

Contactenos

De: CAROLINA POLANCO <CPOLANCO@prietocarrizosa.com>
Enviado el: martes, 13 de agosto de 2013 3:44 p. m.
Para: contactenos@sic.gov.co
CC: NATALIA NOSSA; ELISEO FRANCO; PATMARKS (prietocarrizosa); 150442_71833
MILLENNIUM PHARMACEUTICALS INC_ _ COMPUESTOS DE ESTER BORONATO Y
COMPOSICIONES FARMACEUTICAS DE LOS MISMOS_ Correspondencia
Asunto: RE: Radicación recurso de apelación [IWOV-Imanage.FID280272]
Datos adjuntos: doc20130813153051.pdf

Estimados Señores,

Me permito adjuntar nuevamente el anexo del recurso de reposición enviado en el día de ayer 12 de agosto de 2013, el cual no subió por error involuntario al momento de anexar el archivo correspondiente.

Por lo anterior, solicito amablemente se anexe el presente documentó al expediente No. 10.161.489 correspondiente a la Solicitud de Patente de Invención denominada: "COMPUESTOS DE ESTER BORONATO Y COMPOSICIONES FARMACEUTICAS DE LOS MISMOS" a nombre de MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC, sólo en caso de que éste no hubiera cargado correctamente en el día de ayer.

Un cordial saludo.

Carolina Polanco
Asociada/Associate
prietocarrizosa
Carrera 9 # 74-08, Bogotá D.C., Colombia
+ (571) 3268600 (Main) Ext. 1454
www.prietocarrizosa.com

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-161489- -00012-0000
Fecha: 2013-08-13 16:53:01 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 22

Colombia Law Firm of the Year 2012
Chambers & Partners. Latin America Awards for Excellence

Colombia Law Firm of the Year 2012 and 2013
International Financial Law Review

Colombia Transfer Pricing Firm of the Year 2012
International Tax Review

🖨 La sostenibilidad del medio ambiente comienza en casa, piense antes de imprimir!

* Aviso de confidencialidad: Este mensaje es para el uso exclusivo de la persona o entidad a la que se encuentra dirigido y puede contener información privilegiada o confidencial. Si usted ha recibido por error esta comunicación, sírvase notificarnos de inmediato telefónicamente al (571) 3268600 o vía e-mail, borrar de inmediato el mensaje y abstenerse de divulgar Asu contenido. Cualquier opinión, conclusión u otra información contenida en este mensaje, que no esté relacionada con las actividades oficiales de nuestra firma, deberá considerarse como nunca proporcionada o aprobada por la firma.

* Confidentiality notice: This message is intended only for the use of the individual or entity to which it is addressed and may contain information that is privileged or confidential. If you received this communication in error, please notify us immediately by telephone (571) 3268600 or by e-mail, delete the e-mail and do not disclose its content to any person. Opinions, conclusions and other information in this message, not related to the official business of our firm, shall not be understood as given or endorsed by it.

De: CAROLINA POLANCO
Enviado el: lunes, 12 de agosto de 2013 05:15 p.m.
Para: 'contactenos@sic.gov.co'; 'contactenos@sic.gov.co'

2

CC: NATALIA NOSSA; PATMARKS (prietocarrizosa); NATALIA NOSSA; PATMARKS (prietocarrizosa)
Asunto: Radicación recurso de apelación

Estimados Señores:

Conforme a la Resolución 42847 del 18 de julio de 2012, me permito adjuntar recurso de reposición en forma oportuna, en contra de la Resolución No. 37571 del 24 de junio de 2013, por medio de la cual se negó la Solicitud de Patente de Invención denominada: "COMPUESTOS DE ESTER BORONATO Y COMPOSICIONES FARMACEUTICAS DE LOS MISMOS" a nombre de MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC. Solicito que los presentes documentos sean anexados al expediente 10.161.489.

Un cordial saludo.

Carolina Polanco
Asociada/Associate
prietocarrizosa

Carrera 9 # 74-08, Bogotá D.C., Colombia
+ (571) 3268600 (Main) Ext. 1454
www.prietocarrizosa.com

Colombia Law Firm of the Year 2012
Chambers & Partners. Latin America Awards for Excellence

Colombia Law Firm of the Year 2012 and 2013
International Financial Law Review

Colombia Transfer Pricing Firm of the Year 2012
International Tax Review

 **La sostenibilidad del medio ambiente comienza en casa, piense antes de imprimir!**

* Aviso de confidencialidad: Este mensaje es para el uso exclusivo de la persona o entidad a la que se encuentra dirigido y puede contener información privilegiada o confidencial. Si usted ha recibido por error esta comunicación, sírvase notificarnos de inmediato telefónicamente al (571) 3268600 o vía e-mail, borrar de inmediato el mensaje y abstenerse de divulgar su contenido. Cualquier opinión, conclusión u otra información contenida en este mensaje, que no esté relacionada con las actividades oficiales de nuestra firma, deberá considerarse como nunca proporcionada o aprobada por la firma.

* Confidentiality notice: This message is intended only for the use of the individual or entity to which it is addressed and may contain information that is privileged or confidential. If you received this communication in error, please notify us immediately by telephone (571) 3268600 or by e-mail, delete the e-mail and do not disclose its content to any person. Opinions, conclusions and other information in this message, not related to the official business of our firm, shall not be understood as given or endorsed by it.

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Dirección de Nuevas Creaciones

E. S. D.

REF. PCT- PATENTE DE INVENCION

Invención: COMPUESTOS DE ESTER BORONATO Y COMPOSICIONES
FARMACÉUTICAS DE LOS MISMOS

Expediente: 10.161.489

TITULAR: MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.

Asunto: COMPLEMENTO DE INFORMACIÓN

MAURICIO PATIÑO BONNET, mayor de edad, con domicilio en la ciudad de Bogotá D.C., identificado como aparece al pie de mi firma, en mi calidad de apoderado de la sociedad **MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.**, me permito manifestar lo siguiente:

- I.** El 12 de agosto de 2013 se presentó recurso de reposición en contra de la Resolución No. **37571**. Por un error involuntario al momento de adjuntar el archivo correspondiente a la respuesta del recurso no se adjuntó la totalidad de la traducción correspondiente al anexo i)

"Erik Kupperman, Edmund C. Lee, Yueying Cao, et al. "Evaluation of the Proteasome Inhibitor MLN9708 in Preclinical Models of Human Cancer". *Cancer Res* 2010;70:1970-1980. February 16, 2010".

- II.** Teniendo en cuenta los hechos anteriores, allego las hojas faltantes de la traducción del documento mencionado.

NOTIFICACIONES

Recibiré notificaciones en la secretaría de su Despacho o en la Carrera 9 # 74-08, Oficina 305, en la ciudad de Bogotá D.C.

prietocarrizosa

Carrera 9 # 74-08 (305)
Bogotá D.C., Colombia
Tels.: + (571) 326 8600/8400
Fax: + (571) 326 8610
patmarks@prietocarrizosa.com
www.prietocarrizosa.com

Señor Jefe de la Dirección de Nuevas Creaciones,

prietocarrizosa


MAURICIO PATIÑO BONNET
C.C. 11.342.699 de Zipaquirá
T.P. 73.583 del C.S. de la J.

Cancer Research

Evaluación del inhibidor de proteasoma MLN9708 en Modelos Preclínicos de cáncer humano

Erik Kupperman, Edmund C. Lee, Yueying Cao, et al.

Cancer Res 2010;70:1970-1980. Publicado en línea primero. Febrero 16 de 2010.

Versión actualizada: Acceda a la versión más reciente de este artículo en:
doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-2766

Material complementario: Acceda al material suplementario más reciente en:
<http://cancerres.aacrjournals.org/content/suppl/2010/02/15/0008-5472.CAN-09-2766.DC1.html>

Artículos citados: Este artículo cita 53 artículos, a 28 de los cuales usted puede acceder gratis en:
<http://cancerres.aacrjournals.org/content/70/5/1970.full.html#ref-list-1>

Artículos que citan: Este artículo ha sido citado por 17 artículos de HighWire. Acceda a los artículos en
<http://cancerres.aacrjournals.org/content/70/5/1970.full.html#related-urls>

Alertas de E-mail: Regístrese para recibir alertas de E-mail gratuitas relacionadas con este artículo o revista

Reimpresiones y suscripciones: Para ordenar reimpresiones de este artículo o para suscribirse a la revista, contacte el Departamento de Publicaciones de la AACR a través de pubs@aacr.org.

Permisos: Para solicitar permiso para re utilizar todo o algunas partes de este artículo, contacte el Departamento de Publicaciones de la AACR a través de permissions@aacr.org.

Terapéutica, metas y biología química.

Evaluación del inhibidor de proteasoma MLN9708 en Modelos Preclínicos de cáncer humano

Erik Kupperman, Edmund C. Lee, Yueying Cao, Bret Bannerman, Michael Fitzgerald, Allison Berger, Jie Yu, Yu Yang, Paul Hales, Frank Bruzzese, Jane Liu, Jonathan Blank, Khristofer Garcia, Christopher Tsu, Larry Dick, Paul Fleming, Li Yu, Mark Manfredi, Mark Rolfe, y Joe Bolen.

Resumen

La proteasoma fue validada como un blanco de la oncología luego del éxito clínico de VELCADE (bortezomib) para inyección para el tratamiento de mieloma múltiple y linfoma de células de manto recurrente. En consecuencia, diversos grupos están detrás del desarrollo de inhibidores de proteasoma de moléculas pequeñas adicionales tanto para indicaciones hematológicas como de tumores sólidos. En el presente artículo describimos el MLN9708, un inhibidor de proteasoma selectivo, biodisponible oralmente, de segunda generación que se encuentra en la fase I de desarrollo clínico. MLN9708 tiene una vida media de disociación de proteasoma más corta, así como farmacocinética, fármaco dinámica y actividad anti tumor mejorada en comparación con el bortezomib. MLN9708 tiene una mayor distribución de volumen de sangre en estado estable, y los análisis de la inhibición de la proteasoma 20S, así como los marcadores de la respuesta de proteína desplegada confirmaron que MLN9708 tiene mayores efectos fármaco dinámicos en los tejidos a comparación con el bortezomib. MLN9708 mostró actividad tanto en tumores sólidos como en modelos de xenoinjertos hematológicos, y encontramos una correlación entre mayores respuestas fármaco dinámicas y actividad anti tumor mejorada. Por otro lado, la actividad anti tumor fue evidenciada a través de múltiples rutas de dosificación, incluyendo sonda oral. En conjunto, esta información soporta el desarrollo clínico de MLN9708 tanto para indicaciones hematológicas y de tumores sólidos. *Cancer Res*; 70(5); 1970-80. ©2010 AACR.

