

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 018 357**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.01.2018** **PCT/JP2018/002373**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.08.2018** **WO18139562**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.01.2018** **E 18745136 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2025** **EP 3556378**

54 Título: **Agente terapéutico para miocardiopatía, el infarto de miocardio previo e insuficiencia cardíaca crónica**

30 Prioridad:

27.01.2017 JP 2017013293
04.08.2017 JP 2017151788

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.05.2025

73 Titular/es:

STEMRIM INC. (50.00%)
3FL, Saito Biotechnology Incubator 7-15, Saito-
Asagi 7-chome Ibaraki-shi
Osaka, 567-0085, JP y
OSAKA UNIVERSITY (50.00%)

72 Inventor/es:

TAMAI, KATSUTO;
SAWA, YOSHIKI;
MIYAGAWA, SHIGERU;
KIDO, TAKASHI;
GOTO, TAKASUMI y
YAMAZAKI, TAKEHIKO

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 018 357 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

Agente terapéutico para miocardiopatía, el infarto de miocardio previo e insuficiencia cardíaca crónica

5 Campo técnico

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, en donde la composición farmacéutica comprende la sustancia descrita en cualquiera de (a) o (b) a continuación: (a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º 1; (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.

La presente proporciona además una sustancia para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, en donde la sustancia se selecciona de entre (a) o (b) a continuación: (a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º 1; (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.

25 **Antecedentes de la técnica**

La miocardiopatía se define como una “enfermedad del miocardio asociada a una disfunción cardíaca” frecuentemente acompañada de anomalías estructurales del corazón, tales como cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica; y presenta síntomas de insuficiencia cardíaca crónica a medida que progresa. La miocardiopatía secundaria se puede paliar mediante el tratamiento de la enfermedad primaria, pero todavía no existe un tratamiento definitivo para la miocardiopatía idiopática.

El infarto de miocardio, que causa necrosis miocárdica debido a la oclusión de las arterias coronarias, es un trastorno subyacente importante de la cardiopatía que es la principal causa de muerte en países desarrollados (primero en Estados Unidos y segundo en Japón). Si bien el desenlace del tratamiento para la fase aguda ha mejorado con el avance de las tecnologías de diagnóstico, el tratamiento con catéter y la revascularización coronaria, el progreso de la cardiomegalia y la hipertrofia cardíaca y la insuficiencia cardíaca crónica ocurre frecuentemente en casos de infarto extenso, fracaso de reperfusión grave y casos en los que se ha perdido la oportunidad de tratamiento.

Cuando la insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía o infarto de miocardio previo se agrava, los fármacos existentes para la insuficiencia cardíaca crónica (inhibidores de la ECA, betabloqueantes, etc.) no pueden lograr efectos de mejora suficientes en algunos casos, y puede ser necesario un trasplante cardíaco. Sin embargo, el período de espera para el trasplante en Japón puede llegar incluso a aproximadamente 3 años (documento no relacionado con patentes 1), y ocurren frecuentemente complicaciones tales como infarto cerebral e infección del dispositivo durante el período de espera. Además, aun si se recibe un trasplante cardíaco, existen problemas tales como el mayor riesgo de enfermedades infecciosas debido a los efectos secundarios de los inmunosupresores, que deben administrarse de forma continua posteriormente, y posibles complicaciones, tales como lesiones de las arterias coronarias; y la tasa de supervivencia a 10 años después del trasplante cardíaco es de aproximadamente un 50 % (documento no relacionado con patentes 2). En tales circunstancias, es deseable el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para la miocardiopatía y el infarto de miocardio previo, así como para la insuficiencia cardíaca crónica causada de este modo.

Recientemente, la medicina regenerativa mediante células madre mesenquimatosas ha llamado la atención y, con respecto a la insuficiencia cardíaca crónica después de un infarto de miocardio, se ha informado de que se podría obtener un efecto de mejora de la función cardíaca trasplantando directamente una lámina celular hecha de células madre mesenquimatosas derivadas de la membrana del óvulo, médula ósea o tejido adiposo al corazón en un modelo animal de infarto de miocardio crónico (documento no relacionado con patentes 3 y documento no relacionado con patentes 1). Sin embargo, el trasplante de la lámina celular es muy oneroso para el paciente, ya que requiere una operación de toracotomía, y no se puede aplicar a pacientes cuya operación es difícil debido a factores tales como la edad avanzada.

También, se ha confirmado el mecanismo por el cual un tejido lesionado libera factores de reclutamiento de células madre pluripotentes de la médula ósea en la sangre para inducir la regeneración del tejido lesionado. En estudios anteriores, los presentes inventores descubrieron que los péptidos de fragmentos de las proteínas de alta movilidad del grupo 1 (HMGB1) movilizan las células madre mesenquimatosas de la médula ósea desde la médula ósea a la

sangre periférica, y que la administración de los péptidos de fragmentos en la fase aguda del infarto de miocardio conduce a la acumulación de células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea en y cerca del sitio del infarto, lo que resulta en una función cardíaca mejorada (documentos de patente 2 y 3).

Sin embargo, en la fase aguda del infarto de miocardio, una gran cantidad de cardiomiocitos se necrosa rápidamente por isquemia y se genera una intensa reacción inflamatoria, mientras que la miocardiopatía generalmente no causa tales fenómenos y está caracterizada por que las anomalías estructurales tales como la cardiomegalia, la hipertrofia de cardiomiocitos y la fibrosis miocárdica progresan lentamente. Las patologías de estos dos son muy diferentes. La necrosis y la inflamación de los cardiomiocitos también se establecen en el infarto de miocardio previo, y la progresión de la cardiomegalia y la hipertrofia cardíaca es característica de la enfermedad. Por lo tanto, no estaba claro si los péptidos de fragmentos de la proteína HMGB1 ejercen efectos terapéuticos sobre la miocardiopatía y el infarto de miocardio previo.

Lista de citas

[Documentos no relacionado con patentes]

Documento no relacionado con patentes 1: Fukushima y col., "Registry Report on Heart Transplantation in Japan" (junio de 2016), Circulation Journal (publicación anticipada, 6 de enero de 2017, ID de artículo: CJ-16-0976)

Documento no relacionado con patentes 2: Lund y col., "The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Heart Transplantation Report-2016; Tema de enfoque: Primary Diagnostic Indications for Transplant", J Heart Lung Transplant. Octubre de 2016;35(10):1158-1169

Documento no relacionado con patentes 3: Ishikane Shin, "Development of multi-growth factor secreted fetal membrane-derived mesenchymal stem cell sheets", 11 de junio de 2014, Grants-in-Aid for Scientific Research, Research report

[Documentos de patente]

Documento de patente 1: WO2006/080434

Documento de patente 2: WO2012/147470

Documento de patente 3: WO2014/065347

NARUMI, T. y col., "High-Mobility Group Box 1 Attenuates Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis via Heat Shock Protein Beta 1 Induction in Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy", 2015, vol. 33, n.º 2, págs. 126-127 (Bulletin of Yamagata University (Medical Science)) sugieren que la HMGB1 de longitud completa puede ser una nueva diana para el tratamiento de la miocardiopatía inducida por doxorubicina. La referencia no menciona nada al menos acerca de los fragmentos de HMGB1, y mucho menos acerca de cualquier aplicación terapéutica de los mismos.

