



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 835 499**

⑮ Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.07.2015** **PCT/US2015/042951**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2016** **WO16019165**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2015** **E 15827946 (3)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.09.2020** **EP 3174540**

④ Título: **Metotrexato para la vitreorretinopatía proliferativa**

⑩ Prioridad:

30.07.2014 US 201462030778 P

⑤ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2021

⑦ Titular/es:

MASSACHUSETTS EYE & EAR INFIRMARY (100.0%)
243 Charles Street
Boston, MA 02114, US

⑧ Inventor/es:

ELIOTT, DEAN y STRYJEWSKI, TOMASZ P.

⑨ Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 835 499 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

Metotrexato para la vitreorretinopatía proliferativa

5 Reivindicación de prioridad

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente estadounidense, Nº de serie 62/030.778, presentada el 30 de julio de 2014.

10 Campo técnico

Esta invención se refiere al uso del metotrexato, por ejemplo, la dosificación repetida del metotrexato, para reducir el riesgo de vitreorretinopatía proliferativa (VRP) o de membranas epirretinales (MER) después de una vitrectomía quirúrgica y/o cerclaje escleral para tratar el desprendimiento de retina.

15 Antecedentes

El desprendimiento de retina (DR) es una causa importante de la pérdida repentina de la visión en Estados Unidos, en donde se producen aproximadamente 40.000 casos anualmente. Si el tratamiento se retrasa, se producirá una pérdida visual permanente.

20 El desprendimiento de retina se define como la separación de la retina neurosensorial del epitelio del pigmento de la retina (EPR). En estado no patológico, el epitelio del pigmento de la retina es una monocapa epitelial continua ocluida por uniones estrechas, que mantienen una separación estricta de los lechos capilares coroidales subyacentes de los fotorreceptores de la retina sensorial, formando así la barrera externa sangre-retina. Sus funciones incluyen la alimentación de los fotorreceptores, la eliminación de los productos de desecho y la reabsorción del líquido subretinal.

25 El tratamiento definitivo del desprendimiento de retina es la cirugía reparadora. El retinólogo que realiza el tratamiento dispone de múltiples técnicas quirúrgicas, pero los principios en que se basa el tratamiento del desprendimiento de retina siguen siendo los mismos: extracción de líquido del espacio subretinal, alivio de cualquier tracción existente y tratamiento y profilaxis contra la causa subyacente de la entrada de líquido, ya sea debido a una rotura de la retina o a un proceso exudativo.

30 35 La vitreorretinopatía proliferativa (VRP) es la causa más común de que la cirugía de desprendimiento de retina fracase, una complicación que se produce en el 5-10% de todas las cirugías de desprendimiento de retina. La VRP también se puede producir espontáneamente en ausencia de cirugía. La VRP es más probable que se desarrolle después de una instrumentación quirúrgica repetida del ojo, después de una agresión fisiológica significativa en el ojo como, por ejemplo, un traumatismo, así como en desprendimientos de retina complicados por múltiples lágrimas, lágrimas gigantes, hemorragia vítreo, o en ojos con uveítis.

40 45 Una forma más leve de VRP, llamada fruncido macular o membrana epirretinal (MER), complica el curso postoperatorio del 20-30% de las cirugías de DR y la mitad de éstas son tan distorsionantes visualmente que los pacientes requerirán cirugía. Además, los estudios de autopsias muestran que cerca del 75-80% de los pacientes con cirugía de DR tienen evidencia histológica de membranas proliferativas. Esto puede explicar por qué muchos pacientes no logran una visión perfecta en el postoperatorio después de la cirugía de DR, y sin embargo no tienen ninguna MER clínicamente obvia. Además, las MER también se pueden desarrollar espontáneamente. SUNALP M ET AL: "Effects of cytotoxic drugs on proliferative vitreoretinopathy in the rabbit cell injection model", CURRENT EYE RESEARCH, vol. 3, nº. 4, 31 de marzo de 1984, páginas 619-623, 50 describe los efectos de una única inyección de adriamicina, 5-fluoruracilo, triamcinolona o metotrexato en un modelo in vivo de VRP.

55 Hasta el momento no se ha encontrado ningún tratamiento preventivo contra la VRP o MER. Una vez que se desarrolla la VRP o la MER, el único tratamiento es la cirugía.

RESUMEN

60 La invención está definida por las reivindicaciones. Toda cuestión que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente a título informativo. Además, cualquier referencia en la descripción de los métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

65 En particular, la presente invención se refiere a una composición para el uso en el tratamiento o la reducción del riesgo de vitreorretinopatía proliferativa (VRP) o de membranas epirretinales (MER) en un sujeto, donde la composición comprende metotrexato y el metotrexato se administra mediante una pluralidad de inyecciones

intravítreas durante un período de al menos uno, dos, tres o más meses, con una frecuencia de administración no superior a la semanal.

5 La presente invención se basa, al menos en parte, en el desarrollo de métodos para tratar y reducir el riesgo de desarrollar VRP o MER.

10 Por lo tanto, en un primer aspecto la invención proporciona métodos para tratar o reducir el riesgo de que un sujeto desarrolle vitreoretinopatía proliferativa (VPR) o membranas epirretinales (MER). Los métodos incluyen la administración de una pluralidad, por ejemplo, diez o más inyecciones intravítreas de metotrexato durante un período de por lo menos uno, dos, tres o más meses, administradas con una frecuencia no superior a la semanal.

En algunas realizaciones, cada inyección proporciona una dosis de 400 mcg en 0,1 ml de metotrexato.

15 En algunas realizaciones, el metotrexato se administra en la parte posterior del limbo.

En algunas realizaciones, el sujeto se somete a un procedimiento quirúrgico ocular que aumenta el riesgo de que el sujeto desarrolle una MER o VRP, por ejemplo, una vitrectomía pars plana (VPP), cirugía de desprendimiento de retina (DR), cirugía de MER, cirugía del cerclaje escleral o un procedimiento en el otro ojo.

20 En algunas realizaciones, el sujeto requiere un VPP para tratar un desprendimiento de retina regmatógeno secundario a un traumatismo; la vitreoretinopatía proliferativa preexistente (por ejemplo, de grado C o superior); o para otras indicaciones asociadas con el estado de alto riesgo para el desarrollo de la VRP, por ejemplo, desgarros gigantes de la retina (los desgarros gigantes de la retina se definen como desgarros que representan 90° o más de la circunferencia del globo), roturas de retina superiores a 3 áreas de disco, desprendimientos de retina de larga duración, o desprendimientos asociados con hemorragia.

25 En algunas realizaciones, se administra una primera inyección al final del procedimiento quirúrgico; se administran ocho inyecciones semanales hasta el segundo mes postoperatorio; y se administra una décima y 30 última inyección en el tercer mes postoperatorio.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen la administración de nueve inyecciones semanales consecutivas y una décima inyección tres meses después de la primera inyección.

35 En algunas realizaciones, los métodos incluyen la administración de inyecciones adicionales mensualmente después de la última, por ejemplo, la décima inyección.

40 En algunas realizaciones, los métodos incluyen la administración de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve inyecciones adicionales, por ejemplo, mensualmente, después de la décima inyección. En otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para tratar o reducir el riesgo de VRP o MER en un sujeto. Los métodos incluyen la administración intravítreas de una formulación de liberación sostenida de metotrexato durante un período de al menos tres meses.

45 En algunos aspectos, la formulación de liberación sostenida es o comprende una formulación encapsulada en lípidos; formulaciones de liposomas multivesiculares (LMV) de metotrexato (MTX); nanopartículas o micropartículas; micelas de complejo de polión (CPI); o polímeros bioadhesivos. En algunas realizaciones, los polímeros bioadhesivos comprenden una o más de las siguientes sustancias: hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), carboxi metil celulosa (CMC), ácido poliacrílico (PAA) o ácido hialurónico (HA).

