172546	Cnksr3	-2,3	0,0049	Miembro de la familia Cnksr 3
NM_008951	Psmc4	-2,3	0,0004	Subunidad 26S de proteasoma (prosoma, macropaina), no ATPasa, 4
NM_146251	Pnpla7	-2,3	0,0004	Contiene dominio de fosfolipasa similar a patatina 7
NM_010321	Gnmt	-2,3	0,0004	Glicina N-metiltransferasa
NM_001012322	Sctr	-2,3	0,0004	Receptor de secretina
NM_178646	Tigd5	-2,3	0,0004	Derivado del elemento transposable tigger 5
NM_021462	Mknk2	-2,3	0,0004	Serina/treonina quinasa de interacción con MAP quinasa 2
NM_133753	Errf1	-2,3	0,0004	Inhibidor de la retroalimentación del receptor ERBB 1
NM_145604	D230025D16Rik	-2,4	0,0004	Gen D230025D16 de ADNc de RIKEN
NM_017407	Spag5	-2,4	0,0004	Antígeno asociado a esperma 5
NM_001159367	Per1	-2,4	0,0062	Homólogo de periodo 1 (<i>Drosophila</i>)
NM_178045	Rassf4	-2,4	0,0004	Familia 4 de dominio de asociación a Ras (RalGDS/AF-6)
NM_001135152	Slc39a4	-2,4	0,0301	Familia 39 de transportadores de solutos (transportador de cinc), miembro 14
NM_0011227	Rab20	-2,4	0,0004	RAB20, miembro de la familia del oncogén RAS
NM_011752	Zfp259	-2,4	0,0004	Proteína de dedos de cinc 259
NM_019873	Fkbp1	-2,4	0,0004	Similar a proteína de unión FK506
NM_027154	Tmbim1	-2,4	0,0004	Contiene motivo de inhibidor de BAX transmembrana 1
NM_007970	Ezh1	-2,4	0,0004	Potenciador del homólogo zeste 1 (<i>Drosophila</i>)
NM_001289716	Bcl211	-2,4	0,0004	Similar a Bcl2
NM_008655	Gadd45b	-2,4	0,0004	Inducible por detención del crecimiento y daños en el ADN 45 beta
NM_175164	Arhgap26	-2,4	0,0384	Proteína activadora de Rho GTPasa 26
NM_001033335	Serpina3f	-2,4	0,0384	Inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado A, miembro 3F
NM_009251	Serpina3g	-2,4	0,0384	Inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado A, miembro 3G
NM_001165894	Akt1	-2,4	0,0004	Protooncogén de timoma vírico 1
NM_011728	Xpa	-2,4	0,0004	Xeroderma pigmentoso, grupo de complementación A
NM_028133	Egln3	-2,4	0,0004	Homólo de nueve EGL 3 (<i>C. elegans</i>)
NM_080575	Acss1	-2,4	0,0004	Familia de acil-CoA sintetasa de cadena corta, miembro 1
NM_019482	Panx1	-2,4	0,0004	panexina 1
NM_007428	Agt	-2,5	0,0004	Angiotensinógeno (inhibidor de serpina peptidasa, clado A, miembro 8)
NM_030063	Acdb7	-2,5	0,0281	Contiene dominio de unión a acil-coenzima A 7
NM_019739	Foxo1	-2,5	0,0004	Caja Forkhead O1
NM_029836	Tspy12	-2,5	0,0004	Similar a TSPY 2
NM_001161627	Tmem116	-2,5	0,0004	Proteína transmembrana 116
NM_013560	Hspb1	-2,5	0,0004	Proteína de choque térmico 1

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_001081212	Irs2	-2,5	0,0004	Sustrato de receptor de insulina 2