Takahashi y col. (Circulation. 2008;118; S106-S114) plantean la hipótesis de que una inyección de HMGB1 de longitud completa podría modular preferencialmente la inflamación miocárdica local, atenuar la remodelación ventricular y, posteriormente, mejorar el rendimiento cardíaco de la insuficiencia cardíaca crónica postinfarto. El estudio concluyó que la inyección de HMGB1 modulaba la inflamación local en el miocardio con insuficiencia crónica postinfarto, particularmente al reducir la acumulación de células dendríticas. Esta inflamación modulada resultó en fibrosis e hipertrofia de cardiomiocitos atenuadas, lo que mejoró de este modo la función cardíaca global. Takahashi y col. sugieren que la HMGB1 puede ser valiosa para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica. La referencia no menciona nada al menos acerca de los fragmentos de HMGB1, y mucho menos acerca de cualquier aplicación terapéutica de los mismos.

Takahashi y col. (2011) vol. 27, suplemento, p. S189, I-E-19 Acta Cardiologica Paediatrica Japonica estudia el efecto de la HMGB1 de longitud completa sobre la insuficiencia cardíaca crónica (3 semanas postinfarto) y sugiere que la HMGB1 puede mejorar la función cardíaca. La referencia no menciona nada al menos acerca de los fragmentos de HMGB1, y mucho menos acerca de cualquier aplicación terapéutica de los mismos.

Resumen de la invención

Como resultado del estudio de los efectos de los péptidos de fragmentos de HMGB1 en la miocardiopatía, los presentes inventores descubrieron que los péptidos de fragmentos de HMGB1 que tienen secuencias de aminoácidos particulares exhiben efectos de mejora de las funciones cardíacas, inhiben las anomalías estructurales del corazón (hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica) y promueven la angiogénesis en un modelo animal de miocardiopatía dilatada. Los presentes inventores también descubrieron que en un modelo animal de miocardiopatía isquémica resultante de un infarto de miocardio previo, los péptidos de fragmentos de HMGB1 específicos exhiben efectos de mejora de la función cardíaca, inhiben las anomalías estructurales del corazón (cardiomegalia, hipertrofia

de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica) y promueven la angiogénesis. Además, los presentes inventores descubrieron que los péptidos de fragmentos de HMGB1 específicos exhiben un efecto inhibitor en las anomalías estructurales del corazón (hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica) en un modelo animal de miocardiopatía hipertensiva.

5 La presente invención se expone en el conjunto de reivindicaciones adjunto.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, en donde la composición farmacéutica comprende la sustancia descrita en cualquiera de (a) o (b) a continuación:

(a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º: 1;

15 (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.

20 En una realización, dicha composición farmacéutica para su uso según la invención es para su uso en el tratamiento de la miocardiopatía. En una realización, la miocardiopatía es miocardiopatía idiopática. En una realización adicional, la miocardiopatía idiopática se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía restrictiva y miocardiopatía arritmógena del ventrículo derecho.

25 En una realización, la miocardiopatía es una miocardiopatía secundaria. En una realización adicional, la miocardiopatía secundaria se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía isquémica, miocardiopatía hipertensiva, miocardiopatía valvular, miocardiopatía inducida por fármacos, miocardiopatía alcohólica, miocardiopatía mitocondrial, miocardiopatía causada por sarcoidosis cardíaca, miocardiopatía causada por amiloidosis cardíaca, miocardiopatía causada por miocarditis, miocardiopatía causada por distrofia muscular, miocardiopatía causada por la enfermedad de Fabry cardíaca y miocardiopatía del periparto.

En una realización, la composición farmacéutica para su uso según la invención es para prevenir y/o tratar una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía.

35 En una realización, la composición farmacéutica para su uso según la invención es para su uso en la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía.

40 En una realización, la composición farmacéutica para su uso según la invención es para su uso en el tratamiento de una miocardiopatía seleccionada del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica y miocardiopatía hipertensiva.

45 En una realización, la insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica y miocardiopatía hipertensiva. En otra realización, la insuficiencia cardíaca crónica es causada por miocardiopatía dilatada o miocardiopatía isquémica. En una realización, la insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía dilatada o miocardiopatía isquémica es ICFeR.

En una realización, la insuficiencia cardíaca crónica es causada por miocardiopatía hipertensiva.

50 En otra realización, la insuficiencia cardíaca crónica causada por la miocardiopatía hipertensiva es ICFeC.

La presente invención también proporciona una sustancia para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, en donde la sustancia se selecciona de entre (a) o (b) a continuación:

(a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º: 1;

60 (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.

65 En una realización, dicha sustancia es para su uso en el tratamiento de la miocardiopatía. En otra realización, la miocardiopatía es miocardiopatía idiopática. En una realización adicional, la miocardiopatía idiopática se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía restrictiva y

miocardiopatía arritmógena del ventrículo derecho. En una realización, la miocardiopatía es una miocardiopatía secundaria. En una realización adicional, la miocardiopatía secundaria se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía isquémica, miocardiopatía hipertensiva, miocardiopatía valvular, miocardiopatía inducida por fármacos, miocardiopatía alcohólica, miocardiopatía mitocondrial, miocardiopatía causada por sarcoidosis cardíaca, miocardiopatía causada por amiloidosis cardíaca, miocardiopatía causada por miocarditis, miocardiopatía causada por distrofia muscular, miocardiopatía causada por la enfermedad de Fabry cardíaca y miocardiopatía del periparto.

En una realización, dicha sustancia es para su uso en el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía.

En una realización, dicha sustancia es para su uso en la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía.

En una realización, dicha sustancia es para su uso en el tratamiento de una miocardiopatía seleccionada del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica y miocardiopatía hipertensiva.

En una realización, dicha sustancia se usa en el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía seleccionada del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica y miocardiopatía hipertensiva. En otra realización, la insuficiencia cardíaca crónica es causada por miocardiopatía dilatada o miocardiopatía isquémica. En una realización, la insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía dilatada o miocardiopatía isquémica es ICFeR. En una realización, la insuficiencia cardíaca crónica es causada por miocardiopatía hipertensiva. En una realización adicional, la insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía hipertensiva es ICFeC.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 presenta gráficos que muestran los resultados de la medición de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DVI_d) y el diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo (DVI_s) en los grupos de péptido de HMGB1 (1-44) y PBS antes, 4 semanas después y 6 semanas después de la administración.