Introducción:

El sistema ubiquitina-proteasoma procesa la mayoría de las proteínas celulares y es la principal manera en la que las células regulan la homeostasis de proteínas. Durante la homeostasis de proteínas normal, proteínas específicas son objeto de destrucción a través de la unión de ubiquitina. Estos sustratos de proteasoma incluyen proteínas mal plegadas y miembros altamente regulados de cascadas de señales críticas, incluyendo proteínas involucradas en el control del crecimiento, la regulación del ciclo celular y apoptosis. La inhibición de la proteasoma resulta en la estabilización y acumulación de dichos sustratos, llevando a la activación de señales antiproliferativas, trastornos en el ciclo celular, activación de caminos apoptóticos, y en último caso, muerte celular (1,2). Las células malignas de rápido crecimiento, que ya son deficientes en mecanismos de chequeo del ciclo celular normal, parecen ser altamente susceptibles a la inhibición de proteasoma (3-6). En consecuencia, la proteasoma se convirtió en un blanco atractivo para las terapias anticancerígenas. El éxito del inhibidor de proteasoma de la molécula pequeña primera de su clase VELCADE (bortezomib) para inyección (Millennium Pharmaceuticals, Inc.) validó la proteasoma como un blanco terapéutico para el tratamiento de cáncer humano (1, 7-12). VELCADE está aprobado para el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple y linfoma de células de manto previamente tratada (13-21). Actualmente hay múltiples grupos en el proceso de desarrollar inhibidores de proteasoma de molécula pequeña para varias indicaciones de oncología. Estos incluyen tanto inhibidores reversibles, tal como CEP-18770 como inhibidores irreversibles, tal como carfilzomib y NPI-0052. Tanto CEP-18770 como NPI-0052 son activos oralmente, y todos los tres compuestos han mostrado actividad anti tumor en modelos preclínicos y actualmente se encuentran en varias fases de desarrollo clínico (22-30).

La proteasoma 20S consiste de un núcleo multicatalítico recubiertos en cada extremo con 19S subunidades regulatorias. La proteasoma 20S es una estructura compartimentada, en forma de barril que contiene dos anillos heptaméricos hechos de subunidades α y dos anillos heptaméricos hechos de subunidades β . Los anillos α realizan funciones de recubrimiento y de compuerta, mientras que tres de las subunidades β ($\beta 1$, $\beta 2$, y $\beta 5$) contienen las treoninas NH2-terminal responsables de las diferentes actividades proteolíticas de la proteasoma. Las subunidades $\beta 1$, $\beta 2$, y $\beta 5$ son referidas como de tipo caspasa, de tipo tripsina, y de tipo quimiotripsina, respectivamente, porque el sitio de escisión preferido de cada subunidad es similar a aquel de otras proteasas conocidas (2, 31-34).

El bortezomib muestra una inhibición dependiente del tiempo de la proteasoma 20S uniendo a la cadena de lado de la treonina NH2-terminal de las subunidades catalíticas β . El bortezomib exhibe actividad inhibidora contra todas las tres subunidades β pero preferencialmente se une e inhibe las del lado $\beta 5$ (35). Aunque el bortezomib ha demostrado eficacia clínica en mieloma múltiple y linfoma de células de manto, a la fecha no ha demostrado aún una actividad fuerte en indicaciones de tumores sólidos, quizás debido a su inhabilidad de penetrar en los tejidos y alcanzar concentraciones terapéuticamente relevantes en dichos sitios objetivo. En consecuencia, hay fundamentos sólidos para identificar los inhibidores de proteasoma que tienen propiedades fisicoquímicas o farmacocinéticas diferentes. En la presente describimos la información bioquímica y farmacológica preclínica que soporta el desarrollo de MLN9708. MLN9708 es un inhibidor de proteasoma de molécula pequeña que está siendo desarrollado para el tratamiento de un amplio rango de tumores humanos malignos. MLN9708 fue seleccionado de un amplio pool de inhibidores de proteasoma que contienen boro con base a un perfil fisicoquímico distinto al bortezomib. MLN9708 tiene una vida media de disociación de proteasoma más corta que el bortezomib, lo cual creemos que juega un rol importante en la mejoría en la distribución de tejidos. La comparación directa con el bortezomib reveló que MLN9708 tiene un perfil farmacocinético y farmacodinámico mejorado y muestra una actividad anti tumor superior tanto en tumores sólidos como en modelos de xenoinjertos hematológicos, y muestra actividad anti tumor cuando es administrado a través de múltiples rutas de dosificación y regímenes. MLN9708 está actualmente siendo evaluado en múltiples estudios clínicos de fase I tanto para tumores sólidos y hematológicamente basados.

Materiales y Métodos

Cultivos celulares

Células WSU-DLCL2, OCI-Ly7, A375, H460, HCT-116, HT-29, MDAMB- 231, HEK293, y células Calu-6 fueron obtenidas de la American Type Culture Collection y mantenidas según las recomendaciones del proveedor.

Ensayos in vitro

Análisis cinético de inhibición de proteasoma 20S: El análisis cinético de la inhibición de proteasoma 20S fue realizado según lo descrito previamente por Williamson y sus colegas (36).

Ensayos de indicador basados en células NF-κB-Luc y 4×Ub-Luc

Los ensayos de indicador basados en células NF-κB-Luc y 4×Ub-Luc fueron realizados según lo descrito previamente por Williamson y sus colegas (36).

Proteasoma Glo IC50 y ensayos de inhibidor de lavado basados en células. Las células Calu-6 fueron cultivadas en MEM conteniendo 10% suero bovino fetal y 1% penicilina/estreptomicina y fueron sembradas 1 d antes del comienzo del experimento a 10,000 células por cavidad en una placa de 384 cavidades. Para las determinaciones IC50 las células fueron tratadas con concentraciones variables de bortezomib o de MLN2238 en DMSO (0.5% final, v/v) por 1 h a 37°C. Para los experimentos de reversibilidad, las células fueron tratadas con bien sea 1 μmol/L bortezomib o MLN2238 por 30 min a 37°C y luego fueron lavadas tres veces en el medio para remover los compuestos. Las células fueron incubadas por 4 h adicionales a 37°C luego de lo cual el medio fue removido y reemplazado con medio fresco. La actividad de proteasoma fue evaluada monitoreando la hidrólisis del sustrato quimiotripsina de tipo quimiotripsina Suc-LLVY - aminoluciferin en presencia de luciferasa haciendo uso de los reactivos de ensayo Proteasoma-Glo de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega Corp.). La luminiscencia fue medida haciendo uso de un instrumento LEADseeker (GE Healthcare Life Sciences).

Estudios farmacocinéticos

Las muestras de sangre y de tumores fueron recolectadas antes de la dosis y en numerosos puntos de tiempo luego de la administración. Cada punto en el tiempo representa el valor promedio de tres animales. Las concentraciones de MLN2238 o bortezomib en la sangre y en las muestras de plasma fueron determinadas haciendo uso de un método basado en una espectrometría de masa de un tándem de cromatografía de un líquido de prácticas de laboratorio no-bueno (LC/MS/MS). MLN2238 o el bortezomib fueron aislados de 50 μL de plasma o de sangre haciendo uso de un procedimiento de extracción líquido-líquido. Una muestra (50 μL) fue mezclada con 50 μL de solución estándar interna, 50 μL de 0.5 mol/L HCl, y 500 μL de éter metil terciario butil. Lo flotante (300 μL) fue luego transferido a una placa de cavidades de 96 cavidades, evaporado, reconstituido en 100 μL de acetronilo/ agua (5:95) con un contenido de 0.1% de ácido fórmico, e inyectado en el sistema LC/MS/MS para análisis. Un método gradiente de fase de reversión proporcionó apilamiento de muestras y separación. El análisis farmacocinético de la información de concentración de sangre y plasma fue realizado haciendo uso de WinNonlin versión 5.2 (Pharsight Corp.). Los parámetros cinéticos fueron estimados haciendo uso de un modelo sin compartimientos que utiliza un modo de muestreo disperso (modelo 201 para plasma y sangre). Los valores del área bajo la concentración versus la curva de tiempo (AUC) y del área bajo el efecto versus la curva de tiempo (AUE) fueron calculados haciendo uso de la regla trapezoidal lineal.

Estudios farmacodinámicos

Aproximadamente 200 μL de sangre entera fueron recolectados de cada animal y procesados para el ensayo de inhibición de proteasoma de sangre 20S. Los tumores subcutáneos (aproximadamente 600- 800 mm³ de tamaño fueron recolectados y divididos en dos o tres partes. Uno fue procesado para el ensayo de inhibición de proteasoma de tejido 20S uno para análisis de transferencia de Western y otro para inmunohistoquímica.

Procesamiento de tumores para ensayos de proteasoma de tejido 20S

Muestras congeladas fueron pulverizadas en el Tejido CryoPrep (Covaris) y transferidas a tubos de vidrio. Luego de adicionar 1 mL de solución reguladora de lisis de tejido frío [50 mmol/L HEPES (pH 8.0), 1 mmol/L DTT], las muestras fueron colocadas en hielo y homogenizadas según las instrucciones del fabricante haciendo uso del Covaris E200.

Procesamiento de tumores para ensayos de transferencia de Western.

Los tumores fueron procesados como se describió previamente en el Covaris E200. La solución reguladora de lisis M-PER (Pierce) fue suplementado con lo siguiente: 1x conjunto de coctel de inhibidor de proteasa (Calbiochem), 2 mmol/L sodio ortovanadato (Sigma), 25 mmol/L fluorido de sodio y 25 mmol/L β -glicerofosfato. Se adicionó solución reguladora frío de lisis (300– 800 μ L) a los tumores justo ante del ultrasonido. Luego del ultrasonido, los flotantes fueron transferidos a tubos nuevos y fueron determinadas las concentraciones de proteína.