NM_025525	Rnf113a2	-2,5	0,0052	Proteína de dedo anular 113A2
NM_008416	Junb	-2,5	0,0004	Oncogén Jun-B
NM_011969	Psm7	-2,5	0,0004	Subunidad de proteasoma (prosoma, macropaina), alfa de tipo 7
NM_001001446	Cyp2c44	-2,5	0,0026	Citocromo P450, familia 2, subfamilia c, polipéptido 44
NM_001081024	Setdb2	-2,5	0,0004	Dominio SET, bifurcado 2
NM_027943	1110038B12Rik	-2,5	0,0004	Gen 1110038B12 de ADNc de RIKEN
NM_027893	BB123696	-2,5	0,0011	Secuencia expresada BB123696
NM_016693	Map3k6	-2,6	0,0004	Proteína quinasa quinasa quinasa activada por mitógeno 6
NM_026538	Ddx56	-2,6	0,0004	Polipéptido de caja DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 56
NM_001139520	Samhd1	-2,6	0,0004	Dominio SAM y dominio HD, 1
NM_020042	Mocs1	-2,6	0,0004	Síntesis de cofactor de molibdeno 1
NM_173027	Ip6k3	-2,6	0,0004	n/a
NM_133661	Slc6a12	-2,6	0,0004	Familia 6 de transportadores de solutos (transportador de neurotransmisores, betaina/GABA), miembro 12
NM_025404	Ar14d	-2,6	0,0004	Similar al factor de ribosilación-ADP 4D
NM_028638	Gad11	-2,6	0,0004	Similar al glutamato descarboxilasa 1
NM_015530	9530026P05Rik	-2,6	0,0276	Gen 9530026P05 de ADNc de RIKEN
NM_013681	Syn2	-2,6	0,0325	Sinapsina II
NM_019432	Tmem37	-2,7	0,0004	Proteína transmembrana 37
NM_018737	Ctps2	-2,7	0,0393	Citidina 5' trifosfato sintasa 2
NM_009667	Ampd3	-2,7	0,0004	AMP desaminasa 3
NM_001033302	Gm129	-2,7	0,0014	Modelo de gen 129 (NCBI)
NM_029774	Tti111	-2,7	0,0004	Familia similar a tubulina tirosina quinasa, miembro 11
NM_001081005	1500012F01Rik	-2,7	0,0004	Gen 1500012F01 de ADNc de RIKEN
NM_001081432	Ptprq	-2,7	0,0174	Proteína tirosina fosfatasa, de tipo receptor, Q
NM_001281071	Sftgpb	-2,7	0,0008	Proteína B asociada a tensioactivo
NM_030210	Aacs	-2,7	0,0004	Acetoacetil-CoA sintetasa
NM_183257	Hamp2	-2,7	0,0004	Péptido antimicrobiano de hepcidina 2
NM_001164075	Tgif1	-2,8	0,0004	Factor de interacción con TG 1
NM_178909	Wdr92	-2,8	0,0004	Dominio de repetición WD 92
NM_020590	Gabarap11	-2,8	0,0004	Similar a proteína asociada con receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA(A))
NM_024067	Snhg6	-2,8	0,0004	Gen hospedante de ARN nucleolar pequeño (no codifica proteína) 6
NM_001166394	4931428F04Rik	-2,8	0,0004	Gen 4931428F04 de ADNc de RIKEN
NM_012017	Zfp346	-2,8	0,0004	Proteína de dedos de cinc 346
NM_174989	Ticam1	-2,8	0,0004	Molécula adaptadora de receptor similar a Toll 1
NM_001013370	Sesn1	-2,9	0,0004	Sestrina 1
NM_134247	Acot4	-2,9	0,0204	Acil-CoA tioesterasa 4
NM_009052	Bex1	-2,9	0,0004	Gen expresado en cerebro 1
NM_001184710	Tfdp2	-2,9	0,0004	Factor de transcripción Dp 2