50 En un aspecto adicional, la divulgación proporciona métodos para tratar o reducir el riesgo de VRP o MER en un sujeto. Los métodos incluyen la implantación de un dispositivo para la liberación sostenida de metotrexato durante un período de al menos tres meses en el ojo del sujeto.

55 En algunas realizaciones, el dispositivo no es biodegradable.

En general, en los métodos que se describen en el presente documento, el sujeto no tiene cáncer, por ejemplo, no tiene un cáncer ocular, por ejemplo, no tiene un linfoma ocular o de células B. En algunas realizaciones, el sujeto no tiene uveítis. En algunas realizaciones, los métodos incluyen la determinación de que un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar VRP o MER, o está a punto de someterse a un procedimiento con un alto riesgo de VRP o MER como efecto secundario, y la selección del sujeto.

60 Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente el experto en la técnica al que pertenece esta invención. Los métodos y materiales se describen aquí para el uso en la presente invención; también se pueden utilizar

otros métodos y materiales adecuados conocidos en la técnica. Los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

5 Otras características y ventajas de la invención serán aparentes a partir de la siguiente descripción detallada y de las figuras, así como de las reivindicaciones.

Descripción de las figuras

10 La FIG. 1 es un diagrama de flujo que muestra un protocolo de tratamiento ejemplar utilizando los métodos actuales.

15 Las FIG. 2A-2C son cada uno de los conjuntos de nueve imágenes de células humanas de VPR, colocadas en 12 pocillos con 30.000 células por pocillo, que muestran que el metotrexato inhibió la proliferación de células de vitreorretinopatía proliferativa humana (VRP) en el cultivo. Las células fueron tratadas con 100 mM, 200 mM o 400 mM de metotrexato (MTX) como se indica, y las imágenes se tomaron después de 72 horas (2A), 1

15 semana (2B) o 2 semanas (2C). A las 72 horas (2A), la fotomicrografía mostró una morfología epitelial similar y una confluencia limitada a través de las placas de control (fila superior), así como las tres concentraciones de metotrexato (filas 2-4). Tras la primera semana 2B, las placas de control (fila 1) mostraron una lámina celular uniforme y confluente, mientras que las filas 2-4, que estuvieron expuestas al metotrexato 400, 200 y 100 respectivamente, mostraron inhibición del crecimiento y falta de confluencia, y tenían un aspecto menos

20 epitelial. A las dos semanas, las placas de control (fila 1) seguían siendo una lámina celular uniforme y confluente, mientras que las filas 2 a 4, expuestas al metotrexato 400, 200 y 100, respectivamente, seguían inhibiendo el crecimiento y tenían una falta de confluencia.

Descripción detallada

25 La vitreorretinopatía proliferativa (VRP) es una ocurrencia común después de la cirugía de desprendimiento de retina. La VRP es un estado de "cicatrización" que se forma en el interior del ojo después de una cirugía, un traumatismo significativo o incluso espontáneamente. Su patogénesis es la alteración de la capa del epitelio del pigmento de la retina, que se asocia con la inflamación, la migración y la proliferación de células a la superficie (neural) de la retina. Durante las siguientes 4-12 semanas, las membranas de la superficie de la retina proliferan, se contraen y aplican tracción en la retina, lo que da como resultado un nuevo desprendimiento de la retina del EPR. Una vez que la VRP está presente y la retina se desprende por segunda vez, es poco probable que se recupere la visión.

35 Patobiología de la vitreorretinopatía proliferativa (VRP) y de las membranas epirretinianas (MER).

40 Las membranas epirretinianas (MER) son debidas a una proliferación anormal de células, por ejemplo, células epiteliales pigmentadas de la retina (EPR), células gliales, fibroblastos y macrófagos, en la superficie de la retina, típicamente en respuesta a enfermedades oculares; las membranas tienden a contraerse y causar arrugas y, por lo tanto, a la distorsión de la mácula. Véase, por ejemplo, Hiscott et al., Br J Ophthalmol. 68(10):708-15 (1984); Hiscott et al., Eye 16, 393-403 (2002); y Asato et al., PLoS One. 8(1): e54191 (2013).

45 Al igual que la MER, la VRP es una respuesta anómala de curación de las lesiones en el vítreo y la retina, un síndrome clínico en el que las células con capacidad proliferativa, impulsadas por mediadores inflamatorios, se multiplican en la superficie de la retina, se contraen y finalmente causan un desprendimiento de retina recurrente (DR). La patogénesis de la VRP comienza con la introducción de células EPR en la cavidad vítreo. Estas células pueden introducirse en el momento del propio desgarro de la retina o pueden introducirse por vía iatrogénica, por ejemplo, mediante el uso de la crioterapia o retinectomía. Los estudios realizados en ojos de monos con VRP también han postulado que la introducción de células de Müller, así como potencialmente de fibroblastos, también ocurre. Junto con la introducción de las células EPR está la introducción o el aumento de los factores de crecimiento, incluido el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), la fibronectina, el crecimiento transformador de factor beta (FCT- β) y otros mediadores. Este proceso inicia un bucle autocrino en el que los constituyentes gliales, EPR y otros constituyentes celulares proliferan y se transdiferencian en miofibroblastos contráctiles. En patología, tanto los macrófagos como los fibroblastos se identifican comúnmente en los especímenes de VRP.

55 También se ha propuesto que, en este momento de interrupción del EPR, la inflamación tiene un importante papel en el desarrollo de la VRP. Se han identificado las citoquinas IL-6, IL-1, TNF-alfa y IFN-gamma en altas concentraciones en el vítreo en las primeras etapas proliferativas de la VRP, pero disminuyen a niveles normales en la fase de cicatrización. Estas citoquinas no están presentes en aquellos ojos que no desarrollan VRP.

60 El uso de un adyuvante farmacológico para prevenir la VRP ha sido un objetivo difícil de alcanzar en oftalmología. Una estrategia farmacológica general empleada en estudios previos de VRP ha sido la administración única intravítrea e intraoperatoria de varios agentes, como duanoribicina, 5-fluorouracilo (5-FU), triamcinolona, heparina de bajo peso molecular y naproxeno¹⁰⁻¹⁵. Aunque la eliminación de los fármacos

5 administrados por vía vítreo depende de varios factores, entre los que se incluye el peso molecular del fármaco, el estado de las barreras retina-sangre, el contenido de la cavidad vítreo, etc., es probable que estos fármacos utilizados en estos estudios previos de VRP se hayan eliminado del ojo pocos días después de que se hayan administrado. Por el contrario, la VRP no se convierte en una entidad patológica clínicamente apreciable hasta al menos 6-8 semanas después de la cirugía.

Metotrexato

10 El metotrexato es un producto químico que no se produce de forma natural también conocido como ácido N-[4-[(2,4-diamino-6-pteridinil) metil] metilamino] benzoilo]-L-glutámico. Se cree que el metotrexato, un análogo del folato, actúa como agente antiproliferativo al inhibir reversiblemente la dihidrofolato reductasa, lo que impide que el dihidrofolato se reduzca a tetrahidrofolato, que se utiliza en la síntesis de los nucleótidos de purina.

15 Los mecanismos de acción antiinflamatoria están menos claros, aunque entre los mecanismos que se han propuesto figuran su capacidad para mejorar la concentración extracelular de adenosina, la supresión de las citoquinas proinflamatorias, la inducción de la apoptosis de células T activadas y la supresión de la adhesión intracelular mediante células T activadas.