La Figura 2 es una fotografía que muestra el resultado de la tinción con rojo sirio de secciones de tejido miocárdico y un gráfico que muestra el porcentaje de área teñida positivamente.

La Figura 3 es una fotografía que muestra el resultado de la inmunotinción (anticuerpo anti-CD31) de secciones de tejido miocárdico y un gráfico que muestra la densidad capilar.

La Figura 4 es una fotografía que muestra el resultado de tinción con PAS de secciones de tejido miocárdico y un gráfico que muestra el diámetro corto de los cardiomiocitos.

La Figura 5 es una fotografía que muestra el resultado de la inmunotinción usando anticuerpos contra PDGFR α y CD29. PDGFR α , verde; CD29, rojo; DAPI, azul.

La Figura 6 es una representación gráfica del número de células positivas para PDGFR α y positivas para CD29 en los grupos de péptido de HMGB1 (1-44) y PBS.

La Figura 7 es una representación gráfica de los niveles de expresión de VEGF y TSG-6 analizados mediante RT-PCR. RQ, cantidad relativa.

La Figura 8 es una fotografía que muestra un resultado de observación de cardiomiocitos mediante microscopio electrónico.

La Figura 9 presenta gráficos que muestran los resultados de la medición de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) desde antes de la dosis hasta 14 semanas después de la dosis en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) y el grupo de PBS.

La Figura 10 es una representación gráfica de la viabilidad del grupo del péptido de HMGB1 (1-44) y el grupo de PBS.

La Figura 11 presenta un gráfico que muestra los resultados de la medición de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) y el grupo de PBS antes y 4 semanas después de la administración.

La Figura 12 presenta gráficos que muestran los resultados de la medición del diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DVI_d) y del diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo (DVI_s) en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) y el grupo de PBS antes y 4 semanas después de la administración.

La Figura 13 presenta un gráfico que muestra los resultados de la medición de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) desde antes de la dosis hasta 4 semanas después de la dosis en los grupos del péptido de HMGB1 (1-44) y PBS.

La Figura 14 es una fotografía que muestra el resultado de la tinción con rojo sirio de secciones de tejido miocárdico y un gráfico que muestra el porcentaje de área teñida positivamente.

La Figura 15 presenta un gráfico que muestra la densidad capilar en el borde del infarto y una fotografía que muestra el resultado de la tinción del factor de Von Willebrand en el borde del infarto.

La Figura 16 presenta un gráfico que muestra el diámetro corto de los cardiomiocitos en el borde del infarto.

La Figura 17 es una imagen inmunotinción fluorescente del borde del infarto en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44). PDGFR α , verde; CD90, rojo; DAPI, azul. Las flechas de (a) indican las células doblemente positivas para PDGFR α y CD90, y la línea discontinua indica el borde del infarto.

La Figura 18 es una imagen inmunotinción fluorescente del borde del infarto en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44). PDGFR α , verde; CD105, rojo; DAPI, azul. Las flechas indican las células doblemente positivas para PDGFR α y CD105, y la línea discontinua indica el borde del infarto.

La Figura 19 es una imagen inmunotinción fluorescente del borde del infarto en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) y el grupo de PBS. PDGFR α , verde; CD90, rojo; DAPI, azul. Las flechas indican las células doblemente positivas para PDGFR α y CD90, y la línea discontinua indica el borde del infarto.

La Figura 20 presenta un gráfico que muestra el peso del corazón a las 15 semanas de edad.

La Figura 21 presenta un gráfico que muestra la transición de la EPAVId desde las 6 semanas de edad hasta las 15 semanas de edad (sin embargo, no se tomaron medidas a las 9 y 14 semanas de edad).

La Figura 22 es una fotografía que muestra los resultados de la tinción con rojo sirio de secciones de tejido miocárdico.

La Figura 23 presenta gráficos que muestran el porcentaje de área teñida positivamente con rojo sirio en secciones de tejido miocárdico. Todos los valores de p entre los grupos son 0,1 o más, excepto los que se muestran en la figura.

Descripción detallada de la invención

La presente exposición proporciona una composición farmacéutica para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, que comprende la sustancia descrita en cualquiera de (a) o (b) a continuación:

(a) un péptido de fragmentos de HMGB1 que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º 1;

(b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.

En una realización, la composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía.

Como se usa en la presente exposición, la disfunción del corazón (disfunción cardíaca) se refiere a la alteración de la función de bombeo mediante la cual el corazón recibe y envía sangre, incluida la alteración de la contractilidad y la alteración de la capacidad diastólica. La disfunción del corazón puede ser, por ejemplo, alteración de la contractilidad o alteración de la capacidad diastólica. La disfunción del corazón puede ser alteración de la contractilidad o alteración de la capacidad diastólica del ventrículo. La disfunción del corazón puede ser alteración de la contractilidad o alteración de la capacidad diastólica del ventrículo izquierdo.

En una realización, la composición farmacéutica para su uso según la invención comprende un péptido de fragmentos de HMGB1 que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º 1.

En la presente exposición, “miocardiopatía” se refiere a una enfermedad miocárdica acompañada de disfunción cardíaca. También, la miocardiopatía frecuentemente va acompañada de anomalías estructurales del corazón, tales como cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica.

5 Entre las miocardiopatías, aquellas que no tienen ninguna causa obvia, tal como hipertensión arterial y arteriopatía coronaria, y que tienen lesiones predominantemente en el miocardio se denominan miocardiopatía idiopática, y las que tienen una relación clara con la enfermedad causante o la enfermedad generalizada se denominan miocardiopatía secundaria.

10 Las miocardiopatías idiopáticas incluyen, aunque no de forma limitativa, miocardiopatía dilatada, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía restrictiva, miocardiopatía arritmógena del ventrículo derecho y miocardiopatía no clasificada. La “miocardiopatía dilatada” se refiere a una enfermedad caracterizada por un aumento de tamaño del ventrículo izquierdo y una alteración de la contractilidad del ventrículo izquierdo, sin coincidencia de ninguna arteriopatía coronaria ni un estado de carga anómalo (hipertensión arterial o valvulopatía) que pueda conducir a una
15 alteración difusa de la contractilidad.

Las miocardiopatías secundarias incluyen, aunque no de forma limitativa, miocardiopatía isquémica, miocardiopatía hipertensiva, miocardiopatía valvular, miocardiopatía inducida por fármacos, miocardiopatía alcohólica, miocardiopatía mitocondrial, miocardiopatía causada por sarcoidosis cardíaca, miocardiopatía causada por amiloidosis cardíaca,
20 miocardiopatía causada por miocarditis, miocardiopatía causada por distrofia muscular, miocardiopatía causada por la enfermedad de Fabry cardíaca y miocardiopatía del periparto. En un aspecto, la miocardiopatía causada por la distrofia muscular es una miocardiopatía causada por distrofia muscular de tipo Duchenne, tipo Becker o tipo Emery Dreifuss.