NM_008720	Npc1	-2,9	0,0004	De tipo Niemann Pick C1
NM_009252	Serpina ³ⁿ	-2,9	0,0004	Inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado A, miembro ³ⁿ
NM_144536	Cdka11	-2,9	0,0004	Similar 1 a proteína asociada a la subunidad reguladora de CDK5 1

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_007679	Cebpd	-2,9	0,0004	Proteína de unión de potenciador/CCAA T(C/EBP), delta
NM_020581	Angpt14	-3,0	0,0004	Similar a angiopoyetina 4
NM_026346	Fbxo32	-3,0	0,0004	Proteína de caja F 32
NM_028770	Krt80	-3,0	0,0004	Queratina 80
NM_001159324	Gaa	-3,0	0,0004	Glucosidasa, alfa, ácida
NM_011510	Abcc8	-3,0	0,0004	Módulo de unión a ATP, subfamilia C (CFTR/MRP), miembro 8
NM_001289632	Itih4	-3,0	0,0004	Inhibidor de inter alfa-tripsina, cadena pesada 4
NM_038151	2410004N09Rik	-3,1	0,0004	Gen 2410004N09 de ADNc de RIKEN
NM_181593	ltpkc	-3,1	0,0004	Inositol 1,4,5-trisfosfato 3-quinasa C
NM_010755	Maff	-3,1	0,0004	Familia del oncogén del fibrosarcoma musculoponeurótico v-maf, proteína F (aviar)
NM_007918	Eif4ebp1	-3,2	0,0155	Proteína de unión 1 al factor de inicio de la traducción eucariota 4E
NM_029799	Arrdc5	-3,2	0,0004	Contiene dominio de arrestina 5
NM_177755	Klh138	-3,2	0,0126	n/a
NM_001282006	Tekt1	-3,2	0,0004	Tektina 1
NM_008252	Hmgb2	-3,2	0,0004	Caja del grupo de alta movilidad 2
NM_201610	Neil2	-3,2	0,0004	Similar a Nei 2 (<i>E. coli</i>)
NM_029035	Spsb1	-3,2	0,0004	Contiene caja SOCS y dominio del receptor de rianodina/SplA 1
NM_025427	1190002H23Rik	-3,3	0,0004	Gen 1190002H23 de ADNc de RIKEN
NM_001081219	Myola	-3,3	0,0449	Miosina 1A
NM_009117	Saa1	-3,3	0,0004	Amiloide de suero A 1
NM_001287386	Gck	-3,3	0,0004	Glucoquinasa
NM_008244	Hgs	-3,3	0,0004	Sustrato de tirosina quinasa regulado por HGF
NM_021542	Kcnk5	-3,3	0,0004	Canal de potasio, subfamilia k, miembro 5
NM_197980	Cox19	-3,3	0,0004	Homólogo de ensamblaje de citocromo c oxidasa COX 19 (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_007918	Eif4cbp1	-3,3	0,0004	Factor de inicio de la traducción eucariota 4E
NM_145980	8430408G22Rik	-3,3	0,0004	Gen 8430408G22 de ADNc de RIKEN
NM_033596	Hist2h4	-3,4	0,0004	Agrupamiento de histonas 2, H4
NM_146186	Wdr62	-3,4	0,0004	Dominio de repetición WD 62
NM_053110	Gpnmb	-3,4	0,0004	Glicoproteína (transmembrana) nmb
NM_011314	Saa2	-3,4	0,0004	Amiloide de suero A 2
NM_001291058	Sc68	-3,4	0,0004	Antígeno de CD68
NM_012006	Acot1	-3,4	0,0004	Acil-CoA tioesterasa 1
NM_134188	Acot2	-3,4	0,0004	Acil-CoA tioesterasa 2
NM_177093	Lrrc58	-3,4	0,0004	Contiene repetición rica en leucina 58
NM_026779	Mocos	-3,4	0,0004	Cofactor de molibdeno sulfurasa