20 En algunas realizaciones, el metotrexato está formulado para ser inyectado repetidamente, por ejemplo, en una solución salina equilibrada de viales de 25 mg a una dosis estéril de 400 mcg/0,1 ml de un solo uso.

25 En algunos aspectos, el metotrexato está formulado para la liberación sostenida. Se conocen en la técnica varias formulaciones de liberación sostenida de metotrexato, entre otras, los implantes biodegradables como las formulaciones encapsuladas en lípidos, por ejemplo, Depo/Methotrexato, como se describe en Bonetti et al., Cancer Chemother Pharmacol 33:303-306 (1994) y Chatelut et al., J Pharm Sci. 1994 Mar;83(3):429-32; formulaciones de liposomas multivesiculares (LMV) del metotrexato (MTX), por ejemplo, como las que se describen en WO2011143484; nano- o micropartículas, por ejemplo, micropartículas de alfa-lactalbúmina, por ejemplo, como se describen en Vijayaragavan et al., Int J Pharm Res 3(1):39-44 (2011) o nanopartículas de metotrexato-albúmina de suero humano conjugado como se describen en Taheri et al., J Nanomaterials 2011 (dx.doi.org/10.1155/2011/768201); micelas complejas de polión (PIC); polímeros bioadhesivos como la hidroxipropilmetylcelulosa (HPMC), la carboximetilcelulosa (CMC) y los derivados del ácido poliacrílico (APA), así como el ácido hialurónico (AH), por ejemplo, Lacrisert (Aton Pharma), que es una inserción ocular de hidroxipropil celulosa soluble.

35 Alternativamente o además, se puede lograr una liberación sostenida utilizando un dispositivo de liberación sostenida como los implantes intravítreos, por ejemplo, como se describe en Palakurthi et al., Current Eye Research, 35(12):1105-1115 (2010) o similar a Retisert (Bausch & Lomb), Ozurdex (Allergan); o implantes no biodegradables, por ejemplo, similares a implantes Iluvien (Alimera) o Vitarasert (Bausch & Lomb); la plataforma I-vation (SurModics Inc.). Véase también Lee et al., Pharm Res. 27(10):2043-53 (2010); Haghjou et al., J Ophthalmic Vis Res. 6(4):317-329 (2011); Kim et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 45(8):2722-2731 (2004); y Velez and Whitcup, Br J Ophthalmol 83:1225-1229 (1999).

Sujetos

45 Los métodos descritos en el presente documento se pueden utilizar para prevenir (reducir el riesgo de) VRP o MER en los pacientes, por ejemplo, en los pacientes que requieren una vitrectomía pars plana (VPP), por ejemplo, para un desprendimiento de retina regmatógeno secundario a un traumatismo; para pacientes que requieren VPP para vitreoretinopatía proliferativa preexistente de grado C o superior; y/o para pacientes con desprendimientos de retina que requieran VPP para otras indicaciones asociadas con el estado de alto riesgo 50 para el desarrollo de la VRP, por ejemplo, desgarros gigantes de la retina (los desgarros gigantes de la retina se definen como los desgarros que representan 90° o más de la circunferencia del globo), roturas de retina superiores a 3 áreas de disco, desprendimientos de retina de larga duración, o desprendimientos asociados a una hemorragia.

55 Otros usos del metotrexato sostenido en el ojo, además de la VRP, son los siguientes:

Prevención de las membranas epirretinianas después de la cirugía de desprendimiento de retina (DR)

60 Aproximadamente el 20-30% de los casos de DR desarrollan MER clínicamente perceptibles. La mitad de ellos son tan distorsionantes visualmente que los pacientes requerirán cirugía. Además, los estudios de autopsias muestran que cerca del 75-80% de los pacientes con cirugía de DR tienen algún grado de membranas proliferativas. Esto puede explicar por qué muchos pacientes no logran una visión perfecta en el postoperatorio después de la cirugía de DR, y sin embargo no tienen ninguna MER que sea muy perceptible para el ojo humano.

65 Prevención de MER que se desarrollan espontáneamente

Las MER pueden desarrollarse espontáneamente, lo que requiere posteriormente una cirugía. Si un sujeto ha desarrollado una MER en un ojo, implantar un dispositivo para prevenir las MER en el otro ojo podría prevenir el desarrollo en ese ojo.

5 Prevención de MER secundaria después de la cirugía de MER

Para los pacientes que desarrollan MER, estas se pueden extraer pero algunas reaparecen y requieren una nueva operación. Dejar un implante podría prevenir la MER recurrente.

10 Los métodos descritos en el presente documento pueden incluir identificar y/o seleccionar un sujeto que necesite tratamiento para prevenir el desarrollo de la VRP o MER como resultado de la afección que se ha mencionado anteriormente (por ejemplo, seleccionar al sujeto en base a la necesidad de tratamiento como resultado de una afección indicada anteriormente, por ejemplo, un mayor riesgo de desarrollar VRP o MER como resultado de una afección mencionada anteriormente). En algunas realizaciones, los sujetos tratados con un método descrito en el presente documento no tienen cánceres oculares, por ejemplo, no tienen linfoma (como linfoma de células B), y/o no tienen uveítis.

15 La presentación de la VRP abarca clínicamente un amplio fenotipo. La VRP puede variar desde una leve neblina celular (Grado A) hasta membranas gruesas y fibrosas que causan el característico embudo rígido de la retina desprendida (Grado D). Se utilizan varios sistemas de clasificación, véase, por ejemplo, Ryan, Retina, 5th ed (Elsevier 2013); Retina Society Terminology Committee. The classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. Ophthalmology 1983;90:121-5 (1983); Machemer R, Aaberg TM, Freeman HM, et al. Am J Ophthalmol 112:159-65 (1991); Lean J, Irvine A, Stern W, et al. Classification of proliferative vitreoretinopathy used in the silicone study. The Silicone study group. Ophthalmology 1989;96:765 - 771. En algunas realizaciones los métodos incluyen la identificación, selección y/o tratamiento de un sujeto que tiene una VRP de bajo grado (por ejemplo, Grado A o Grado 1), o que tiene MER. En algunas realizaciones, los métodos incluyen la supervisión del sujeto para detectar signos tempranos del desarrollo de la VRP o MER, es decir, la presencia de una "neblina vítreo" que indica una proliferación celular (que puede llegar a convertirse en una lámina organizada), y la administración de una o más dosis de MTX como se describe en el presente documento. Aunque puede ser difícil distinguir entre la VPR de grado A temprana y la MER temprana, con el tiempo la VPR no tratada progresará, las MER producirán una leve tracción en la mácula que resultará en metamorfopsia pero no producirá el desprendimiento de la retina, mientras que la VPR no tratada producirá el desprendimiento y eventualmente dará como resultado una retina atrófica en forma de embudo. Los métodos 20 también se pueden utilizar para tratar a sujetos que no presentan signos de VRP pero que están en riesgo de tener VRP o MER.

25 Métodos para tratar o reducir el riesgo de VPR o MER

30 Los métodos que aquí se describen incluyen el uso del metotrexato en sujetos que tienen el riesgo de desarrollar una primera o recurrente VPR o MER, por ejemplo, un sujeto que se somete a una cirugía de DR o a una cirugía de MER, como se ha descrito anteriormente, y en sujetos que tienen VPR o MER o que tienen el riesgo de desarrollar VPR o MER. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento incluyen el uso del metotrexato en sujetos que se han sometido, se están sometiendo o se someterán a una 35 vitrectomía pars plana (VPP) o a un cercleaje escleral (CE). En algunas realizaciones, los métodos incluyen realizar una cirugía de VPP, una cirugía de DR, o una cirugía de MER. Los métodos para realizar estas cirugías son conocidos en la técnica; por ejemplo, típicamente, la cirugía de VPP se realiza bajo anestesia local o general utilizando tres puertos de esclerotomía de calibre 23 o 20. Cualquier membrana epirretinal presente se puede disecar, por ejemplo, usando una espátula para membranas y un fórceps. También se pueden realizar tinciones de tejido intraoperatorio, perfluorocarbonos, criopexia, endoláser, cercleaje escleral y lensectomía, según sea necesario. Se pueden utilizar agentes de taponamiento estándar, por ejemplo, gas o aceite de silicona.