Análisis de transferencia de Western

Lisato tumoral fue cargado en 4% a 12% Bis-Tris gels (Invitrogen). Las proteínas fueron transferidas a membranas PVDF-FL (Millipore) hacienda uso de un aparato de transferencia semi seco. Luego de la transferencia y el bloqueo, las membranas fueron incubadas con un anticuerpo primario durante la noche a 4°C. Las membranas fueron lavadas tres veces con TBSTween 20 (TBST) e incubadas con inmunoglobulina de cabra anti-conejo G Alexa Fluor etiquetada -680 (Sondas moleculares) durante 1 h. Las membranas fueron lavadas cinco veces con TBST y una vez con TBS mientras eran protegidas de la luz. Las membranas fueron secadas y escaneadas con un Sistema de Imágenes Infrarrojas Odyssey (LI-COR Biosciences). Fueron utilizados los siguientes anticuerpos primarios: anti-tubulina (policlonal de conejo, dilución 1:15.000; Abcam) y daños en el ADN anti-detención del crecimiento 34(GADD34; Proteintech Group, Inc.). Un anticuerpo secundario fue utilizado a 1:20,000 para tubulina y a 1:2,000 para GADD34. La cuantificación de las señales de transferencia de Western fue realizada con un software Odyssey.

Proteasoma 20S β 5 y ensayos de sangre

Los tumores de proteasoma 20S β 5 y los ensayos de sangre fueron realizados como se describió previamente (36–38).

Estudios inmunohistoquímicos

Las secciones tumorales fijadas con formalina, CWR22 incrustados con parafina y los xenoinjertos WSU-DLCL2 fueron teñidos con anticuerpos primarios a GADD34, activando el factor de transcripción 3 (ATF3), y la caspasa-3 escindida (Proteintech Group, Santa Cruz Biotechnology, y Cell Signaling Technology). Los anticuerpos GADD34 y ATF3 fueron detectados con anticuerpos secundarios etiquetados con peroxidasa de rábano silvestre (UltraMapa anti-conejo Ventana Medical Systems) e incubados con el kit de Chromo-Map 3,3'-diaminobenzidine (DAB) (Ventana Medical Systems). El anticuerpo de caspasa-3 escindido fue detectado con un anticuerpo secundario con etiqueta de Alexa Fluor 594 (Invitrogen). Las láminas fueron contrastadas con hematoxilina para ensayos de GADD34 y ATF3 y 4',6-diamino-2-fenilindol para el ensayo de caspasa-3 escindido. Se capturaron imágenes haciendo uso de un microscopio Eclipse E800 (Nikon Instruments), lente 20x, y una cámara digital a color Retiga EXi (QImaging). Se capturaron cinco campos de visión por muestra, y las imágenes fueron procesadas haciendo uso de un software MetaMorph (Molecular Devices). Los niveles marcadores fármaco dinámicos fueron medidos por color umbralizando en el DAB o en la señal fluorescente y midiendo el área de la señal umbralizada. El porcentaje de área positiva fue calculado normalizando con el área total del campo de visión.

Cuidado animal

Ratones con CB17 –severa con inmunodeficiencia combinada (SCID) y ratones diabéticos no obesos (NOD)–SCID fueron alojados y mantenidos en un ambiente controlado y recibieron comida y agua a

voluntad. Se proporcionó cuidado veterinario a los animales de acuerdo con el Comité Internacional del milenio de Cuidado y Uso de animales

Estudios de eficacia

Xenoinjertos CWR22

Ratones machos CB17-SCID (Laboratorios Charles River), aproximadamente de 8 a 11 semanas de edad fueron inoculados por vía subcutánea con fragmentos de tumor CWR22 recientemente disecados (~20 mg) en el flanco dorsal derecho. La media del volumen tumoral (MTV) fue calculada haciendo uso de la siguiente fórmula: $0.5 \times (\text{largo} \times \text{ancho}^2)$. Cuando la MTV alcanzó aproximadamente 150 a 200 mm³, los animales fueron aleatorizados en grupos de tratamiento (n = 10 por grupo) antes de la administración. La actividad anti tumor fue determinada al final del estudio calculando la proporción de tratamiento sobre control (T/C) de sus MTV al final del estudio.

Xenoinjertos WSU-DLCL2

Ratonas hembras CB17-SCID de ~6 semanas de edad fueron inoculadas por vía intravenosa con 4×10^6 WSU-DLCL2 células tumorales suspendidas en 0.1 mL RPMI 1640 en el flanco dorsal derecho. Los animales fueron aleatorizados, y la MTV y la proporción T/C fueron calculadas como se describió previamente.

Xenoinjertos OCI-Ly7-Luc diseminados

Ratonas hembras NOD-SCID de ~9 semanas de edad fueron inoculadas por vía intravenosa por la vena de la cola con células tumorales 1.0×10^6 OCI-Ly7. Los ratones fueron aleatorizados en grupos de tratamiento (n = 10 por grupo) el día 7 luego de la inoculación. Para cada sesión de imágenes los animales recibieron 150 mg/kg de luciferina (Caliper Life Sciences) a través de una inyección intraperitoneal. La vista dorsal y ventral de los animales fueron capturadas en imágenes para determinar el flujo de fotones total. Las imágenes fueron capturadas con el sistema de imágenes Xenogen IVIS (Xenogen Corp.), y la información fue recolectada con el software Xenogen Living Image (Living Image 3.0.2.2). La actividad antitumor fue determinada calculando la proporción T/C del flujo de fotones promedio al final del estudio. Las curvas de supervivencia fueron generadas haciendo uso del método Kaplan-Meier.

Análisis estadístico

Los datos de eficacia fueron analizados haciendo uso de un modelo de regresión de efecto mixto lineal. Las diferencias entre los ratones fueron tratadas como efectos aleatorios, y una estructura de covarianza simétrica compuesta fue utilizada para modelar la variabilidad entre medidas tumorales repetidas para cada ratón. Las comparaciones de los tratamientos fueron realizadas tomando curvas ajustadas del modelo para calcular Δ AUCs. La importancia de las Δ AUC fue evaluada haciendo uso de pruebas de permutación. Los valores P de ≤ 0.05 fueron considerados significativos. Para el estudio OCI-Ly7-Luc, las diferencias en el flujo total de fotones fueron comparadas haciendo uso de ANOVA de una sola vía y las comparaciones fueron ajustadas con el método Tukey-Kramer. Las curvas de supervivencia generadas haciendo uso del método Kaplan-Meier fueron comparadas haciendo uso de la prueba log-rank (Mantel-Cox) y las comparaciones por pares fueron ajustadas con la corrección Bonferroni.

Resultados y discusión

MLN2238 es un inhibidor de la proteasoma selectivo, potente y reversible. MLN9708 fue identificado en pantallas para inhibidores de proteasoma de molécula pequeña con un perfil farmacológico mejorado a comparación con el bortezomib (Fig1). En estudios preclínicos, MLN9708 inmediatamente hidrolizó a MLN2238 (ver datos suplementarios), la forma biológicamente activa, en la exposición a soluciones acuosas o plasma. En estudios en los que una solución de MLN9708 fue adicionada directamente en una rata, un perro o plasma humano e inmediatamente extraída y analizada por cromatografía líquida de alto rendimiento, únicamente se pudo identificar MLN2238. MLN2238 es un ácido borónico dipeptídico leucino N-recubierto y preferencialmente unido a e inhibido el sitio de tipo quimiotripsina proteolítico

(β5) de la proteasoma 20S con un valor IC50 de 3.4 nmol/L (Ki de 0.93 nmol/L; Tabla 1). En mayores concentraciones, también inhibió los sitios proteolíticos de tipo caspasa (β1) y de tipo tripsina (β2) (IC50 of 31 and 3,500 nmol/L, respectivamente). Aunque la selectividad y la potencia de MLN2238 fueron similares a aquellas del bortezomib, la cinética de unión de proteasoma para estas dos moléculas es diferente. Tanto MLN2238 como el bortezomib mostraron inhibición de proteasoma reversible dependiente del tiempo; sin embargo, se determinó que la vida media de disociación de proteasoma (t1/2) para MLN2238 era ~6-veces más rápida que aquella del bortezomib (t1/2 de 18 y 110 minutos, respectivamente).

MLN2238 es un potente inhibidor de la proteasoma en células tumorales. A partir de los resultados bioquímicos, una serie de experimentos basados en células fueron realizados para confirmar la potente inhibición de proteasoma en las células. La inhibición de la proteasoma resulta en la estabilización y acumulación de proteínas ubiquitinadas, las cuales han sido objeto de destrucción. Esto lleva a trastornos en el ciclo celular, la activación de caminos apoptóticos, y activa la muerte celular (39–43). Estudios iniciales examinaron los efectos del tratamiento MLN2238 en un sustrato de proteasoma exógeno. Las células MDA-MB-231 que expresan un indicador 4×Ub-Luc (36) fueron tratadas con concentraciones en aumento de MLN2238 y bortezomib. Ambos compuestos inhibieron de manera fuerte la actividad de proteasoma, lo que resulta en la acumulación del indicador de luciferasa con valores EC50 similares (Tabla 1).

El efecto del bortezomib y de MLN2238 sobre la activación de necrosis tumoral de factor -α (TNF-α)-inducido del camino NF-κB fue igualmente examinada (44). La inhibición de la proteasoma previene la degradación de IκBα, un inhibidor de NF-κB, resultando en una disminución de la expresión del gen impulsado por in NF-κB. Las células HEK293 que expresan de forma estable un indicador de NF-κB-Luc fueron tratadas con concentraciones en aumento de MLN2238 y bortezomib. Ambos compuestos inhibieron de manera fuerte la activación de TNF-α- inducida del camino NF-κB, resultando en valores EC50 similares (Tabla 1).

