



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 367 252**

51 Int. Cl.:
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/566 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01962620 .9**
96 Fecha de presentación : **09.08.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1307740**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.05.2003**

54 Título: **Procedimientos simples para la farmacovigilancia de antagonistas de receptores GPIIb/IIIa.**

30 Prioridad: **09.08.2000 DE 100 38 900**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
31.10.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
31.10.2011

73 Titular/es: **JENAFFIN GmbH**
Winzerlaer Strasse 2
07745 Jena, DE

72 Inventor/es: **Nowak, Götz y**
Bucha, Elke

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 367 252 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

Procedimientos simples para la farmacovigilancia de antagonistas de receptores GPIIb/IIIa

La trombogenicidad de las enfermedades oclusivas arteriales y su predisposición se determinan mediante reacciones patológicas de las plaquetas. La reacción inicial condicionada por plaquetas para macro y microtrombosis arterial manifiesta es el centro de una serie de desarrollos de fármacos. En los últimos años ha resultado especialmente prometedor el principio terapéutico del bloqueo de receptores GPIIb/IIIa de las plaquetas. Pudo demostrarse en distintos estudios (Capture, Epilog, Epic, Epistent entre otros) sin lugar a duda, que mediante sustancias que bloquean los receptores de fibrinógeno de las plaquetas (GPIIb/IIIa), puede impedirse o antagonizarse una reacción trombótica. Las mayores experiencias se han obtenido hasta ahora con un fragmento de anticuerpo monoclonal, el denominado Abciximab (Reopro), sin embargo también otras sustancias de otras fuentes, como desintegrinas naturales o antagonistas de péptidos o peptidomiméticos, se encuentran en este momento en estudio clínico.

El problema esencial en la práctica con estas sustancias consiste en que comienzan a presentar efectividad clínica cuando se bloquea el 60-80 % de los receptores GPIIb/IIIa de todas las plaquetas que se encuentran en la circulación. El espectro terapéutico sumamente bajo de estas sustancias se basa en que ya con el 90-95 % de bloqueo de los receptores, existe una tendencia hemorrágica excesiva. Este efecto secundario grave limita también una amplia aplicación de estos nuevos grupos de sustancias.

No han faltado intentos en el pasado para conseguir el control del nivel sanguíneo con ayuda de distintos procedimientos de registro de la función plaquetaria. Sin embargo no existe una correlación entre el nivel sanguíneo de los antagonistas de GPIIb/IIIa y el efecto, dado que no hay ninguna relación directa entre la cantidad del nivel de las sustancias en sangre y la intensidad de la inhibición de la agregación. Esta falta de correlación se debe sobre todo al número variable de plaquetas que circulan, pero también al número de moléculas de integrina expuestas en la superficie de las plaquetas. Para detectar este efecto se usan con mayor frecuencia procedimientos de medición de agregación plaquetaria. Las reacciones de agonistas de agregación realizadas en plasma que contiene plaquetas o rico en plaquetas sobre colágeno o ADP son costosas y requieren tiempo y reproducen sólo indirectamente las proporciones reales en la sangre del paciente, dado que no permiten reacciones idénticas a las naturales debido a la separación y el enriquecimiento ineludibles del plasma del paciente con plaquetas.

Un procedimiento de sangre completa apto para POCT de la agregación plaquetaria, el procedimiento de Ultegra-Accumetrics, es demasiado disperso y costoso en el área terapéutica-tóxica de los antagonistas de receptores GPIIb/IIIa. También se usa un agente potente desencadenante de la agregación como principio de medición. Además, las investigaciones sobre pruebas globales de coagulación, como tromboelastografías y tiempo de protrombina, varían mucho de modo que una asignación de la cantidad inhibidora porcentual de la función plaquetaria es casi inútil para estas pruebas.

Por consiguiente, el objetivo de la invención es superar los inconvenientes mencionados anteriormente del estado de la técnica. Se consiguió este objetivo mediante el hallazgo sorprendente de que superficies poliméricas especiales representan para las plaquetas una superficie de adhesión óptima.