40 Los métodos descritos en el presente documento incluyen el uso de una cantidad efectiva de metotrexato. Una "cantidad efectiva" es una cantidad suficiente para efectuar resultados beneficiosos o deseados, por ejemplo, el efecto terapéutico deseado (es decir, una cantidad profilácticamente efectiva que reduce el riesgo de desarrollar VRP o MER). Una cantidad efectiva puede administrarse en una o más administraciones, aplicaciones o dosificaciones. Una cantidad terapéutica efectiva de metotrexato puede ser, por ejemplo, 400 mg/0,1 ml por inyección, por ejemplo, con al menos diez inyecciones, administrando una dosis acumulativa de 4.000 mg sobre diez inyecciones; en algunas realizaciones, los métodos incluyen administrar más de diez inyecciones, para una dosis acumulativa superior a 4.000 mg. En algunas realizaciones, los métodos incluyen la aplicación de menos de diez inyecciones, para una dosis acumulativa inferior a 4.000 ug. Las composiciones se pueden administrar una o más veces al mes. El experto en la técnica apreciará que determinados factores 45 pueden influir en la dosificación y el tiempo necesarios para tratar eficazmente a un sujeto, incluyendo entre otros, la gravedad de la enfermedad o la afección, los tratamientos anteriores, la salud general y/o la edad del sujeto y otras enfermedades presentes.

En algunas realizaciones, las inyecciones intravítreas de metotrexato se administran asépticamente después de la aplicación tópica de la anestesia y de un agente antiséptico, por ejemplo, un 5% de iodopovidona, en el saco conjuntival.

- 5 En algunas realizaciones, cada sujeto recibe una inyección intravítreas de metotrexato, por ejemplo, 400 mcg/0,1 ml de metotrexato, 3,0 a 3,5 mm posterior al limbo, dependiendo del estado de la lente, con una aguja de calibre 30. En algunas realizaciones, los sujetos reciben múltiples inyecciones intravítreas de metotrexato durante su período postoperatorio. La primera inyección se puede administrar intraoperatoriamente; posteriormente, las inyecciones se pueden administrar en las semanas posteriores a la operación (post-op) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 8, y en el mes 3 posterior a la operación, administrándose 10 inyecciones en total. Véase, por ejemplo, la Figura 1. En algunas realizaciones, los métodos incluyen la administración del metotrexato en diez dosis, o diez o más dosis, o menos de diez dosis, durante un período de tres meses o más, y las inyecciones no se administrarían con mayor frecuencia que la semanal. En algunas realizaciones, los métodos incluyen dosis adicionales con una frecuencia semanal, quincenal o mensual a partir de entonces para uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce meses más. En algunas realizaciones los métodos incluyen diez dosis a lo largo de tres meses, como se muestra en la Figura 1, con la opción de añadir una o más dosis a intervalos mensuales a partir de entonces durante uno, tres, seis o más meses después.
- 10 En algunos aspectos, los sujetos reciben un implante de liberación sostenida, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, que liberará MTX con el tiempo, por ejemplo, a lo largo de una semana, dos semanas, un mes, dos meses, tres meses, seis meses o un año. En algunos aspectos, los métodos incluyen la administración de implantes posteriores para proporcionar la administración de MTX durante al menos seis meses, un año, dos años o más.
- 15 20 En algunos aspectos, los sujetos reciben un implante de liberación sostenida, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, que liberará MTX con el tiempo, por ejemplo, a lo largo de una semana, dos semanas, un mes, dos meses, tres meses, seis meses o un año. En algunos aspectos, los métodos incluyen la administración de implantes posteriores para proporcionar la administración de MTX durante al menos seis meses, un año, dos años o más.
- 25 30 **EJEMPLOS**

La invención se describe además en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención que se describe en las reivindicaciones.

- 35 Ejemplo 1. Metotrexato sostenido en el ojo postoperatorio relleno de silicona con alto riesgo de vitreorretinopatía proliferativa
- Nuestra hipótesis era que la administración de múltiples inyecciones intravítreas de metotrexato en los ojos con características de alto riesgo para el desarrollo de la vitreorretinopatía proliferativa (VRP) postoperatoria tendrá mejores resultados visuales, mayores índices de reimplantación anatómica final, menores índices de reoperación y una menor ocurrencia de VRP a los 4 meses posteriores a la operación.
- 40 Hemos realizado un pequeño estudio piloto en 10 pacientes con desprendimiento de retina que tenían factores clínicos de alto riesgo para desarrollar VRP.
- 45 Los pacientes de 18 a 89 años de edad de ambos sexos eran aptos para este estudio si requerían una vitrectomía pars plana (VPP) para un desprendimiento de retina regmatógeno secundario a un traumatismo, VPP para vitreorretinopatía proliferativa preexistente de grado C o superior, o si tenían desprendimientos de retina que requerían VPP para otras indicaciones asociadas con el estado de alto riesgo para el desarrollo de la VRP, por ejemplo, desgarros gigantes de la retina (los desgarros gigantes de la retina se definen como los desgarros que representan 90° o más de la circunferencia del globo), roturas de retina superiores a 3 áreas de disco, desprendimientos de retina de larga duración, desprendimientos asociados con hemorragia.
- 50 La VPP se realizó bajo anestesia local o general utilizando tres puertos de esclerotomía de calibre 23 o 20. Cualquier membrana epirretinal presente se diseccionó utilizando una espátula para membranas y/o un fórceps. Se realizaron tinciones de tejido intraoperatorio, perfluorocarbonos, criopexia, endoláser, cerclaje escleral y lensectomía, según fue necesario. Se utilizó gas o aceite de silicona como agente de taponamiento.
- 55 Se realizaron visitas rutinarias después de la operación, que implicaban un examen de fondo de ojo dilatado, el día 1, 7, mes 1, mes 2 y mes 3 postoperatorio. Los pacientes volvieron a la sala de operaciones después de tres meses para extraer el aceite de silicona y se les examinó en la clínica 4 meses después de la cirugía original.
- 60 65 Además de recibir la atención estándar antes descrita, los pacientes recibieron múltiples inyecciones intravítreas de metotrexato durante su período postoperatorio. La primera inyección se administró intraoperatoriamente y posteriormente se inyectó en la semana 1,2,3,4,5,6,7,8 posterior a la operación y en el mes 3 posterior a la operación, administrándose 10 inyecciones en total. Las inyecciones intravítreas de metotrexato se administraron asépticamente después de la aplicación tópica de la anestesia y un 5% de iodopovidona, en el saco conjuntival. Cada paciente recibió una inyección intravítreas de 400 mcg/0,1ml de metotrexato, 3,0 a 3,5 mm posterior al limbo, dependiendo del estado de la lente, con una aguja de calibre 30.

Después de la inyección, se realizó un seguimiento de los pacientes para detectar eventos adversos, incluido un examen funduscópico con dilatación total.