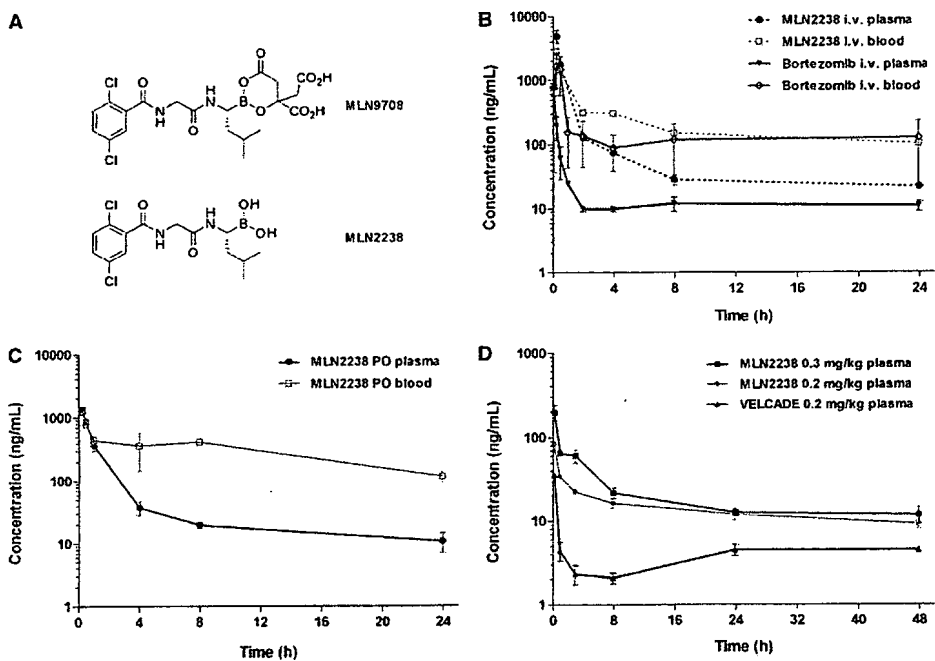


Figura 1. Estructura de MLN9708. A, concentración de sangre y plasma versus perfil de tiempo de MLN2238 y bortezomib en ratones CB - 17SCID siguiendo una administración aguda por vía intravenosa (100 µL por ratón) a 17 o 0.8 mg/kg, respectivamente. B, concentración de sangre y plasma versus perfil de tiempo siguiendo una administración aguda oral de MLN2238 en ratones CB17 - SCID a 11 mg/kg (100 µL por ratón). C, concentración de plasma versus perfil de tiempo siguiendo una administración aguda por vía intravenosa (200 µL por rata) de MLN2238 y bortezomib en ratas desnudas a 0.3, 0.2 y 0.2 mg/kg, respectivamente. D, barras, SD. N=3 para todos los puntos excepto 0.5 h

8.2

después de la dosis en plasma para MLN2238 por vía intravenosa, 1 h después de la dosis en plasma para bortezomib por vía intravenosa y 0.5 y 8 horas después de la dosis en sangre para MLN2238 por vía oral (PO), en donde n=2.

El efecto de MLN2238 o el bortezomib sobre la actividad de $\beta 5$ fue determinada in situ haciendo uso de la evaluación Proteasoma-Glo basada en células. Los valores IC50 determinados por este ensayo luego de una hora de tratamiento con MLN2238 o bortezomib se encontraron en el rango nanomolar bajo y comparable con aquellos calculados con proteasoma 20S purificada. La recuperación de la actividad de proteasoma fue determinada llevando a cabo experimentos de lavado con MLN2238 o bortezomib. Las células fueron tratadas con el medicamento por 4 horas, luego de las cuales el medicamento fue removido y la actividad de proteasoma fue evaluada. La actividad de proteasoma en las células tratadas con MLN2238 se recuperó al 69% de las células de control, mientras que en las células tratadas con bortezomib se recuperó tan solo al 20% (Tabla 1). La diferencia en la recuperación de la actividad de proteasoma entre MLN2238 y el bortezomib es consistente con las diferencias observadas en la proteasoma t1/2 entre las dos moléculas.

Los estudios de viabilidad celular fueron llevados a cabo en una variedad de líneas celulares de mamíferos para comparar los efectos antiproliferativos in vitro de MLN2238 con el bortezomib. Los estudios llevados a cabo con células A375 (pulmón), H460 (pulmón), HCT-116 (colon), y HT-29 (colon) revelaron valores LD50 similares para los dos compuestos, los cuales oscilaron entre 4 a 58 nmol/L (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen de parámetros de enzimología, farmacocinética y fármaco dinámica de MLN2238 y bortezomib

			MLN2238	Bortezomib		
Ensayos bioquímicos						
β5 Ki (nmol/L)			0.93 (0.64–1.4, n = 3)	0.55 (0.34–0.89, n = 3)		
β5 IC ₅₀ (nmol/L)			3.4 (2.8–4.1, n = 3)	2.4 (2.0–2.9, n = 45)		
β2 IC ₅₀ (nmol/L)			3,500	1,200		
β1 IC ₅₀ (nmol/L)			31	24 (14.5–40, n = 12)		
β5 disociación de media vida (min)			18 (6.8–30, n = 3)	110 (71–150, n = 3)		
Ensayos basados en células						
MDA-MB-231 4×Ub-Luc EC ₅₀ (nmol/L)			525 (330–840, n = 4)	310 (230–400, n = 29)		
E _{max} (veces de estimulación)			265 (160–370, n = 4)	370 (330–410, n = 29)		
HEK293 NF-κB-Luc EC ₅₀ (nmol/L)			55 (33–91, n = 7)	33 (27–40, n = 23)		
E _{max} (% inhibición máxima)			99.3 (99.0–99.6, n = 7)	99.6 (99.3–100, n = 23)		
Calu-6 Proteasome-Glo IC ₅₀ (nmol/L)			9.7 (n = 7)	4.8 (n = 12)		
Calu-6 Proteasoma-Glo (% actividad),* t = 4 h, sin lavado			7.1 (3.6–10.6, n = 5)	3.45 (2.0–4.9, n = 5)		
Calu-6 Proteasoma-Glo (% actividad),* t = 4 h, lavado			69 (66–71, n = 5)	20 (18–23, n = 5)		
A375 ATPlite LD ₅₀ (nmol/L)			20	6.5		
H460 ATPlite LD ₅₀ (nmol/L)			58	13		
HCT-116 ATPlite LD ₅₀ (nmol/L)			19	4		
HT-29 ATPlite LD ₅₀ (nmol/L)			52	7		
Parámetros farmacocinéticos						
Agente	Dosis y ruta	Matriz	C _{max} (ng/7mL9	AUC _{0–24h} (h·ng/mL)	Vd (L/kg)	F%
MLN2238	14 mg/kg i.v	Plasma	17,000	8.090		
	14 mg/kg i.v	Sangre	10.500	9.660	20.2	
	11 mg/kg oral	Plasma	1.630	1.810	27.8	
	11 mg/kg oral	Sangre	1.710	6.310	59.5	
Bortezomib	0.8 mg/kg i.v.	Plasma	321	485		
	0.8 mg/kg i.v.	Sangre	548	4422	4.3	
Parámetros fármaco dinámicos						
MLN2238	14 mg/kg i.v	Sangre		83.1 ±	718 ±	
	14 mg/kg i.v	Tumor (CWR22)		69.1	1120	1.56
	14 mg/kg i.v	Tumor (WSU – DLCL2)		77.0	1460	2.03
Bortezomib	0.8 mg/kg i.v.	Sangre		88.3 ±	1170±	
	0.8 mg/kg i.v.	Tumor (CWR22)		44.8	804	0.69

12

0.8 mg/kg i.v.	Tumor (WSU – DLCL2)	27.6	306	0.26
NOTA: Los resultados son reportados como media (95% intervalo de confianza, número de experimentos) Abreviaciones: K_i , constante de disociación de inhibición; E_{max} , máximo efecto; F%, biodisponibilidad oral; t = tiempo; $AUC_{0-24\ h}$, AUC desde 0 a 24 h; C_{max} , concentración máxima; V_d , volumen de distribución; I%, porcentaje de inhibición. * Después de la exposición a 1 $\mu\text{mol/L}$ o 1 $\mu\text{mol/L}$ de bortezomib por 30 min. † Para MLN2238, sangre E_{max} = 81.3 % a 85.0% (n=2) y $AUE_{0-24\ h}$ = 554 a 882 (n=2) ‡ Para bortezomib sangre E_{max} = 86.8% a 89.8% (n = 2) y $AUE_{0-24\ h}$ = 1,140 a 1,200 (n = 2).				

En conjunto, estos estudios in vitro muestran que MLN2238 es un potente inhibidor del sitio $\beta 5$ de la proteasoma 20S y que MLN2238 se disoció más rápidamente de la proteasoma que el bortezomib, en consistencia con una recuperación más rápida de la actividad de proteasoma observada en el ensayo de Proteasome-Glo. Dadas las altas concentraciones de proteasoma encontradas en los RBCs, esgrimimos la hipótesis de que la división de RBC podría servir como un disipador de medicamento para el bortezomib y limitar su distribución por fuera del compartimiento sanguíneo. La proteasoma más pequeña $t_{1/2}$ de MLN2238 debería permitir una distribución del medicamento en los tejidos. Para abordar este aspecto de forma directa, una serie de estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos y de eficiencia con MLN2238 y bortezomib fueron realizados en diferentes modelos de xenoinjertos.

Farmacocinética de MLN2238 y bortezomib

Para determinar el perfil farmacocinético de MLN2238 y el bortezomib, se les administró a los ratones una dosis única de MLN2238 a 14 mg/kg por vía intravenosa y 11 mg/kg oralmente o bortezomib a 0.8 mg/kg por vía intravenosa. Estas dosis representan la dosis máxima tolerada (MTD) para cada medicamento para la vía de administración especificada. Las exposiciones fueron determinadas midiendo la concentración de medicamento sanguínea y de plasma en varios puntos en tiempo luego de la dosis inicial (Tabla 1). La curva de concentración versus tiempo de MLN2238 administrado por vía intravenosa mostró un perfil biexponencial diferente con una fase de distribución inicial empinada y una terminal larga $t_{1/2}$ (>24 horas ; Fig. 1B). Debido a la extensa división de RCB, la distribución de tejidos de cuerpo entero es reflejada de manera más precisa en la distribución de volumen de sangre en estado estable ($V_{dss, s}$) más que en la distribución de volumen de plasma en estado estable ($V_{dss, p}$). MLN2238 mostró un mayor $V_{dss, s}$ (20.2 L/kg) a comparación con el bortezomib (4.3 L/kg), proporcionando sólida evidencia de que MLN2238 se mueve más fácilmente del compartimiento sanguíneo al compartimiento del tejido. MLN2238 igualmente mostró una biodisponibilidad moderada (Tabla 1; Fig. 1C). Para determinar el perfil farmacocinético de MLN2238 y el bortezomib en segundas especies, se les administró a ratas Sprague-Dawley una dosis intravenosa única de MLN2238 a bien sea 0.3 o 0.2 mg/kg o bortezomib a 0.2 mg/kg. Ambas dosis de MLN2238 proporcionaron una exposición de plasma mayor (dosis $AUC_{0-48\ h}$ de 704 y 1,070 h·ng/mL para 0.2 y 0.3 mg/kg, respectivamente) a comparación con el bortezomib ($AUC_{0-48\ h}$ of 206 h·ng/mL), confirmando que MLN2238 tiene una exposición de plasma mejorada a comparación con el bortezomib en los roedores (Fig. 1D).