25 En la presente exposición, “miocardiopatía isquémica” se refiere a una enfermedad en la que una cardiopatía isquémica (infarto de miocardio previo o angina de pecho) causa cardiomegalia y alteración de la contractilidad miocárdica. Los péptidos de fragmentos de HMGB1 pueden prevenir y/o tratar la miocardiopatía isquémica porque los péptidos tienen un efecto inhibitor en la cardiomegalia y un efecto de mejora sobre la contractilidad miocárdica.

30 En la presente exposición, “miocardiopatía hipertensiva” se refiere a una enfermedad en la que la hipertensión arterial causa hipertrofia de cardiomiocitos y disfunción cardíaca (alteración de la capacidad diastólica o alteración de la contractilidad). Los péptidos de fragmentos de HMGB1 pueden prevenir y/o tratar la miocardiopatía hipertensiva porque los péptidos pueden suprimir la hipertrofia de cardiomiocitos causada por la hipertensión arterial.

35 En la presente exposición, el término “composición farmacéutica” se usa indistintamente con “producto farmacéutico”, “fármaco” y “composición farmacológica”.

El término “infarto de miocardio previo” se refiere a una afección en la que han transcurrido 30 días o más después de la aparición del infarto de miocardio en seres humanos (14 días o más después de la aparición del infarto de
40 miocardio en ratas) y que va acompañada de una anomalía estructural o un trastorno funcional del corazón. El infarto de miocardio previo con cardiomegalia y alteración de la contractilidad cardíaca se clasifica como miocardiopatía isquémica. El término “infarto de miocardio previo” también se usa indistintamente con “infarto de miocardio crónico”.

45 Los péptidos de fragmentos de HMGB1 expuestos en la presente memoria inhiben las anomalías estructurales (p. ej., cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica) y la disfunción (p. ej., alteración de la contractilidad) del corazón en un infarto de miocardio previo. También, los péptidos de fragmentos de HMGB1 de la presente exposición ejercen un efecto de mejora sobre la función cardíaca (p. ej., contractilidad) en la miocardiopatía. Por lo tanto, se cree que los péptidos de fragmentos de HMGB1 ejercen amplios efectos terapéuticos en las enfermedades cardíacas asociadas con la anomalía estructural y/o la disfunción del corazón, tales como el infarto de miocardio previo
50 y la miocardiopatía.

En una realización, la composición farmacéutica es para el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía, en donde la composición farmacéutica comprende un péptido de fragmentos de HMGB1 que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1.
55

La miocardiopatía conduce a una afección de insuficiencia cardíaca crónica cuando la función cardíaca se deteriora debido a la progresión de la patología. Los péptidos de fragmentos de HMGB1 pueden prevenir y/o tratar la insuficiencia cardíaca crónica en pacientes con miocardiopatía porque pueden suprimir las anomalías cardíacas estructurales tales como la cardiomegalia, la hipertrofia de cardiomiocitos y la fibrosis miocárdica y mejorar la función
60 cardíaca en la miocardiopatía.

En la presente exposición, la “insuficiencia cardíaca crónica” se refiere a una patología en la que la función de bombeo del corazón se deteriora debido a una alteración miocárdica crónica, y el volumen absoluto y relativo de sangre en proporción a la demanda de oxígeno de los principales órganos periféricos no se puede bombear, lo que causa congestión de los pulmones, el sistema venoso sistémico o ambos sistemas, impidiendo de este modo la vida cotidiana. Los tipos de insuficiencia cardíaca crónica incluyen la insuficiencia cardíaca con una fracción de eyección
65

del ventrículo izquierdo reducida (insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida): ICFeR) e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección del ventrículo izquierdo conservada (insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada): ICFeC). La ICFeR está caracterizada por una fracción de eyección del ventrículo izquierdo <50 % y tiene alteración de la contractilidad. La ICFeC está caracterizada por una fracción de eyección del ventrículo izquierdo del 50 % o más y tiene una capacidad diastólica alterada. En un aspecto, la HFReF se debe a una miocardiopatía dilatada o a una miocardiopatía isquémica. En un aspecto, el HFpEF se debe a una miocardiopatía hipertensiva.

En una realización, la composición farmacéutica es para inhibir una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica en pacientes con miocardiopatía, en donde la composición farmacéutica comprende un péptido de fragmentos de HMGB1 que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1. En una realización, las composiciones farmacéuticas para su uso en pacientes con miocardiopatía para (i) inhibir una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica, (ii) promover la angiogénesis en el corazón o (iii) mejorar la contractilidad o capacidad diastólica del corazón. La contractilidad del corazón incluye, aunque no de forma limitativa, por ejemplo, la contractilidad ventricular, tal como la contractilidad del ventrículo izquierdo. La capacidad diastólica del corazón incluye, pero no se limita a, por ejemplo, la capacidad diastólica ventricular, tal como la capacidad diastólica del ventrículo izquierdo.

En la presente exposición, un péptido de fragmentos de HMGB1 que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 se refiere a un péptido que consiste en una porción de una proteína HMGB1 y que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1. Tales péptidos se pueden obtener como recombinantes genéticos (recombinantes) incorporando el ADN que codifica el péptido en un sistema de expresión apropiado, o se pueden sintetizar artificialmente.

En la presente exposición, la proteína HMGB1 incluye, aunque no de forma limitativa, proteínas que comprenden la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º:2 y proteínas codificadas por ADN que comprenden la secuencia de bases descrita en Id. de sec. n.º:3.

En la presente exposición, las células cuya migración es estimulada por un péptido de fragmentos de HMGB1 incluyen, aunque no de forma limitativa, células de la médula ósea o células derivadas de la médula ósea (p. ej., células madre de médula ósea o células madre derivadas de la médula ósea).

En la presente exposición, las “células de la médula ósea” se refiere a las células presentes en la médula ósea, mientras que las “células derivadas de la médula ósea” se refiere a las “células de la médula ósea” movilizadas desde la médula ósea hacia el exterior de la médula ósea. Las “células de la médula ósea” también pueden incluir células indiferenciadas tales como células madre y células progenitoras presentes en la médula ósea.