5 *Demografía y visión preoperatoria*

Ocho hombres y dos mujeres se inscribieron en el estudio (Tabla 1). La edad de los pacientes estaba comprendida entre los 18 y los 63 años. Dos pacientes (los números 4 y 9) se inscribieron con desprendimiento de retina traumático (desprendimiento total de retina, desgarro gigante de retina de 360 grados y retina confinada en una herida escleral después de una lesión de globo abierto). Los 8 pacientes restantes habían tenido múltiples desprendimientos de retina anteriores (un promedio de 2,5) secundarios a las membranas proliferativas. Un paciente (MTX08M) tenía una importante comorbilidad retiniana de línea de base con alta miopía patológica, estafiloma, atrofia, degeneración lattice y degeneración en empedrado en el ojo operatorio. La agudeza visual preoperatoria media era la de poder distinguir los movimientos de las manos a unos 60 cm.

10 15 *Detalles operativos*

En la Tabla 2 se muestran los detalles operativos de cada paciente. El tiempo operativo se registró como sustituto de la complejidad quirúrgica. Todos los pacientes se sometieron a una vitrectomía, a un extenso peeling de la membrana, retinectomía relajante, líquido de perfluorocarbono, endoláser y a una inyección de aceite de silicona. Los cuatro sujetos previamente intervenidos quirúrgicamente tenían cerclajes que todavía proporcionaban una indentación adecuada del globo ocular y, por lo tanto, se dejaron en su lugar.

20 25 *Resultados visuales y anatómicos*

A pesar de que el pronóstico visual y anatómico de todos los sujetos inscritos en el estudio fue extremadamente deficiente, ningún sujeto desarrolló VRP mientras recibía metotrexato durante el protocolo de tratamiento de tres meses. Es interesante destacar que uno de los pacientes con traumatismo (el número 4) experimentó VRP masiva dos semanas después de completar el protocolo de inyección (a los 3 meses y medio después de la operación), pero el examen semanal durante el estudio no mostró evidencia de proliferación de células; esto es extremadamente inusual y puede explicarse por la presencia de metotrexato durante tres meses y su posterior ausencia. Fue necesario volver a operar a este paciente. Otros dos sujetos desarrollaron una reacumulación de líquido bajo la retina que requirió una nueva operación, pero no se apreciaron membranas.

30 35 *Seguridad y eventos adversos*

Los acontecimientos adversos observados se indican en la Tabla 3. Todos los sujetos experimentaron un grado de hiperemia conjuntiva, consistente con el uso de aceite de silicona. Se observó una queratopatía punteada superficial (QPS) en un paciente asintomático en un solo examen clínico. El examen una semana después mostró una superficie de la córnea normal y no se observaron más secuelas. La duración del seguimiento de nuestros 10 pacientes estuvo comprendida entre los 4 y los 39 meses, con una media de seguimiento de 25 meses. Incluso después de meses a años de datos de seguimiento, no se observaron acontecimientos adversos significativos. La agudeza visual y la presión intraocular en la última visita de seguimiento fue similar en todos los pacientes a la agudeza visual y la presión observadas en el cuarto mes postoperatorio, al final del período de estudio, lo que sugiere una buena seguridad a largo plazo.

40 45 Además, en el mismo paciente que experimentó QPS, se documentó una elevada presión intraocular (44 mm Hg por tonometría de Goldmann) en un solo examen. Según el informe del paciente, había estado usando Flonase (fluticasona nasal) "muchas veces al día" y administrándose Pred Forte en gotas cuatro veces al día, aunque le habían indicado que se administrara Pred Forte tres veces al día. Su presión se normalizó en la sala de exploración con terapia tópica. La inyección intravítreo se administró según lo previsto, y fue dado de alta de la clínica con presión normal. Se le dio una receta de Alphagan y Xalatan con el plan de realizar el seguimiento con el servicio de Glaucoma. No se observaron más presiones elevadas durante el transcurso del estudio o en el seguimiento, lo que sugiere que su presión elevada transitoria se debió muy probablemente al uso excesivo de esteroides, como se sospechaba. El paciente MTX08M terminó el estudio una visión de no percepción de la luz (NLP). Tenía antecedentes en el ojo operativo de miopía patológica, estafiloma, atrofia, degeneración lattice y degeneración en empedrado. Un mes después de su cirugía (su tercera cirugía intravítreo en ese ojo y la fecha de la cirugía de estudio), se observó palidez en el disco. Las imágenes tomográficas de coherencia óptica de esa retina antes y después habían observado láminas desorganizadas, secundarias a su enfermedad retiniana subyacente. Se observó que su visión en ese momento era de percepción de la luz (LP). Continuó recibiendo la inyección con una mejora limitada de su visión y observó que era de NLP en la última visita.

50 55 60 65 Además de los excelentes resultados anatómicos observados, con prácticamente ningún desarrollo de VRP durante el protocolo de estudio, el protocolo se asoció con excelentes resultados visuales. La agudeza visual postoperatoria media fue de 20/200. Esto es notable porque, aunque otro grupo ha utilizado el metotrexato en

los ojos con una amplia variedad de afecciones, incluida la VRP, nadie ha demostrado anteriormente una mejora en los resultados. Hardwig et al. inyectaron metotrexato por vía intravítreo en dosis variables en 5 pacientes, sin embargo, solo la visión de un paciente mejoró y no hubo cambios en la agudeza visual del grupo (Hardwig et al., Retina 28:1082-1086 (2008)). Además, en este estudio no se intentó validar la eficacia.

5 También, en 2006 Hardwig et al. inyectaron una dosis de metotrexato en la cámara anterior de un paciente con VRP, pero no en el espacio intravítreo como se describe en el presente documento (Hardwig et al., Am J Ophthalmol 2006;142:883-885 (2006)).

10 Los resultados actuales son muy alentadores y es poco probable que se atribuyan a la casualidad. Los pacientes que recibieron 10 inyecciones intravítreas de metotrexato evolucionaron extraordinariamente bien dada la gravedad de su estado, ya que seleccionamos intencionadamente a los pacientes que tenían el mayor riesgo de sufrir VRP.

15 **Ejemplo 2. El metotrexato sostenido inhibe el crecimiento de la vitreorretinopatía proliferativa in vitro.**

Nuestra hipótesis era que el metotrexato inhibiría las células de vitreorretinopatía proliferativa humana (VRP) en el cultivo. La membranectomía de VRP se realizó en pacientes sometidos a cirugía de reparación de desprendimiento de retina secundaria a VRP. Utilizando técnicas de separación celular, los constituyentes celulares de las membranas de VRP se separaron de las membranas de la matriz extracelular. Se colocaron 30.000 células por pocillo en una placa estándar de 12 pocillos. Los 12 pocillos recibieron un medio de crecimiento de células endoteliales con factores de crecimiento suplementarios. Se designaron cuatro brazos que se componían de tres pocillos cada uno. El primer brazo sirvió como un control que recibió el medio de crecimiento estándar pero ninguna otra intervención. Los pocillos restantes se designaron como brazos de tratamiento. El segundo brazo de tres pocillos sirvió como el primer brazo de tratamiento y expuso las células a 400 microgramos de metotrexato. El tercer y cuarto brazo de tres pocillos expusieron cada uno las células cultivadas a 200 y 100 microgramos, respectivamente, de metotrexato.

30 A las 72 horas se observó un crecimiento similar de células de VRP con una morfología epitelial típica y confluencia limitada (Figura 2a). Una semana después de la siembra (Figura 2b) las células de control de la VRP presentaron una lámina celular confluente, mientras que las células expuestas al metotrexato en todas las concentraciones presentaron inhibición del crecimiento, falta de confluencia y tenían un aspecto menos epitelial. A las dos semanas (Figura 2C), la inhibición de la confluencia celular continuó mientras que las placas de control siguieron proliferando.