NM_009154	Sema ^{5a}	-3,4	0,0004	Dominio sema, siete repeticiones de trombospondina (de tipo 1 y similar a tipo 1), dominio transmembrana
NM_146578	Olf1033	-3,4	0,0004	Receptor olfatorio 1033
NM_029290	1700011103Rik	-3,4	0,0176	1700011103 de ADNc de RIKEN
NM_013468	Ankrd1	-3,6	0,0004	Dominio de repetición de anquirina 1 (músculo cardíaco)
NM_029774	Tti111	-3,6	0,0198	Familia similar a tirosina de tubulina, miembro 11

Figura 11 (continuación)

ES 2 729 619 T3

NM_010559	I16ra	-3,6	0,0004	Receptor de interleuquina 6, alfa
NM_010559	I16ra	-3,6	0,0004	Receptor de interleuquina 6, alfa
NM_001135152	S1c39a14	-3,7	0,0004	Familia 39 de transportadores de solutos (transportador de cinc), miembro 14
NM_146578	Olfri033	-3,8	0,0329	Receptor olfatorio 1033
NM_015803	Atp8a2	-3,8	0,0470	ATPasa, similar a transportador de aminofosfolípidos, clase 1, tipo 8A, miembro 2
NM_019701	Clcnkb	-3,8	0,0004	Canal de cloruro Kb
NM_144821	Al317395	-3,9	0,0004	Secuencia expresada A1317395
NM_001039048	Trim63	-3,9	0,0004	Contiene motivo tripartito 63
NM_181390	Mustn1	-3,9	0,0004	Proteína nuclear embrionaria 1, musculo esquelética
NM_011315	Saa3	-4,0	0,0004	Amiloide de suero A 3
NM_203492	Mrgprg	-4,0	0,0004	GPR relacionado con MAS, miembro G
NM_177028	5330437102Rik	-4,1	0,0004	Gen 5330437102 de ADNc de RIKEN
NM_023065	Ifi30	-4,1	0,0004	Proteína inducible por interferón gamma 30
NM_001081219	Myola	-4,1	0,0004	Miosina 1A
NM_001081047	Cnksr1	-4,1	0,0004	Potenciador de conector del supresor de quinasa de Ras 1
NM_008796	Pctp	-4,1	0,0085	Proteína de transferencia de fosfatidilcolina
NM_010100	Edar	-4,2	0,0340	Receptor de ectodisplasina A
NM_001256489	9030624G23Rik	-4,2	0,0004	Gen 9030624G23 de ADNc de RIKEN
NM_030738	2410006H16Rik	-4,2	0,0004	Gen 2410006H16 de ADNc de RIKEN
NM_023557	Slc44a4	-4,3	0,0004	Familia 44 de transportadores de solutos, miembro 4
NM_011366	Sorbs3	-4,3	0,0004	Contiene dominio SH3 y sorbina 3
NM_175643	Adamts2	-4,4	0,0004	Similar a distintegrina A y metalopeptidasa (de tipo reprotisina) con motivo de tipo 1 de trombospondina, 2
NM_007873	Doc2b	-4,7	0,0004	C2 doble, beta
NM_175681	Glpr2r	-4,7	0,0004	Receptor del péptido 2 similar a glucagón
NM_008630	Mt2	-4,8	0,0004	Metalotioneína 2
NM_008491	Lcn2	-4,9	0,0004	Lipocalina 2
NM_177028	5330437102Rik	-4,9	0,0004	Gen 5330437102 de ADNc de RIKEN
NM_007873	Doc2b	-5,1	0,0004	C2 doble, beta
NM_038011	C730036E19Rik	-5,2	0,0004	Gen C730036E19 de ADNc de RIKEN
NM_013602	Mt1	-5,2	0,0004	Metalotioneína 1
NM_027211	Anxal3	-5,4	0,0008	Anexina Z13
NM_011104	Prkce	-7,0	0,0004	Proteína quinasa C, épsilon

Figura 11 (continuación)