En la presente exposición, las células cuya migración es estimulada por un péptido de fragmentos de HMGB1 también incluyen, aunque no de forma limitativa, células madre mesenquimatosas. Las “células madre mesenquimatosas” son células extraídas de la médula ósea u otros tejidos (p. ej., sangre, tal como sangre del cordón umbilical, y piel, grasa, pulpa dental, etc.), que se pueden cultivar y propagar como células adherentes en placas de cultivo (fabricadas de plástico o vidrio) y que tienen el potencial de diferenciarse en tejidos mesenquimatosos tal como hueso, cartílago, grasa y músculo. Las células madre mesenquimatosas también pueden tener la capacidad de diferenciarse en tejidos epiteliales y nerviosos. Las células madre mesenquimatosas pueden existir como una población heterogénea de células que contienen no solo células madre en sentido estricto sino también células progenitoras, y pueden incluir, en condiciones de cultivo, células diferenciadas además de las células madre y/o células progenitoras en sentido estricto. Las células madre mesenquimatosas pueden estar compuestas solo por células madre en sentido estricto, o pueden ser una población celular que consiste en varios tipos de células progenitoras.

Las células progenitoras se definen en la presente memoria como células que tienen un potencial de diferenciación unidireccional en células de un tejido específico distinto del sistema sanguíneo, e incluyen células que tienen un potencial de diferenciarse en un tejido mesenquimatoso, un tejido epitelial, un tejido nervioso, un órgano parenquimatoso o un endotelio vascular.

En la presente exposición, las células cuya migración es estimulada por un péptido de fragmentos de HMGB1 también incluyen, aunque no de forma limitativa, células madre mesenquimatosas de la médula ósea y células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea. Las “células madre mesenquimatosas de la médula ósea” son células presentes en la médula ósea y son células caracterizadas por que se recolectan de la médula ósea y se pueden cultivar y proliferar como células adherentes en placas de cultivo (fabricadas de plástico o vidrio) y tienen el potencial de diferenciación en tejidos mesenquimatosos tales como hueso, cartílago, tejido adiposo y músculo, así como tejido nervioso y epiteliales. En la presente exposición, el término “células madre mesenquimatosas de la médula ósea” se usa indistintamente con “células estromales mesenquimatosas de la médula ósea”, “células madre pluripotentes de la médula ósea” y “células estromales pluripotentes de la médula ósea”.

Las “células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea” se refieren a las células madre mesenquimatosas de la médula ósea movilizadas desde la médula ósea hacia el exterior de la médula ósea, y son células que se pueden

obtener tomando muestras de sangre periférica y recolección de tejidos mesenquimatosos tales como grasa, tejidos epiteliales tales como la piel y tejido nervioso tal como el cerebro. En la presente exposición, el término “célula madre mesenquimatosa derivada de la médula ósea” se usa indistintamente con “célula estromal mesenquimatosa derivada de la médula ósea”, “célula madre pluripotente derivada de la médula ósea” y “célula estromal pluripotente derivada de la médula ósea”.

Las células madre mesenquimatosas de la médula ósea y las células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea también están caracterizadas por que tienen la potencia de diferenciarse en tejidos epiteliales tales como queratinocitos que constituyen la piel y los tejidos del sistema nervioso que constituyen el cerebro, cuando se administran a una porción dañada del organismo vivo inmediatamente después de la recolección o después de adherirse una vez a una placa de cultivo.

Las células madre mesenquimatosas de la médula ósea y las células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea preferiblemente tienen la potencia de diferenciarse en osteoblastos (identificables al observar la calcificación o tales cuando se induce la diferenciación), condrocitos (identificables por tinción positiva con azul alcian, tinción positiva con safranina O o tales), adipocitos (identificables por tinción positiva con sudán III, etc.), así como células mesenquimatosas tales como fibroblastos células del músculo liso, células del músculo esquelético, células estromales y células tendinosas, células nerviosas, células pigmentarias, células epidérmicas, células del folículo piloso (que expresan la familia de citoqueratinas, familia de queratinas capilares o tales), células epiteliales (p. ej., los queratinocitos epidérmicos y células epiteliales intestinales expresan la familia de citoqueratinas o tales), células endoteliales y, además, células de órganos parenquimatosos tales como el hígado, riñón y páncreas. Sin embargo, las células después de la diferenciación no se limitan a las células mencionadas anteriormente.

Los ejemplos de marcadores para células madre mesenquimatosas humanas incluyen, aunque no de forma limitativa, todos o algunos de positivos para PDGFR α , positivos para PDGFR β , negativos para Lin, negativos para CD45, positivos para CD44, positivos para CD90, positivos para CD29, negativos para Flk-1, positivos para CD105, positivos para CD73, positivos para CD90, positivos para CD71, positivos para Stro-1, positivos para CD106, positivos para CD166, negativos para CD31, positivos para CD271 y negativos para CD11b.

Los ejemplos de marcadores para las células madre mesenquimatosas murinas incluyen, aunque no de forma limitativa, todos o algunos de positivos para CD44, positivos para PDGFR α , positivos para PDGFR β , negativos para CD45, negativos para Lin, positivos para Sca-1, negativos para c-kit, positivos para CD90, positivos para CD105, positivos para CD29, negativos para Flk-1, positivos para CD271 y negativos para CD11b.

Los ejemplos de marcadores para células madre mesenquimatosas de rata incluyen, aunque no de forma limitativa, todos o algunos de positivos para PDGFR α , positivos para CD44, positivos para CD54, positivos para CD73, positivos para CD90, positivos para CD105, positivos para CD29, positivos para CD271, negativos para CD31 y negativos para CD45.

En la presente exposición, las células cuya migración es estimulada por un péptido de fragmentos de HMGB1 también incluyen, aunque no de forma limitativa, células positivas para PDGFR α . Los ejemplos de células positivas para PDGFR α cuya migración es estimulada por un péptido de fragmentos de HMGB1 incluyen, aunque no de forma limitativa, células madre mesenquimatosas positivas para PDGFR α , células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea positivas para PDGFR α y células derivadas de la médula ósea positivas para PDGFR α que se obtienen como células adherentes mediante cultivo celular de una fracción de monocitos de sangre obtenida por recolección de médula ósea (recolección de células de médula ósea) o recolección de sangre periférica. Los ejemplos de células madre mesenquimatosas positivas para PDGFR α incluyen células positivas para PDGFR α y CD44, células positivas para PDGFR α y CD90, células positivas para PDGFR α y CD105, células positivas para PDGFR α y el CD29, y tales. En un aspecto, las células madre mesenquimatosas positivas para PDGFR α pueden ser células que son negativas para CD44.

En una realización de la composición farmacéutica para su uso según la presente invención, se puede usar un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos con uno o dos residuos de aminoácidos modificados (sustituciones, deleciones, inserciones o adiciones) en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29 en lugar de o junto con el péptido de fragmentos de HMGB1 que comprende la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1.

Los ejemplos de células cuya migración es estimulada por estos péptidos incluyen, aunque no de forma limitativa, células madre mesenquimatosas, células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea, células positivas para PDGFR α , células madre mesenquimatosas positivas para PDGFR α , células madre mesenquimatosas derivadas de la médula ósea positivas para PDGFR α y células derivadas de la médula ósea positivas para PDGFR α que se obtienen como células adherentes mediante cultivo celular de una fracción de monocitos de sangre obtenida por recolección de médula ósea (recolección de células de médula ósea) o recolección de sangre periférica.