Las pruebas hasta ahora conocidas de adhesión plaquetaria o distribución plaquetaria son procedimientos cualitativos con ayuda de microscopio, que tienen lugar en portaobjetos. El procedimiento planteado en el presente documento usa polímeros similares a vidrio, que se conformaron en micropartículas especiales con superficies "rugosas". Estas superficies de micropartículas son los componentes de adhesión directos para plaquetas activadas. Mediante la adición de una cantidad definida de partículas poliméricas monodispersas a sangre completa con anticoagulante y breve incubación con agitación a temperatura ambiente puede determinarse un índice de adhesión por medio de la medición de la diferencia del número de plaquetas en la suspensión antes y después de la agitación con partículas poliméricas. El procedimiento planteado en el presente documento está diseñado de modo que en caso de voluntarios y pacientes sin molestias de coagulación este índice de adhesión ascienda a 50 (50 ± 8). En caso de existencia de una inhibición de la adhesión tras el tratamiento con antagonistas de receptores GPIIb/IIIa se llega a una reducción de la adhesión que depende estrictamente de la dosis, en este caso sería el índice de adhesión <40 . Por otro lado puede usarse también esta prueba para registrar una adhesión plaquetaria elevada en pacientes.

Por consiguiente, la invención se refiere al uso de cantidades definidas de partículas monodispersas, obtenidas a partir de poli(metacrilato de fenilo) poroso. Las partículas usadas pueden estar compuestas de partículas poliméricas monodispersas con un diámetro entre $1 \mu\text{m}$ y $20 \mu\text{m}$, mejor entre $1 \mu\text{m}$ y $10 \mu\text{m}$, de la manera más adecuada son partículas porosas monodispersas con un tamaño de 5-6 μm . Los materiales auxiliares usados para el procedimiento de adhesión cuantitativo son únicamente un aparato agitador pequeño (M51 de IKA) y un aparato de recuento de células sanguíneas, como por ejemplo el aparato Celldyn 1600 de Abbott o analizadores de células sanguíneas similares, como se emplean en cualquier laboratorio clínico-químico. En el intervalo de 15 min. puede obtenerse el valor correspondiente. El procedimiento puede realizarse directamente en la cama del enfermo o en el lugar de medición de la función cardiovascular. El procedimiento tiene calidad POCT, no depende del número de plaquetas que circulan (80-40000 plaquetas/ μl), tampoco se ve influido por niveles variables de fibrinógeno (1-5 g/l).

Formulación: 0,2 ml de sangre con anticoagulante, por ejemplo sangre con citrato (1/10 v/v) + 0,002 ml de suspensión de partículas al 5 %

- Agitar 10 min. a 600/min.
- a) Determinar el número de plaquetas antes del inicio de la agitación
- 5 - b) Determinar el número de plaquetas después de la agitación

$$\text{IA (índice de adhesión)} = \frac{(\text{Número de plaquetas antes de la agitación}) - (\text{Número de plaquetas después de la agitación})}{(\text{Número de plaquetas antes de la agitación})} \times 100$$

REIVINDICACIONES

1. Uso de partículas poliméricas monodispersas de poli(metacrilato de fenilo) poroso para medir la adhesión de plaquetas *in vitro*, en el que las superficies de las partículas poliméricas actúan como componentes de adhesión directos para plaquetas activadas.
- 5 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las partículas poliméricas presentan un diámetro de 1 μm a 20 μm .
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que el diámetro asciende a 1 μm a 10 μm .
4. Uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el diámetro asciende a 5 μm a 6 μm .
- 10 5. Procedimiento para la determinación *in vitro* de la adhesión de plaquetas, en el que se agita sangre preparada de manera correspondiente con las partículas poliméricas, tal como se definen en una de las reivindicaciones 1 a 4, y se determinan las plaquetas antes y después de la agitación con un aparato de recuento de células sanguíneas convencional.
6. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que éste sirve para el diagnóstico rápido y exacto de adhesividad de plaquetas elevada o reducida.
- 15 7. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que éste es adecuado para el control rápido y exacto de sustancias que inhiben la función plaquetaria en pacientes, tales como antagonistas de receptores GPIIb/IIIa.