MLN2238 induce una mayor respuesta farmacodinámica que el bortezomib en tumores xenoinjertos.

Para una evaluación adicional de la actividad de MLN2238 in vivo, una serie de estudios farmacodinámicos fueron desarrollados en ratones CB17-SCID usando próstata humana (CWR22). La respuesta fármaco dinámica fue evaluada por medio de la medición de (a) el grado de inhibición de proteasoma 20S y (b) los niveles de expresión de la proteína GADD34.

La inhibición de la proteasoma 20S en sangre y tumores fue generada por MLN2238 y bortezomib desde ambos CWR22 y xeno implantes WSA-DLCL2 (Fig.2) la AUE fue calculada desde 0 hasta 24 horas ($AUE_{0-24\ h}$) tanto para sangre como para tumor (Tabla 1) estas AUEs representa la suma del efecto fármaco dinámico sobre un periodo definido de tiempo en un compartimiento de tejido particular. Calculando la tasa AUE de tumor y sangre proporcionando una reflexión funcional de la distribución y del efecto fármaco dinámico perdurable del medicamento en diferentes compartimientos de tejido. El nivel máximo de inhibición de proteasoma en sangre (E_{max}) seguido de una dosis aguda intravenosa bien

4
13

sea de MLN2238 (83.1%) o bortezomib (88.3%) fue cercanamente idéntica (Tabla 1). Sin embargo, la duración del efecto difiere entre la dos moléculas, teniendo con bortezomib una respuesta mas sostenida y, por lo tanto, un AUE mayor en sangre que MLN2238 (Fig. 2B y D) en contraste con la sangre, MLN2238 mostró una tanto una mayor y máxima y sostenida inhibición de proteasoma de tumor comparada con bortezomib en ambos modelos de xenoinplante (Tabla 1; Fig 2ª y C) la tasa de sangre y tumor para MLN2238 en CWR22s y WSU-DLCL2s fue 1.56 y 2.03, respectivamente, comparada con 0.69 y 0.29 para bortezomib (Tabla 1). Consistente con los perfiles farmacocinéticos descritos para estas dos moléculas (es decir, MLN2238 tiene un mayor V_{dss}), estos resultados mostraron que MLN2238 tuvo un mayor efecto farmacodinámico en tumor comparado con sangre, mientras que lo contrario fue cierto para bortezomib. Consistente con el tumor mejorado E_{max} en ratones tratados MLN2238, estos datos confirman que MLN2238 tuvo un mayor efecto farmacodinámico general que el bortezomib tal y como fue evaluado por la inhibición de 20S.

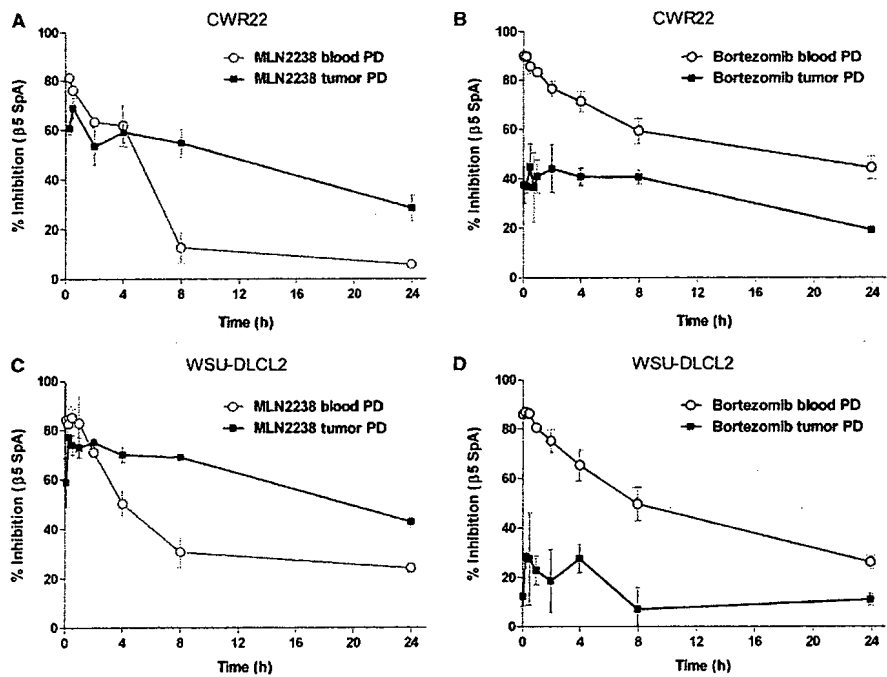


Figura 2. Inhibición de la proteasoma versus perfil de tiempo de MLN2238 (14 mg/kg; A y C) y bortezomib (0.8 mg/kg; B y D) siguiendo una administración aguda por vía intravenosa en CWR22 (A y B) y WSU-DLCL2 (C y D) ratones que llevan tumores. La respuesta farmacodinámica en sangre y tumores fue determinada por medio de la medición de la inhibición de la enzima $\beta 5$ de la proteasoma 20S en sangre y tumores en diferentes puntos de tiempo.

Fueron evaluados marcadores adicionales de farmacodinámica para estudiar el efecto descendiente de la inhibición de la proteasoma. Una de las consecuencias de la inhibición de la proteasoma es la acumulación de las proteínas asociadas con el estrés de la vía de tensión de reticulum endoplásmico (ER) y de la vía de respuesta de proteínas desdobladas (UPR) (11, 45-50). Una de estas proteínas es GADD34, un gen de tensión inducible que también es sobre regulado en respuesta a daños en el ADN, hipoxia, y agotamiento de energía (51). Los análisis de Western blot fueron realizados en tumores aislados a partir de ratones CWR22 y WSU-DLCL2 que llevaban xenoinplantes tanto con MLN2238 como con bortezomib (Fig 3). El incremento de la expresión de GADD34 fue visto en tumores CWR22 xeno implantados siguiente tratamiento de MLN2238 o bortezomib, mientras que una respuesta aun mayor fue vista siguiendo el tratamiento MLN2238 (Fig 3A). De manera similar, el tratamiento con bortezomib solo

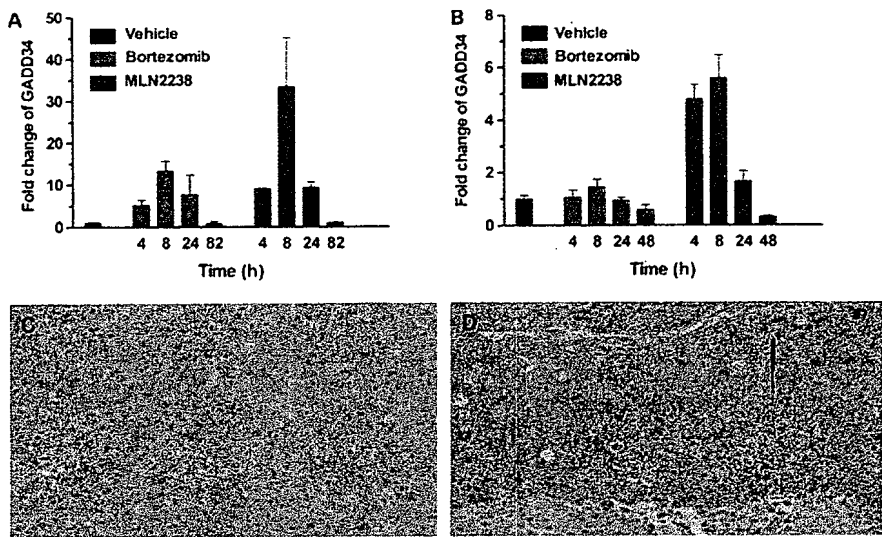


Figura 3. La respuesta fármaco dinámica en tumores fue determinada por medio de la medida de los niveles de la proteína GADD34 en diferentes puntos de tiempo por medio de western bolt y cuantificada con un Sistema de imágenes Infrarojo Odyssey. A y B, respuesta normalizada de GADD34 versus perfil de tiempo se muestran como factor de cambio del vehículo de control siguiendo una administración aguda por vía intravenosa de MLN2238 a 10 mg/kg y bortezomib a 0.8 mg/kg en ratones que llevan tumores CWR22 (A) y WSU – DLCL2 (B). Las columnas, media de tres tumores por grupo, excepto el grupo de vehículo CWR22 con cuatro tumores y el grupo de vehículo WSU – CLDL2 con 5 tumores; las barras, SD. La coloración inmunohistoquímica (C y D) para GADD34 en tumores xenoinplantados CWR22 8h siguiendo una dosis aguda intravenosa de cualquiera de los vehículos (C) o MLN2238 a 14 mg/kg (D).

llevó a un menor incremento en los niveles de GADD34 en tumores xeno implantados WSU.DLCL2, en donde MLN238 induce fuertemente si expresión (Fig 3B). Para confirmar estos resultados y para tener un mejor entendimiento de la magnitud de la respuesta a través de células individuales dentro del tumor, se desarrolló una coloración inmunohistoquímica usando en anticuerpo anti-GADD34 (Proteintech). Una coloración fuerte GADD34, reflejando un incremento en los niveles de proteína GADD34, fue vista a través de la mayoría de las células del tumor en xenoinplantados CRW22 8 horas después de una dosis intravenosa única de MLN2238 a 14mg/kg (Fig. 3D) comparada con una muy baja coloración en los xenoinplantados CRW22 tratados con vehículos (Fig. 3C). Aproximadamente un incremento de 5 veces el número total de células positivas de GADD34 fueron vistas 8 y 24 horas después del tratamiento con MLN2238 en comparación con el vehículo de los tumores de control tratados (Fig. suplementaria S1). En los tumores xenoinplantados WSU-DLCL2, el tratamiento con bortezomib lleva solo a un menor incremento en los niveles de GADD34 medidos por western blot, en donde MLN2238 induce fuertemente su expresión (Fig. 3B). De manera adicional, examinando los niveles de ATF3, otro gen sobre regulado durante la tensión ER y la activación UPR (48, 52, 53) reveló un patrón similar, con un mayor número de celular con coloración positivamente para ATF3 siguiendo un tratamiento de tumores xenoinplantados WSU.DLCL2 con MLN2238 en comparación con bortezomib (Fig. suplementaria S2). Estos resultados confirman que la mejor exposición de los tumores vista con MLN2238 trasladada dentro de una farmacodinámica mejorada del tumor responde tanto al nivel como de manera descendiente desde la proteasoma.