Tabla 1 Datos demográficos de los pacientes

Identificador del estudio	Edad	Hombre	Raza	Criterios de entrada	Possibilidades de embarazado	Comorbilidades oculares	Número anterior de cirugías que intentaron reparar el IDR
MTX01F	47	No	Blanca	VRP grado C	No	ninguna	3
MTX02M	60	Sí	Blanca	VRP grado C	No	ninguna	3
MTX03M	56	Sí	Blanca	VRP grado C	No	degeneración lattice, catarata leve	3
MTX04M	25	Sí	Blanca	asociado con lesión del globo abierto	No	gración del párpado marginal con implicación canicular	0
MTX05M	29	Sí	Blanca	VRP grado C	No	Lente subluxado OS (ojo izquierdo), extracción de la lente a los 4 años, glaucoma diagnosticado a los 11 años, extracción de la cápsula posterior a los 17 años Lente subluxada OD (ojo derecho), extracción de la lente a los 17 años	2
MTX06M	54	Sí	Blanca	VRP grado C	No	ninguna	3
MTX07M	57	Sí	Blanca	VRP grado C	No	ninguna	2
MTX08M	63	Sí	Blanca	VRP grado C	No	Miopía patológica alta; estafiloma OU (en los dos ojos); atrofia OU (en los dos ojos); degeneración lattice y degeneración en empedrado OS (ojo izquierdo)	2
MTX09M	53	Sí	Blanca	sociado con la lesión del globo abierto	No	ninguna	0
MTX10F	18	NO	Blanca	VRP grado C	Sí, 2 métodos anticonceptivos + prueba de embarazo antes de cada inyección	con antecedentes de 5 cirugías previas de estrabismo	2

Pacientes inscritos en el año 2

Pacientes inscritos en el año 1

Tabla 2 Resultados clínicos

Identificador del estudio	Agudeza visual, inicial	Agudeza visual, mes 4 post-operación	Presión intraocular inicial	Presión intraocular final	Inyecciones	Desprendimientos	Última fecha de seguimiento	Total de meses de seguimiento	Agudeza visual en el último seguimiento	Presión intraocular en el último seguimiento
MTX01F	HM	20/200	22	13	10	0	7/9/15	39	20/150	12
MTX02M	640	20/320	12	12	10	0	5/20/15	38	20/500	15
MTX03M	HM	20/200	9	12	10	0	7/14/15	39	20/300	16
MTX04M	LP	20/160	10	9	10	0*	7/1/15	37	HM	9
MTX05M	600	20/200	11	10	10	0	12/3/12	4	20/200	9
MTX06M	LP	20/252	suave	8	10	0	1/7/15	27	CF	9
MTX07M	HM	20/200	12	12	10	0	8/4/15	24	CF	22
MTX08M	CF	NLP	14	15	10	0	9/17/14	15	NLP	14
MTX09M	LP	20/65	suave	9	10	0	4/29/15	22	20/70	16
MTX10F	HM	CF	15	13	9	0	3/24/15	16	CF	14

* Las membranas de VRP masivas se desarrollaron dos semanas después de la última inyección de metotrexato, a pesar de que no hubo VRP en los tres meses anteriores

Inyecciones: Número total de inyecciones de metotrexato 400 mcg/0,1 ml

Desprendimientos: Número de desprendimientos debidos a VRP durante el período de estudio

Tabla 3 Eventos adversos observados en los sujetos

Identificador del estudio	Hiperemia conjuntival	Queropatía punteada superficial	Presión intraocular elevada	NLP	Se requieren nuevas operaciones	Fecha de reoperación	Indicación para reoperación
MTX01F	7	1	1	0	0	-	-
MTX02M	7	0	0	0	0	-	-
MTX03M	5	0	0	0	0	-	-
MTX04M	4	0	0	0	1	Posterior a la operación mes 4	Fuera del período de inyección (mes 3,5 posterior a la operación), se observó una VROP significativa. El paciente fue llevado a la sala de operaciones para realizar un peeling de membranas y retirar la tracción de la retina.
MTX05M	7	0	0	0	1	Posterior a la operación mes 2,5	Líquido subretinal persistente, sin membranas
MTX06M	5	0	0	0	0	-	-
MTX07M	4	0	0	0	0	-	-
MTX08M	6	0	0	1	0	-	-
MTX09M	6	0	0	0	0	-	-
MTX10F	5	0	0	0	0	-	-

Pacientes inscritos en el año 2

Pacientes inscritos en el año 1

REFERENCIAS

1. Frenkel S, Hendler K, Siegal T, et al. Intravitreal methotrexate for treating vitreoretinal lymphoma: 10 years of experience. *British Journal of Ophthalmology* 2008;92:383-388.
- 5 2. Fishburne BC, Wilson DJ, Rosenbaum JT, Neuwelt EA. Intravitreal methotrexate as an adjunctive treatment of intraocular lymphoma. *Arch Ophthalmol* 1997;115:1152-1156.
3. de Smet MD, Vancs VS, Kohler D, et al. Intravitreal chemotherapy for the treatment of recurrent intraocular lymphoma. *British Journal of Ophthalmology* 1999;83:448-451.
4. Mietz H, Heimann K. Onset and recurrence of proliferative vitreoretinopathy in various vitreoretinal disease. *British Journal of Ophthalmology* 1995;79:874-877.
- 10 5. Pastor JC, la Rúa de ER, Martin F. Proliferative vitreoretinopathy: risk factors and pathobiology. *Progress in Retinal and Eye Research* 2002;21:127-144.
6. Hardwig PW, Pulido JS, Erie JC, et al. Intraocular Methotrexate in Ocular Diseases Other Than Primary Central Nervous System Lymphoma. *Am J Ophthalmol* 2006;142:883-885.
- 15 7. Hardwig PW, Pulido JS, Bakri SJ. The safety of intraocular methotrexate in silicone-filled eyes. *Retina* 2008;28:1082-1086.
8. Velez G, Yuan P, Sung C, et al. Pharmacokinetics and toxicity of intravitreal chemotherapy for primary intraocular lymphoma. *Arch Ophthalmol* 2001;119:1518-1524.
9. Creten O, Spileers W, Stalmans P. Systemic resorption of 5-fluorouracil used in infusion fluid during 20 vitrectomy. *Bull Soc Belge Ophthalmol* 2007;37-41.
10. Cheema RA, Peyman GA, Fang T, et al. Triamcinolone acetonide as an adjuvant in the surgical treatment of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2007;38:365-370.
11. Ahmadieh H, Feghhi M, Tabatabaei H, et al. Triamcinolone Acetonide in Silicone-Filled Eyes as Adjunctive Treatment for Proliferative Vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 2008;115:1938-1943.
- 25 12. Yang CS, Khawly JA, Hainsworth DP, et al. An intravitreal sustained-release triamcinolone and 5-fluorouracil codrug in the treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy. *Arch Ophthalmol* 1998;116:69-77.
13. Chen EP, Steinhorst UH, Samsa GP, et al. The effect of combined daunorubicin and triamcinolone acetonide treatment on a refined experimental model of proliferative vitreoretinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 1992;33:2160-2164.
- 30 14. Munir WM, Pulido JS, Sharma MC, Buerk BM. Intravitreal triamcinolone for treatment of complicated proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Can J Ophthalmol* 2005;40:598-604.
15. Chandler DB, Rozakis G, de Juan E, Machemer R. The effect of triamcinolone acetonide on a refined experimental model of proliferative vitreoretinopathy. *AJOPHT* 1985;99:686-690.
- 35 16. Montesinos MC, Yap JS, Desai A, et al. Reversal of the antiinflammatory effects of methotrexate by the nonselective adenosine receptor antagonists theophylline and caffeine: evidence that the antiinflammatory effects of methotrexate are mediated via multiple adenosine receptors in rat adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:656-663.
17. Gerards AH, de Lathouder S, de Groot ER, et al. Inhibition of cytokine production by methotrexate. Studies in healthy volunteers and patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:1189-1196.
- 40 18. Genestier L, Paillot R, Fournel S, et al. Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells. *J Clin Invest* 1998;102:322-328.
19. Seitz M, Zwicker M, Wider B. Enhanced in vitro induced production of interleukin 10 by peripheral blood mononuclear cells in rheumatoid arthritis is associated with clinical response to methotrexate treatment. *J Rheumatol* 2001;28:496-501.
- 45 20. Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, et al. The anti-inflammatory action of methotrexate is not mediated by lymphocyte apoptosis, but by the suppression of activation and adhesion molecules. *Clin Immunol* 2005;114:154-163.