Una cantidad eficaz de un péptido para su uso según la invención o una composición farmacéutica que comprende el péptido para su uso según la invención (en lo sucesivo, denominada como un péptido o tales) es para la administración a un sujeto para el tratamiento de una enfermedad o síntoma descrito en la presente memoria.

5 Una cantidad eficaz, como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una cantidad suficiente para el tratamiento de una enfermedad o síntoma como se describe en la presente memoria. El tratamiento en la presente exposición incluye, aunque no de forma limitativa, el alivio, el retraso, el bloqueo, la mejora, la remisión, la curación, la curación completa, y tales.

10 Los sujetos de la presente exposición incluyen, sin limitarse a ellos, mamíferos, aves, peces y tales. Los mamíferos incluyen, aunque no de forma limitativa, seres humanos y animales no humanos, por ejemplo, seres humanos, ratones, ratas, monos, cerdos, perros, conejos, hámsteres, cobayas, caballos, ovejas, ballenas y tales. En la presente exposición, el término "sujeto" se usa indistintamente con "paciente", "individuo" y "animal".

15 No hay restricción en cuanto al sitio de administración del péptido o composición farmacéutica para su uso según la invención, y los péptidos y la composición farmacéutica para su uso según la invención pueden ejercer sus efectos cuando se administran en cualquier sitio, tal como un sitio con una anomalía estructural o funcional de un tejido o un sitio cercano, un sitio diferente de ellos (distinto de esos sitios), un sitio distante de un sitio con una anomalía estructural o funcional de un tejido, un sitio distal de un sitio con una anomalía estructural o funcional de un tejido, o un sitio distal y ectópico a un sitio con una anomalía estructural o funcional de un tejido.

Por ejemplo, mediante la administración en o cerca de un sitio con una anomalía estructural o funcional del corazón, las células (p. ej., células madre mesenquimatosas) se reclutan en el sitio de administración para inducir o promover la regeneración del tejido cardíaco o la mejora de la anomalía estructural o funcional del corazón. También, por
25 ejemplo, mediante la administración en un sitio diferente del sitio con una anomalía estructural o funcional del corazón o sus proximidades, las células de la médula ósea (p. ej., células madre mesenquimatosas de la médula ósea) se movilizan desde la médula ósea a un sitio con una anomalía estructural o funcional del corazón o sus proximidades a través de la circulación periférica para inducir o promover la regeneración del tejido cardíaco o la mejora de la anomalía estructural o funcional del corazón. Aquí, "circulación periférica" también se denomina "circulación sanguínea" y "flujo sanguíneo circulatorio periférico".

El péptido o composición farmacéutica para su uso según la invención también puede ejercer sus efectos cuando se administra a cualquier tejido, tal como un tejido diferente del tejido cardíaco, un tejido distante del tejido cardíaco, un tejido distal del tejido cardíaco o un tejido distal y ectópico del tejido cardíaco. Por lo tanto, el péptido o composición
35 farmacéutica para su uso según la invención se utiliza eficazmente para regenerar el tejido cardíaco, que es difícil de administrar con un fármaco directamente desde el exterior del cuerpo, o para paliar las anomalías estructurales o funcionales del corazón.

Los modos de administración incluyen, aunque no de forma limitativa, administración oral y administración parenteral, incluidas las administraciones intravascular (intrarterial, intravenosa y tales), intramuscular, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal, nasal, pulmonar y transdérmica. También, el péptido o composición farmacéutica para su uso según la invención puede ser para administración sistémica o local mediante inyección (p. ej., por vía subcutánea, intradérmica o en la superficie de la piel, globo ocular o conjuntiva palpebral, mucosa nasal, mucosa oral y gastrointestinal, mucosa vaginal y endometrial o sitio lesionado), por ejemplo, inyección intravenosa, inyección
45 intramuscular, inyección intraperitoneal e inyección subcutánea.

Además, en lugar del péptido como tal, se pueden usar células que secretan los péptidos de la presente exposición, vectores de terapia génica en los que se han insertado ADN que codifican los péptidos, y composiciones farmacéuticas que los contienen.

Además, los modos de administración pueden seleccionarse adecuadamente según la edad y los síntomas del paciente. Para la administración del péptido, por ejemplo, la dosificación se puede seleccionar de entre el intervalo de 0,0000001 mg a 1000 mg por kilogramo de peso corporal por administración. Alternativamente, la dosificación se puede seleccionar, por ejemplo, del intervalo de 0,00001 a 100 000 mg/cuerpo por paciente. También, cuando una
55 célula secreta el péptido para su uso según la presente invención o un vector de terapia génica en el que se ha insertado un ADN que codifica el péptido, la administración se puede realizar de modo que la cantidad del péptido esté dentro del intervalo anterior. Sin embargo, las composiciones farmacéuticas para su uso según la presente invención no se limitan a estas dosis.

Las composiciones farmacéuticas para su uso según la invención se pueden formular según métodos convencionales (p. ej., Remington's Pharmaceutical Science, última edición, Mark Publishing Company, Easton, EE. UU.) y pueden contener juntos portadores y aditivos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, tensioactivos, excipientes, agentes colorantes, perfumes, conservantes, estabilizadores, tampones, agentes de suspensión, agentes isotonzantes, agentes aglomerantes, disgregantes, lubricantes, agentes promotores de la fluidez y agentes saborizantes, y otros portadores de uso común que se pueden usar según sea apropiado. Los
65 ejemplos específicos incluyen ácido silícico anhidro ligero, lactosa, celulosa cristalina, manitol, almidón, carmelosa

cálcica, carmelosa sódica, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilacetato dietilaminoacetato, polivinilpirrolidona, gelatina, triglicéridos de ácidos grasos de cadena media, aceite de ricino hidrogenado con polioxitileno 60, azúcar blanco, carboximetilcelulosa, almidón de maíz, sales inorgánicas.

- 5 La presente invención se ilustra adicionalmente mediante, aunque no de forma limitativa, los ejemplos siguientes.

Ejemplos

[Ejemplo 1] Evaluación de la eficacia de un péptido de fragmentos de HMGB1 para la miocardiopatía dilatada (1)
10 Materiales y métodos

Los hámsteres J2N-k (18 semanas de edad, machos, 20 animales en total), que son animales modelo de miocardiopatía dilatada, se obtuvieron de Japan SLC, se aclimataron durante 2 semanas y después se usaron para experimentos. Los hámsteres J2N-k desarrollan espontáneamente una miocardiopatía dilatada debido a mutaciones por delección en el gen δ -sarcoglicano (específicamente, la pérdida de cardiomiocitos y la fibrosis comienzan alrededor de las 5 semanas de edad, la cardiomegalia y la disfunción cardíaca aparecen aproximadamente a las 20 semanas de edad y, a menudo, mueren de insuficiencia cardíaca congestiva aproximadamente con 1 año). J Biochem. Agosto de 2003;134(2):269-76). También, se sintetizó un péptido que consistía en los residuos de aminoácidos de 1-44 (Id. de sec. n.º: 1) de la proteína HMGB1 humana químicamente mediante un método en fase sólida. A continuación en la memoria, el péptido se denomina péptido de HMGB1 (1-44) y se abrevia como "1-44" en el dibujo correspondiente a los Ejemplos.