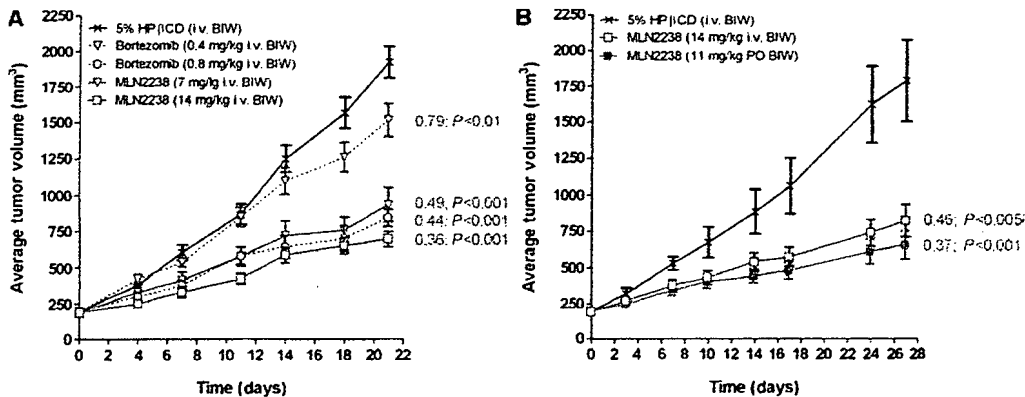


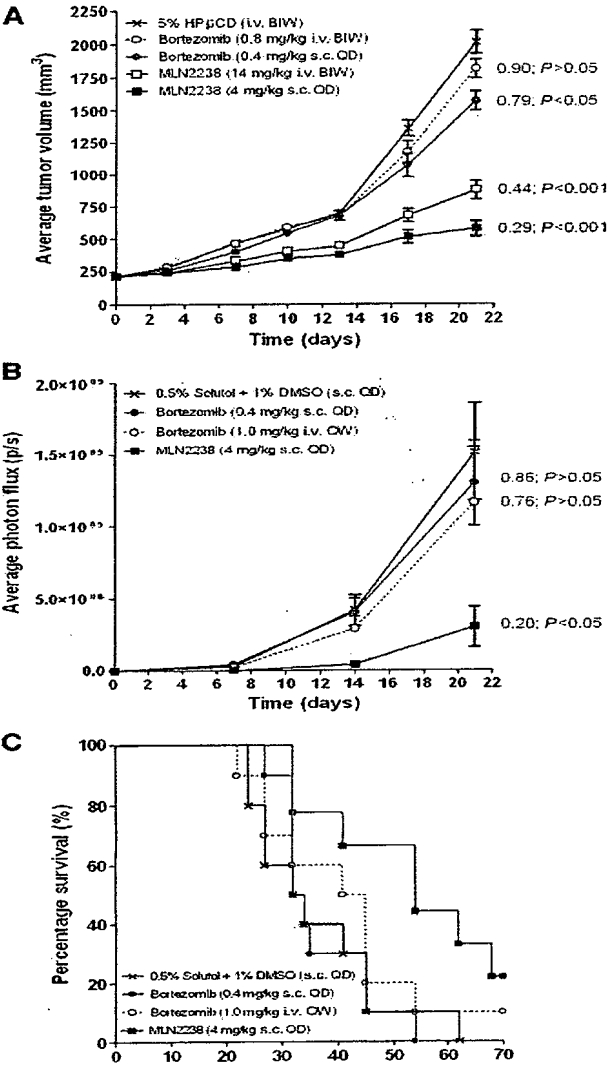
Figura 4. Actividad anti tumor de MLN2238 y bortezomib en ratones que llevan tumores CWR22 (n =10). A. los animales fueron dosificados por vía intravenosa dos veces a la semana (BIW) con un vehículo (5% HPβCD) bortezomib (0.4 y 0.8 mg/kg en salina 0.9%), y MLN2238 (7 y 14 mg/kg en 5% HPβCD). B. los animales fueron dosificados por vía intravenosa dos veces a la semana con un vehículo, dos veces a la semana por vía intravenosa con MLN2238 (14 mg/kg), o por vía oral dos veces a la semana con MLN2238 (11 mg/kg). Los puntos, volumen promedio del tumor en cada grupo de tratamiento; barras, SE. Valores T/C y P fueron calculados tal y como se describe en Materiales y Métodos. Un valor P ≤0.05 fue considerado como significativo.

MLN2238 muestra una actividad anti tumor en el modelo de xenoinplante CWR22.

Para confirmar que la respuesta fármaco dinámica vista en los xenoinplantes CWR22 se podría trasladar dentro de la actividad anti tumor, una serie de experimentos de eficacia fueron llevados a cabo comparando MLN2238 con bortezomib.

Los efectos antitumor de MLN2238 dosificado a 14mg/kg de manera intravenosa o 7 mg/kg de manera intravenosa fueron comparados con bortezomib dosificado a 0.8 mg/kg de manera intravenoso o 0.4 mg/kg de manera intravenosa en un régimen de dos veces a la semana (Fig 4A). La dosis más alta tanto para MLN2238 como para bortezomib mostraron una actividad anti tumor similar en este modelo (T/C = 0.36 y 0.44 respectivamente). Sin embargo, MLN2238 (7 mg/kg) mostró mayor eficacia a una dosis de 0.5 MTD en comparación con una dosis de 0.5 MTD de bortezomib (0.4 mg/kg: T/C = 0.4 en comparación con T/C = 0.79 respectivamente; Fig. 4A).

MLN2238 tiene una biodisponibilidad moderada (Tabla 1) en la Fig 4B, nosotros mostramos que la dosis oral de MLN2238 resultó en una actividad anti tumor en el modelo xenoinplante CWR22 (T/C = 0.37) . Tomado en conjunto, estos resultados muestran que el modelo de próstata humana es sensible a la inhibición de proteasoma. Adicionalmente, una comparación directa entre MLN2238 y bortezomib reveló una actividad anti tumor similar cuando es dosificada a sus respectivos MTD; sin embargo, cuando ambos compuestos fueron dosificados a sus respectivos 0.5 MTD, MLN2238 mostró una actividad mejorada por sobre bortezomib (Fig 4A).



MLN2238 mostró una eficacia mejorada en comparación con bortezomib en dos modelos de linfoma.

MLN2238 mostró una mayor respuesta fármaco dinámica en xenoinplantes WSU-DLCL2 en comparación con bortezomib (Tabla 1; Figs. 2 y 3). Para evaluar si la respuesta fármaco dinámica más robusto es trasladada a una mayor actividad anti tumor, fue llevado a cabo un estudio de eficacia en ratones WSU-DLCL2 que llevaban tumores. Los efectos anti tumor de MLN2238 [dosificado a 14 mg/kg vía intravenosa dos veces a la semana o 4 mg/kg vía subcutánea una vez al día (QD)] fueron directamente comparados con bortezomib (Dosificado a 0.8 mg/kg vía intravenosa dos veces a la semana o 0.4 mg/kg por vía subcutánea QD; Fig 5A). En este experimento, ninguna de las dosis de bortezomib mostró una fuerte actividad anti tumor (T/C = 0.79 y 0.9 para 0.8 mg/kg por vía intravenosa y 0.4 mg/kg por vía subcutánea, respectivamente). En contraste tanto regimenes de dosificación intermitente

como regímenes de dosificación continuo de MLN2238 mostraron una fuerte actividad anti tumor (T/C = 0.44 y 0.29 for 14 mg/kg por vía intravenosa y mg/kg por vía subcutánea, respectivamente) y generaron una respuesta apoptótica mayor en tejidos de tumor tal y como fue medido por los niveles de caspasa-3 escindidos (Fig. suplementaria S3).

Figura 5. La actividad anti tumor de MLN2238 y bortezomib en dos modelos de linfoma xenoinplantado. Cada grupo de tratamiento consistió en 10 ratones. A. la actividad anti tumor en xenoinplantos WSU – DLCD2. Los animales fueron dosificados con un vehículo (5% HPβCD por vía intravenosa dos veces a la semana) bortezomib (0.8 mg/kg dos veces a la semana o 0.4 mg/kg por vía subcutánea QD) o MLN2238 (14 mg/kg por vía intravenosa dos veces a la semana o 4 mg/kg por vía subcutánea QD) por tres semanas consecutivas. B. la actividad anti tumor en el modelo de linfoma diseminado OCI-Ly7-Luc. Los animales fueron dosificados con un vehículo (0.5% Solutol + 1% DMSO por vía subcutánea QD) bortezomib (0.4 mg/kg en salina 0.9% por vía subcutánea QD), bortezomib (1.0 mg/kg en salina 0.9% por vía intravenosa QW) o MLN2238 (4 mg/kg en 0.5 Solutol + 1% DMSO vía subcutánea QD) por 3 semanas consecutivas. Los Puntos, volumen promedio de los tumores; barras, SE. Los valores T/C y P fueron calculados tal y como fue descrito en Materiales y Métodos. Un valor P de ≤ 0.05 fue considerado como significativo. C, perfil de supervivencia Kaplan-Meier.

La actividad anti tumor de MLN2238 y bortezomib fue evaluada en un modelo diseminado de linfoma. La capacidad de los dos medicamentos para reducir la carga tumoral y mejorar la supervivencia general fue evaluada en este modelo de linfoma sistémico. Ratones NOD-SCID fueron inoculados con células OCI-Ly7-Luc expresando un gen de reporte de luciferasa. Escaneos bioluminiscentes, obtenidos por medio de formación de imágenes cuantitativas Xenogen, permitió el seguimiento del crecimiento del tumor en animales vivos a través del tiempo. La más fuerte respuesta anti tumor fue vista siguiendo el tratamiento con MLN2238 a 4.0 mg/kg por vía subcutánea QD (T/C = 0.20; Fig 5B). Este régimen de dosificación también prolongó de manera significativa la supervivencia general en este modelo en comparación con los vehículos de control tratados (la supervivencia media fue de 54 días versus 33 días, $P = 0.05$; Fig. 5C). Una respuesta anti tumor mucho más débil fue vista siguiendo el tratamiento con bortezomib a 0.4 mg/kg por vía subcutánea QD o 1.0 mg/kg por vía intravenosa una vez a la semana (T/C = 0.86 y 0.76 respectivamente). Este régimen de dosificación de bortezomib tampoco prolongó de manera significativa la supervivencia (la supervivencia media fue de 33 y 43 días respectivamente; $P > 0.99$ para ambos; Fig. 5C).