Otras realizaciones

50 Debe entenderse que si bien la invención ha sido descrita conjuntamente con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior tiene como objetivo ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Una composición para el uso en el tratamiento o reducción del riesgo de vitreorretinopatía proliferativa (VRP) o de membranas epirretinales (MER) en un sujeto, en la que la composición comprende metotrexato y el metotrexato se administra mediante una pluralidad de inyecciones intravítreas durante un período de al menos uno, dos, tres o más meses, administradas con una frecuencia no superior a la semanal.

5 2. La composición para el uso de la reivindicación 1, que comprende la administración de diez o más inyecciones intravítreas de metotrexato.

10 3. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que cada inyección proporciona una dosis de 400 mcg en 0,1 ml de metotrexato.

15 4. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el metotrexato se administra posteriormente al limbo.

20 5. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el sujeto se somete a un procedimiento quirúrgico ocular que aumenta el riesgo de que desarrolle una MER o VRP, opcionalmente en la que el procedimiento quirúrgico ocular es una vitrectomía pars plana (VPP), una cirugía de desprendimiento de retina (DR), una cirugía de MER, una cirugía del cerclaje escleral o un procedimiento en el otro ojo.

25 6. La composición para el uso de la reivindicación 5, en la que el sujeto requiere un VPP para tratar un desprendimiento de retina regmatógeno secundario a traumatismo; vitreorretinopatía proliferativa preexistente; o para otras indicaciones asociadas con una condición de alto riesgo para el desarrollo de VRP y opcionalmente seleccionado del grupo que consiste en un desgarro gigante de la retina, una rotura de retina superior a 3 áreas de disco, desprendimiento de retina de larga duración, o desprendimiento asociado con hemorragia.

30 7. La composición para el uso de la reivindicación 5, en la que:
se administra una primera inyección al final del procedimiento quirúrgico;
se administran ocho inyecciones semanales hasta el segundo mes postoperatorio; y
se administra una décima inyección en el tercer mes postoperatorio.

35 8. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende la administración de nueve inyecciones semanales consecutivas, y una décima inyección tres meses después de la primera inyección, y opcionalmente la administración de inyecciones adicionales después de la décima inyección.

9. La composición para el uso de la reivindicación 8, que comprende la administración de una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve inyecciones adicionales después de la décima inyección.