Los hámsteres J2N-k se dividieron en los grupos tratados con el péptido de HMGB1 (1-44) (n=10) y tratados con PBS (control, n=10), y el tratamiento se inició a las 20 semanas de edad (peso corporal de aproximadamente 120 g). La administración de la sustancia de ensayo se llevó a cabo inyectando una solución del péptido de HMGB1 (1-44), que se había ajustado a una concentración de 1 mg/ml con PBS como el vehículo, en la vena yugular externa a una dosis de 3 ml/kg (3 mg/kg como dosificación de péptido) una vez al día durante cuatro días consecutivos. En el grupo de control, se inyectó PBS en la vena yugular externa a una dosis de 3 ml/kg una vez al día durante cuatro días consecutivos. A las 6 semanas después de la administración, se realizó una toracotomía con anestesia profunda y se extirpó el corazón. La porción media del corazón se dividió para crioconservación y para la fijación con parafina, y se realizó un examen histopatológico. También se realizaron estudios de biología molecular utilizando el miocardio apical para evaluar los efectos de la administración del péptido de HMGB1 (1-44).

(2) Elementos para evaluación

i) Función cardíaca

La ecocardiografía se realizó antes de la pauta y a las 4 y 6 semanas después de la pauta; y se midieron y calcularon el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DVID), diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo (DVIs) y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) para realizar una valoración de la función cardíaca.

ii) Fibrosis miocárdica

Las secciones de tejido miocárdico se tiñeron con rojo sirio y la proporción de área con tinción positiva en toda el área del miocardio se calculó como el porcentaje de fibrosis (%).

iii) Angiogénesis

La inmunotinción de las secciones de tejido miocárdico se realizó utilizando un anticuerpo anti-CD31 para determinar el número de vasos sanguíneos (número de células endoteliales vasculares). Esta medición se realizó en cinco campos diferentes y se calculó el valor medio.

iv) Hipertrofia de cardiomiocitos

Se realizó una tinción con ácido peryódico de Schiff (PAS) de las secciones de tejido miocárdico para medir el diámetro corto de los cardiomiocitos que conservaban una arquitectura nuclear, y se obtuvo el promedio de las mediciones. Esta medición se realizó en cinco campos diferentes y se calculó el valor medio.

v) Reclutamiento de células madre mesenquimatosas

La inmunotinción de las secciones de tejido miocárdico se realizó utilizando anticuerpos contra PDGFR α y CD29, que son marcadores de superficie de las células madre mesenquimatosas, para valorar si se observó acumulación de células madre mesenquimatosas. La tinción de los núcleos se realizó usando DAPI.

vi) RT-PCR

La expresión intramiocárdica de VEGF, un factor angiogénico secretado por células madre mieloides mesenquimatosas, y la de TSG-6, una citocina antiinflamatoria, se valoraron mediante RT-PCR utilizando el miocardio apical.

5 vii) Estructura mitocondrial

La estructura de los cardiomiocitos se observó mediante microscopía electrónica. Específicamente, se tomó una muestra de grosor completo de la porción media del miocardio y se sometió a una fijación previa con 1/2 Karnofsky, a una fijación posterior con tetróxido de osmio al 2 %, tinción en bloque con una solución acuosa de acetato de uranio al 0,5 % y deshidratación con etanol, y después se incrustó y polimerizó infiltrando resina epoxi (Quetol812). Se hicieron secciones ultrafinas (70-110 nm) y se realizó una tinción electrónica con acetato de uranio y una solución de tinción con plomo, y después se observó mediante microscopía electrónica (H-7500, Hitachi High Technologies).

15 (3) Resultados

i) Función cardíaca

Las valoraciones de la función cardíaca a las 4 y 6 semanas después de la pauta mostraron niveles significativamente superiores de FEVI en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) en comparación con el grupo de PBS, y se inhibió la reducción de la contractilidad del ventrículo izquierdo (Figura 1). Estos resultados indican el efecto de mejora del péptido de HMGB1 (1-44) sobre la función cardíaca. No hubo diferencias significativas en el DVID ni DVIs en ningún punto temporal después de 4 y 6 semanas de pauta.

25 ii) Fibrosis miocárdica

El análisis mostró que el porcentaje de área con tinción positiva a rojo sirio era significativamente menor en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS, lo que indica que la fibrosis miocárdica estaba inhibida (Figura 2).

30 iii) Angiogénesis

Los resultados de inmunotinción mostraron que, en la capa media, el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) tenía un número significativamente superior de vasos sanguíneos y una angiogénesis mejorada que el grupo de PBS (Figura 3). También en la capa subendocárdica, el número de vasos sanguíneos tendió a ser superior en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS.

iv) Hipertrofia de cardiomiocitos

Los resultados de la tinción con PAS mostraron que el diámetro corto de los cardiomiocitos era significativamente menor en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS tanto en la capa subendocárdica como en la capa media, lo que indica que se inhibió la hipertrofia de los cardiomiocitos (Figura 4).

v) Reclutamiento de células madre mesenquimatosas

La inmunotinción reveló que las células positivas tanto para PDGFR α como para CD29 se reclutaron en el tejido miocárdico del grupo del péptido de HMGB1 (1-44) (Figura 5). También, significativamente más células positivas para PDGFR α y positivas para CD29 estaban presentes en el tejido miocárdico del grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS (Figura 6).

50 vi) RT-PCR

El análisis mostró que tanto VEGF como TSG-6 tenían niveles de expresión significativamente superiores en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS (Figura 7).

55 vii) Estructura mitocondrial

El examen por microscopía electrónica de los cardiomiocitos reveló la pérdida de la estructura de las crestas mitocondriales en el grupo de PBS, mientras que la estructura de las crestas se mantuvo en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) (Figura 8). Estos resultados respaldan el efecto de la administración del péptido de HMGB1 (1-44) en el mantenimiento de la función cardíaca.