En resumen, hemos identificado una segunda generación de pequeñas moléculas inhibidores de la proteasoma. Estas tienen unas propiedades físico químicas diferentes en comparación con el bortezomib, incluyendo una disociación más corta de la proteasoma $t_{1/2}$, la cual nosotros creemos que juega un rol crítico en la capacidad de esta molécula para distribuir dentro de los tejidos. Una farmacocinética y tolerabilidad mejoradas permiten que esta molécula sea administrada en dosis más altas, resultando en una mayor exposición de la sangre y el plasma. De manera consistente con estos hallazgos, hemos encontrado una mayor respuesta fármaco dinámica en múltiples modelos de xenoinplantos tratados con MLN2238 en comparación con bortezomib, particularmente en tumores, soportando nuestra hipótesis de que MLN2238 tiene unas características de distribución mejoradas. La biodisponibilidad superior también permite a esta molécula ser dosificada por vía oral, en donde bortezomib está restringido regímenes de dosificación intravenoso y subcutáneo para alcanzar niveles de exposición aceptables. Los datos generados tanto de los estudios de eficacia subcutánea como de xenoinplantos diseminados muestran que MLN2238 tiene una mayor actividad anti tumor cuando es administrado bien sea por regímenes de dosificación continuos o intermitentes y mejora la supervivencia general en comparación con el bortezomib. Tomados en conjunto, estos datos soportan el desarrollo clínico de MLN9708, tanto para indicación de tumores sólidos como hematológicos.

Revelación de conflictos de intereses potenciales

Ningún conflicto de intereses potencial fue revelado.

Reconocimientos:

Los gastos de publicación de este artículo fueron sufragados en parte por el pago de cargos por página. Este artículo debe, por tanto, por la presente estar marcado como *publicidad* de conformidad con la Sección 1734 de 18 USC exclusivamente para indicar este hecho.

Recibido el 24 de julio de 2009, revisado el 14 de diciembre de 2009; aceptado el 15 de diciembre de 2009, publicado en OnlineFirst el 16 de febrero de 2010.

Referencias:

1. Orlowski RZ, Kuhn DJ. Inhibidores de la proteasoma en la terapia de cáncer: lecciones desde la primera década. Clin Cancer Res 2008; 14:1649–57.
2. Dalton WS. La Proteasoma. Semin Oncol 2004; 31:3–9; discusión 33.
3. Delic J, Masdehors P, Omura S, et al. El inhibidor de la proteasoma lactacistina induce la apoptosis y sensibiliza la quimio y la radio resistencia crónica en humanos de linfocitos en leucemia linfocítica para apoptosis iniciada TNF- α - [ver comentarios]. Br J Cancer 1998; 77:1103–7.
4. LeBlanc R, Catley LP, Hideshima T, et al. El inhibidor de Proteasoma PS-341 inhibe el crecimiento de células de mieloma humano in vivo y prolonga la supervivencia en un modelo murino. Cancer Res 2002; 62:4996–5000.
5. Orlowski RZ, Eswara JR, Lafond-Walker A, et al. Inhibición del crecimiento de tumores inducidos en un modelo murino de linfoma humano de Burkitt por un inhibidor de proteasoma. Cancer Res 1998; 58:4342–8.
6. Shinohara K, Tomioka M, Nakano H, et al. Inducción de Apoptosis resultante desde la inhibición de la proteasoma. Biochem J 1996; 317:385–8.
7. Adams J. Inhibidores de proteasoma como nuevos medicamentos anti cáncer. Curr Opin Oncol 2002; 14:628–34.
8. Adams J. Potencial para la inhibición de la proteasoma en el tratamiento de cáncer. Drug Discov Today 2003; 8:307–15.
9. Adams J. El desarrollo de los inhibidores de proteasoma como medicamentos anti cáncer. Cancer Cell 2004; 5:417–21.
10. Nalepa G, Rolfe M, Harper JW. Descubrimiento de medicamentos en el Sistema ubiquitin proteasoma. Nat Rev 2006; 5:596–613.
11. Nencioni A, Grunebach F, Patrone F, Ballestrero A, Brossart P. Inhibidores de la Proteasoma; efectos antitumor y mas alla. Leukemia 2007; 21:30–6.
12. Voorhees PM, Dees EC, O'Neil B, Orlowski RZ. La proteasoma como un objetivo para la terapia de cáncer. Clin Cancer Res 2003; 9:6316–25.
13. Belch A, Kouroukis CT, Crump M, et al. Un estudio de fase II de bortezomib en linfoma de células del manto: el Instituto de Cáncer de Canadá Grupo de Pruebas Clínicas prueba IND.150. Ann Oncol 2007; 18:116–21.
14. Fisher RI, Bernstein SH, Kahl BS, et al. Estudio multi central fase II de bortezomib en pacientes con linfoma de células del manto en recaída o resistente. J Clin Oncol 2006; 24:4867–74.
15. Goy A, Younes A, McLaughlin P, et al. Estudio de fase II de inhibidor de proteasoma bortezomib en recaída o resistentes en células B de linfoma de non-Hodgkin. J Clin Oncol 2005; 23:667–75.
16. O'Connor OA, Wright J, Moskowitz C, et al. Fase II de experiencia clínica con el Nuevo inhibidor de proteasoma bortezomib en pacientes con linfoma indolente de non-Hodgkin y linfoma de células del manto. J Clin Oncol 2005; 23:676–84.
17. Orlowski RZ, Stinchcombe TE, Mitchell BS, et al. Ensayo Fase I del inhibidor de proteasoma PS-341 en pacientes con tumores malignos hematológicos resistentes. J Clin Oncol 2002; 20:4420–7.
18. Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, et al. Un estudio de fase 2 de bortezomib en mieloma en recaída o resistente. N Engl J Med 2003; 348:2609–17.
19. Richardson PG, Barlogie B, Berenson J, et al. Seguimiento extendido de un ensayo de fase II en mieloma múltiple en recaída o resistente: tiempo final para los resultados del evento desde el ensayo SUMMIT. Cancer 2006; 106:1316–9.

20. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster M, et al. Seguimiento extendido de un ensayo de fase III en mieloma múltiple en recaída: tiempo final para los resultados del evento desde el ensayo APEX. *Blood* 2007;110:3557–60
21. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, et al. Bortezomib o una lata dosis de dexametasona para mieloma múltiple en recaída, *N Engl J Med* 2005;352:2487–98.
22. Chauhan D, Singh A, Brahmandam M, et al. Combinación de los inhibidores de proteasoma bortezomib y el disparador NPI-0052 in vivo de citotoxinas sinérgicas en mieloma múltiple. *Blood* 2008;111:1654–64
23. Cusack JC, Jr., Liu R, Xia L, et al. NPI-0052 incrementa la respuesta tumoricida para la terapia de cáncer convencional en un modelo de cáncer de colon. *Clin Cancer Res* 2006; 12:6758–64.
24. Demo SD, Kirk CJ, AujayMA, et al. Actividad anti tumor de PR-171, un Nuevo inhibidor irreversible de la proteasoma. *Cancer Res* 2007; 67:6383–91.
25. Dorsey BD, Iqbal M, Chatterjee S, et al. Descubrimiento de un inhibidor de proteasoma potente, selectivo y oralmente activo para el tratamiento del cáncer. *J Med Chem* 2008; 51:1068–72.
26. Mitsiades CS, Hayden PJ, Anderson KC, Richardson PG. Desde el banquillo hasta la cabecera: surgimiento de nuevos tratamientos en mieloma múltiple. *Best Pract Res* 2007; 20:797–816.
27. Piva R, Ruggeri B, Williams M, et al. CEP-18770: un inhibidor de proteasoma novedoso y oralmente activo con un perfil farmacológico selectivo de tumores competitivo con el bortezomib. *Blood* 2008; 111:2765–75.
28. Sterz J, von Metzler I, Hahne JC, et al. El potencial de los inhibidores de proteasoma en la terapia de cáncer. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17:879–95.
29. Kuhn DJ, Chen Q, Voorhees PM, et al. Potente actividad de carfilzomib, un inhibidor novedoso e irreversible de la ruta de ubiquitin proteasoma, en contra de modelos preclínicos de mieloma múltiple. *Blood* 2007; 110: 3281–90.
30. Stapnes C, Doskeland AP, Hatfield K, et al. el inhibidor de proteasoma bortezomib y PR-171 tiene efectos anti proliferativos y proapoptóticos en células de leucemia mieloide aguda humanas primarias. *Br J Haematol* 2007; 136:814–28.
31. Arendt CS, Hochstrasser M. Identificación de los centros catalíticos de levadura 20S proteasoma y de interacciones requeridas de subunidades para formación activa in sitio. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94:7156–61.
32. Baumeister W, Walz J, Zuhl F, Seemuller E. La proteasoma: paradigma de una proteasa auto compartimentada. *Cell* 1998; 92:367–80.
33. Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. Estructura y funciones de las proteasomas 20S y 26S. *Annu Rev Biochem* 1996; 65:801–47.
34. Heinemeyer W, Ramos PC, Dohmen RJ. La última picadora de nano escala: ensamble, estructura y sitios de actividad del núcleo de la proteasoma 20S. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61:1562–78.
35. Adams J, Behnke M, Chen S, et al. Inhibidores potentes y selectivos de la proteasoma: ácidos dipeptídico bórico. *Bioorg Med Chem Lett* 1998; 8:333–8.
36. Williamson MJ, Blank JL, Bruzzese FJ, et al. Comparación de los efectos bioquímicos y biológicos de ML858 (salinosporamida A) y bortezomib. *Mol Cancer Ther* 2006; 5:3052–61.
37. Lightcap ES, McCormack TA, Pien CS, Chau V, Adams J, Elliott PJ. Mediciones de inhibición de proteasoma: aplicación clínica. *Clin Chem* 2000; 46:673–83.
38. Elliott PJ, Soucy TA, Pien CS, Adams J, Lightcap ES. Ensayos para la inhibición de la proteasoma. *Métodos Mol Med* 2003; 85:163–72.
39. Kumatori A, Tanaka K, Inamura N, et al. Expresión anormalmente alta de proteasomas en células leuquemias humanas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87:7071–5.
40. Li X, Amazit L, Long W, Lonard DM, Monaco JJ, O'Malley BW. Ubiquitin y el borde proteolítico ATP-independiente de p21 por la ruta REGγ-proteasoma. *Mol Cell* 2007; 26:831–42.
41. Tambyrajah WS, Bowler LD, Medina-Palazon C, Sinclair AJ. Células ciclo dependientes con actividad similar a la caspasa que escinden p 27(KIP1) es la sub unidad β(1) de la proteasoma 20S. *Arch Biochem Biophys* 2007; 466: 186–93.
42. Toutou R, Richardson J, Bose S, Nakanishi M, Rivett J, Allday MJ. Un signo de degradación localizado en el término – C de p21WAF1/CIP1 es un sitio de vínculo para la α-sub unidad C8 de la proteasoma 20S. *EMBO J* 2001; 20:2367–75.
43. Ang XL, Harper JW. Osciladores entretejidos de y control del ciclo de transiciones. *Sci STKE* 2004; 2004:pe31.
44. Karin M, Lin A. NF-κB en los caminos cruzados de la vida y la muerte. *Nat Immunol* 2002; 3:221–7.