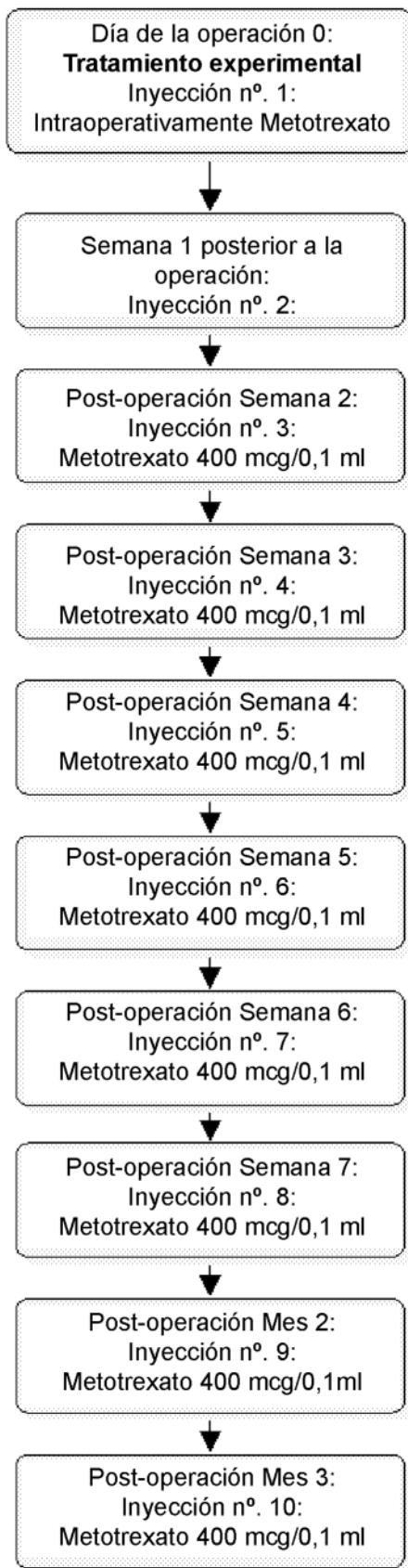


FIG. 1

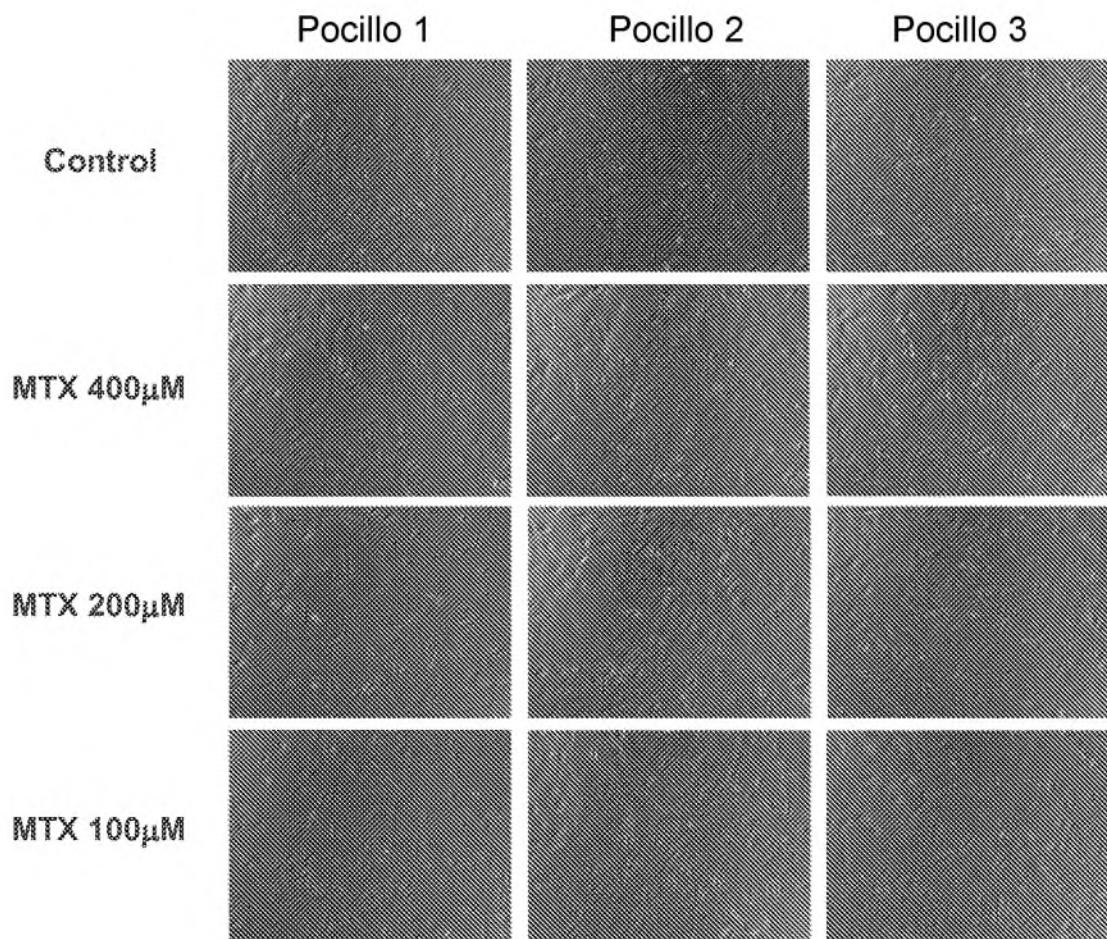


FIG. 2A

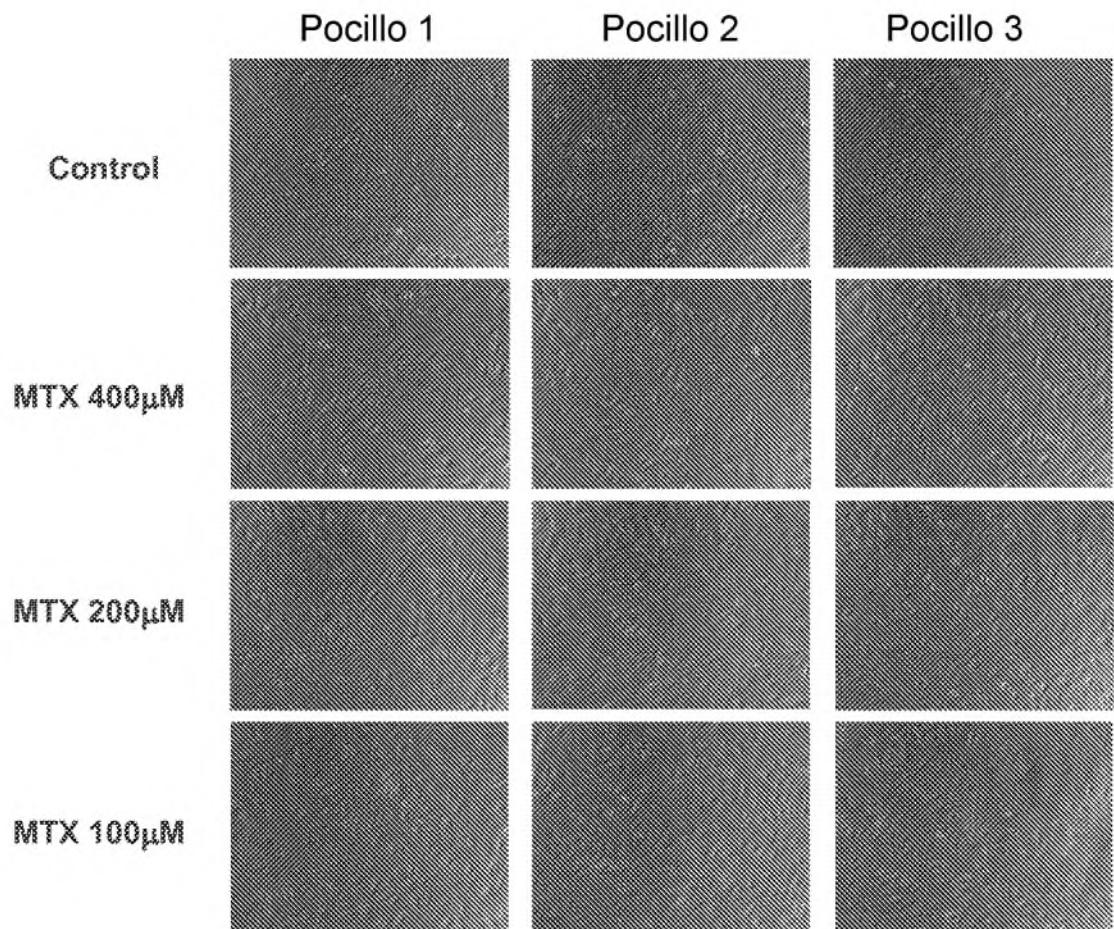


FIG. 2B

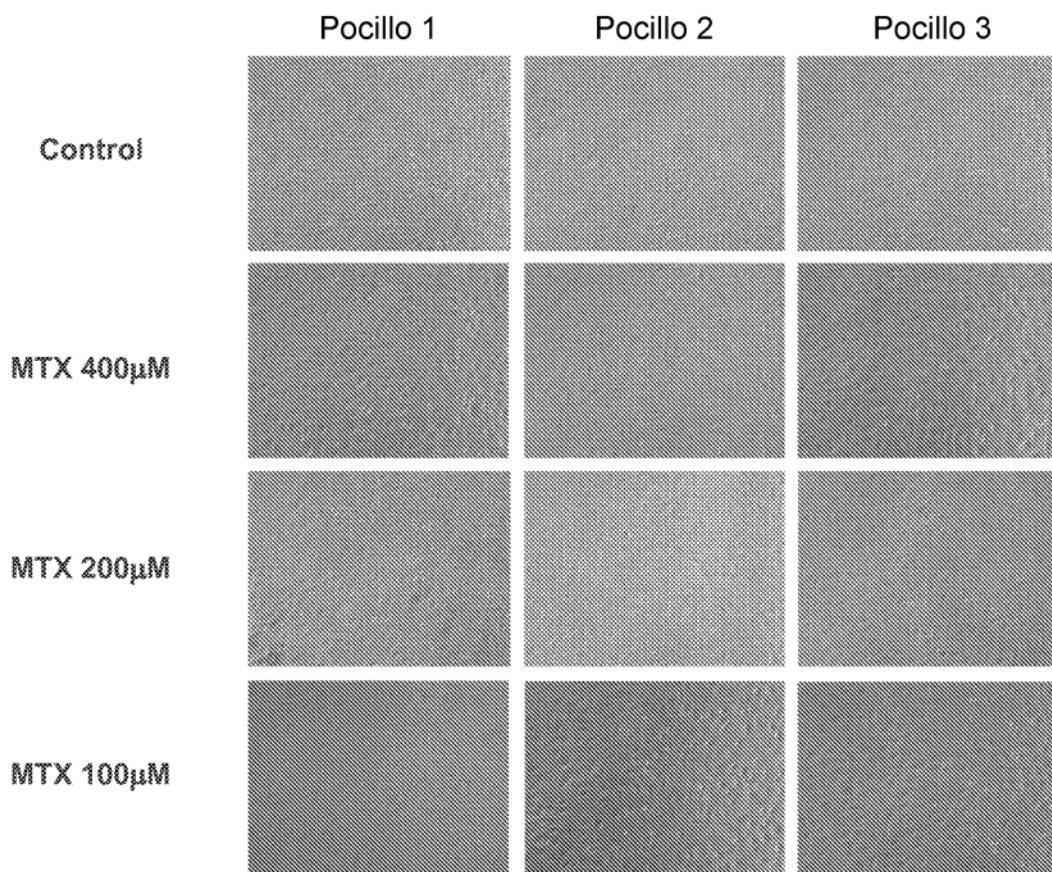


FIG. 2C