45. Lee AH, Iwakoshi NN, Anderson KC, Glimcher LH. Los inhibidores de proteasoma interrumpen la respuesta de la proteína desplegada en células de mieloma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:9946–51.
46. Fribley A, Zeng Q, Wang CY. El inhibidor de proteasoma PS-341 induce apoptosis través de la inducción de especies de oxígeno reactivas al estrés del retículo endoplásmico en células de carcinoma de células escamosas del cuello. *Mol Cell Biol* 2004; 24:9695–704.
47. Kraus M, Malenke E, Gogel J, et al. El Ritonavir induce es estrés del retículo endoplásmico y sensibiliza las células a través de la apoptosis inducida de bortezomib. *Mol Cancer Ther* 2008; 7:1940–8.
48. Wang Q, Mora-Jensen H, Weniger MA, et al. Los inhibidores ERAD integran estrés ER con un mecanismo epigenético para la actividad única BH3 de la proteína NOXA en células de cáncer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 2200–5.
49. Meister S, Schubert U, Neubert K, et al. La producción extensiva inmunoglobulina sensibiliza las células de mieloma para la inhibición de la proteasoma. *Cancer Res* 2007; 67:1783–92.
50. Obeng EA, Carlson LM, Gutman DM, Harrington WJ, Jr., Lee KP, Boise LH. Los inhibidores de proteasoma inducen una respuesta terminal de la proteína desplegada en células de mieloma múltiple. *Blood* 2006; 107:4907–16.
51. Hollander MC, Zhan Q, Bae I, Fornace AJ, Jr. Gen mamífero GADD34, apoptosis- y un gen de daño de ADN inducible. *J Biol Chem* 1997; 272:13731–7.
52. Hai T, Wolfgang CD, Marsee DK, Allen AE, Sivaprasad U. ATF3 y respuestas de estrés. *Gene Expr* 1999; 7:321–35.
53. Jiang HY, Wek SA, McGrath BC, et al. La activación de la transcripción del factor 3 está integrada a la iniciación eucariótica de la respuesta de factor 2 de estrés de quinasa. *Mol Cell Biol* 2004;24: 1365–77.

Corrección: Evaluación del Inhibidor de la Proteasoma MLN9708 en modelos Preclínicos de cáncer humano

En este artículo (Cancer Res 2010;70:1970–80), el cual fue publicado en la edición del 1 de marzo de 2010 de Cancer Research (1), Paul Hales (Millennium Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, Massachusetts) debió haber sido incluido como el noveno autor. El artículo en línea ha sido cambiado para reflejar esta corrección y ya no coincide con la versión impresa.

Referencia

1. Kupperman E, Lee EC, Cao Y, Bannerman B, Fitzgerald M, Berger A, Yu J, Yang Y, Hales P, Bruzzese F, Liu J, Blank J, Garcia K, Tsu C, Dick L, Fleming P, Yu L, Manfredi M, Rolfe M, Bolen J. Evaluación del inhibidor de proteasoma MLN9708 en modelos preclínicos de cáncer humano. Cancer Res 2010;70:1970–80.

Publicado en OnlineFirst el 27 de Abril de 2010

© 2010 Asociación Americana para la Investigación del Cáncer

doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0973

Corrección: fechas de publicación en línea para artículos de Cancer Research del 15 de abril 2010

Los siguientes artículos en la edición del 15 de abril de 2010 fueron publicadas con una fecha de publicación en línea listada el 6 de abril de 2010, pero fueron actualmente publicadas en línea el 13 de abril de 2010:

Garmy-Susini B, Avraamides CJ, Schmid MC, Foubert P, Ellies LG, Barnes L, Feral C, Papayannopoulou T, Lowy A, Blair SL, Cheresch D, Ginsberg M, Varner JA. La señalización de la integrina $\alpha 4 \beta 1$ es requerida para limfangiogénesis y metástasis de tumor. *Cancer Res* 2010;70:3042–51. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3761.

Vincent J, Mignot G, Chalmin F, Ladoire S, Bruchard M, Chevriaux A, Martin F, Apetoh L, Rébé C, Ghiringhelli F. 5-Fluorouracilo mata selectivamente las células supresoras asociadas a tumores derivadas mieloide resultando en una inmunidad anti tumor T celulo – dependiente. *Dancer Res* 2010;70:3052–61. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3690.

Nagasaka T, Rhees J, Kloor M, Gebert J, Naomoto Y, Boland CR, Goel A. La Hipermetilación somática de MSH2 es un evento frecuente en los cánceres colorectales del síndrome de Lynch. *Cancer Res* 2010;70:3098–108. Publicado en OnlineFirst April 13, 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3290.

He X, Ota T, Liu P, Su C, Chien J, Shridhar V. La regulación negativa de HtrA1 promueve la resistencia a anoikis y la diseminación peritoneal de células de cáncer de ovario. *Cancer Res* 2010;70:3109–18. Publicado en OnlineFirst Abril el 13 de 2010. doi:10.1158/0008-5472. CAN-09-3557.

Fiorentino M, Judson G, Penney K, Flavin R, Stark J, Fiore C, Fall K, Martin N, Ma J, Sinnott J, Giovannucci E, Stampfer M, Sesso HD, Kantoff PW, Finn S, Loda M, Mucci L. Expresión Inmunohistoquímica de BRCA1 y cáncer de próstata letal. *Cancer Res* 2010;70:3136–9. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-4100.

Veronese A, Lupini L, Consiglio J, Visone R, Ferracin M, Fornari F, Zanesi N, Alder H, D'Elia G, Gramantieri L, Bolondi L, Lanza G, Querzoli P, Angioni A, Croce CM, Negrini M. Rol oncogénico de miR-483-3p en el locus IGF2/483. *Cancer Res* 2010;70:3140–9. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-4456.

Lu W, Zhang G, Zhang R, Flores LG II, Huang Q, Gelovani JG, Li C. Silenciamiento de tumores de sitio específico de NF- κ B p65 por medio de direccionamiento de nanoesferas mediadas huecas doradas de transfección fototermal. *Cancer Res* 2010;70:3177–88. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3379.

Geng H, Rademacher BL, Pittsenbarger J, Huang C-Y, Harvey CT, Lafortune MC, Myrthue A, Garzotto M, Nelson PS, Beer TM, Qian DZ. ID1 incrementa la citotoxicidad del docetaxel en las células de cáncer de próstata a través de la inhibición de p21. *Cancer Res* 2010;70:3239–48. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3186.

Yoo BK, Chen D, Su Z-z, Gredler R, Yoo J, Shah K, Fisher PB, Sarkar D. Mecanismo molecular de quimioresistencia por astrocitos elevados gen-1. *Cancer Res* 2010;70:3249–58. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-4009.

Lu ZH, Shvartsman MB, Lee AY, Shao JM, Murray MM, Kladney RD, Fan D, Krajewski S, Chiang GG, Mills GB, Arbeit JM. El objetivo Mammalian del activador RHEB rapamicina está frecuentemente sobre expresado en carcinomas humanos y es crítico y suficiente para carcinogénesis epiteliales de la piel. *Cancer Res* 2010;70:3287–98. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3467.

Hattermann K, Held-Feindt J, Lucius R, Muerköster SS, Penfold MET, Schall TJ, Mentlein R. el receptor CXCR7 de quimioquinas está altamente expresado en células de glioma humano y es mediador de

efectos anti-apoptóticos. *Cancer Res* 2010;70:3299–308. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3642.

Nadiminty N, Lou W, Sun M, Chen J, Yue J, Kung H-J, Evans CP, Zhou Q, Gao AC. Activación aberrante del receptor andrógeno por NF- κ B2/p52 en células de cáncer de próstata. *Cancer Res* 2010;70:3309–19. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3703.

Acu ID, Liu T, Suino-Powell K, Mooney SM, D'Assoro AB, Rowland N, Muotri AR, Correa RG, Niu Y, Kumar R, Salisbury JL. La coordinación de homeostasis de centrosoma y la reparación de AND está intacta en MCF-7 e interrumpida en MDA-MB 231 células de cáncer de seno. *Cancer Res* 2010;70:3320–8. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3800.

McFarlane C, Kelvin AA, de la Vega M, Govender U, Scott CJ, Burrows JF, Johnston JA. La enzima deubiquitinating USP17 está expresada altamente en biopsias de tumor, está regulada por el ciclo de la células y es requerida para la progresión G1-S. *Cancer Res* 2010;70:3329–39. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-4152.

Dudka AA, Sweet SMM, Heath JK. Los transductores de señales y los activadores de transcripción -3 vinculados al receptor del factor de crecimiento de fibroblastomas es activado por la amplificación del receptor. *Cancer Res* 2010;70:3391–401. . Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3033.

Cho SY, Xu M, Roboz J, Lu M, Mascarenhas J, Hoffman R. El efecto del procesamiento de CXCL12 en la migración de la célula CD34+ en neoplasmas mieloproliferativos. *Cancer Res* 2010;70:3402–10. Publicado en OnlineFirst el 13 de Abril de 2010. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3977.

Publicado en OnlineFirst el 11 de Mayo de 2010

© 2010 Asociación Americana para la Investigación del Cáncer

doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1347