[Ejemplo 2] Evaluación de la eficacia del péptido de fragmentos de HMGB1 para la miocardiopatía dilatada (observaciones a largo plazo)

65 (1) Materiales y métodos

Como en el Ejemplo 1, se prepararon veinte hámsteres J2N-k y se dividieron en el grupo tratado con el péptido de HMGB1 (1-44) (n=11) y el grupo tratado con PBS (control, n=9), y el tratamiento se inició a las 20 semanas de edad. La administración de la sustancia de ensayo se llevó a cabo inyectando una solución del péptido de HMGB1 (1-44), que se había ajustado a una concentración de 1 mg/ml con PBS como el vehículo, en la vena yugular externa a una dosis de 3 ml/kg (3 mg/kg como dosificación de péptido) una vez diariamente durante cuatro días consecutivos. En el grupo de control, se inyectó PBS en la vena yugular externa a una dosis de 3 ml/kg una vez al día durante cuatro días consecutivos. La evaluación de la función cardíaca y la tasa de supervivencia continuó después de eso mientras se criaban los hámsteres en condiciones normales.

(2) Elementos para evaluación

i) Función cardíaca

La ecocardiografía se realizó antes de la pauta, 4 semanas después de la pauta y cada 2 semanas después de eso para medir la FEVI.

ii) Tasa de supervivencia

Tras la última dosis, los animales se mantuvieron en condiciones normales y se evaluó la tasa de supervivencia.

(3) Resultados

i) Función cardíaca

La FEVI del grupo del péptido de HMGB1 (1-44) permaneció significativamente superior a la del grupo de PBS hasta 6 semanas después de la administración (Figura 9).

ii) Tasa de supervivencia

Las observaciones a largo plazo mostraron una tendencia hacia una viabilidad superior en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) (Figura 10).

[Ejemplo 3] Ejemplo comparativo que evalúa la eficacia del péptido de fragmentos de HMGB1 en la mejora de la función cardíaca después de un infarto de miocardio previo

(1) Materiales y métodos

Las ratas SD (7 semanas de edad, machos, peso corporal de aproximadamente 250 g) se anestesiaron con el anestésico inhalatorio sevofrano (o isoflurano) y se intubaron por vía endotraqueal después de lograr una supresión suficiente, y se mantuvo una anestesia profunda con el anestésico inhalatorio. Se realizó una toracotomía en decúbito supino en el cuarto espacio intercostal izquierdo y se ligó la porción proximal de la arteria coronaria descendente anterior izquierda con suturas Prolene 6-0 para crear un modelo de infarto de miocardio de área amplia. La función cardíaca se evaluó mediante ecocardiografía 2 semanas después de que se produjera el infarto, y los casos en los que se obtuvo un infarto extenso (FEVI <50 %) se utilizaron como ratas modelo con infarto de miocardio previo (17 animales en total). De manera similar a los ejemplos anteriores, se usó el péptido de HMGB1 (1-44) que consiste en Id. de sec. n.º: 1.

Las ratas modelo con infarto de miocardio previo se dividieron en el grupo tratado con el péptido de HMGB1 (1-44) (n=9) y el grupo tratado con PBS (control, n=8), y el tratamiento se inició 2 semanas después de que se produjera el infarto. La administración de la sustancia de ensayo se llevó a cabo inyectando una solución del péptido de HMGB1 (1-44), que se había ajustado a una concentración de 1 mg/ml con PBS como vehículo, en las venas femorales a una dosis de 3 ml/kg (3 mg/kg como dosificación de péptido) una vez diariamente durante cuatro días consecutivos. En el grupo de control, se inyectó PBS a una dosis de 3 ml/kg una vez al día a través de la vena femoral durante cuatro días consecutivos. A las 4 semanas después de la pauta, se extirpó el corazón mediante una nueva toracotomía con anestesia profunda. En el momento de la extirpación, se extrajeron 5 ml o más de sangre mediante punción desde la aurícula derecha hacia la vena cava inferior, y el área del infarto en el corazón se cortó en cuatro cortes de eje corto de igual grosor y se dividieron para su criopreservación y fijación con parafina. Ambos grupos se estudiaron comparativamente utilizando técnicas fisiológicas, histopatológicas y de biología molecular cardíacas para evaluar los efectos de la administración del péptido de HMGB1 (1-44). La afección después de que hayan pasado 2 semanas (14 días) o más tras la aparición del infarto de miocardio en ratas modelo equivale a la afección después de que hayan pasado 30 días o más tras la aparición del infarto de miocardio en seres humanos. Además, las ratas modelo con infarto de miocardio previo preparadas en este estudio pueden considerarse un modelo de miocardiopatía isquémica porque la FEVI se redujo al 42 % en el punto temporal anterior a la pauta y se observó una progresión de la cardiomegalia en el grupo de control.

(2) Elementos para evaluación

i) Función cardíaca

5 La ecocardiografía se realizó 1, 2 y 4 semanas después de la pauta, y se midieron y calcularon el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DVID), diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo (DVIS) y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) para realizar una valoración de la función cardíaca.

ii) Fibrosis miocárdica

10 Las secciones de tejido miocárdico se tiñeron con rojo sirio y la proporción del área con tinción positiva en el área total del miocardio del ventrículo izquierdo se calculó como el porcentaje de fibrosis (%).

iii) Angiogénesis

15 Los factores de Von Willebrand se tiñeron en el borde del infarto para determinar el número de vasos sanguíneos (número de células endoteliales vasculares). Esta medición se realizó en 10 campos diferentes y se calculó el valor medio.

iv) Hipertrofia de cardiomiocitos

20 Se realizó una tinción con ácido peryódico de Schiff (PAS) en el borde del infarto, y se midió el diámetro corto de los cardiomiocitos que retenían una arquitectura nuclear en el borde del infarto, y se obtuvo el promedio de las mediciones. Esta medición se realizó en 10 campos diferentes y se calculó el valor medio.

25 v) Reclutamiento de células madre mesenquimatosas en el límite del infarto

La inmunotinción del tejido miocárdico se realizó utilizando anticuerpos contra PDGFR α , CD90 y CD105, que son marcadores de superficie de las células madre mesenquimatosas, para evaluar si se observó acumulación de células madre mesenquimatosas en el borde del infarto. La tinción de los núcleos se realizó usando DAPI.

30 (3) Resultados

i) Función cardíaca

35 La valoración de la función cardíaca a las 4 semanas después de la pauta mostró niveles significativamente superiores de FEVI en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) comparado con el grupo de PBS (Figura 11). Además, el DVID y DVIS a las 4 semanas después de la pauta mostraron valores más pequeños en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS, y se observó una inhibición de la cardiomegalia (Figura 12).

40 Además, con respecto al cambio en la FEVI a lo largo del tiempo, el grupo de PBS mostró una disminución de la FEVI a lo largo del tiempo postdosificación, mientras que el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) mostró un aumento de la FEVI a lo largo del tiempo hasta 4 semanas después de la pauta, con una mejora promedio de la FEVI de aproximadamente el 7 % con respecto a antes de la pauta (Figura 13).

45 ii) Fibrosis miocárdica

El análisis mostró que el porcentaje de área con tinción positiva a rojo sirio era significativamente menor en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS, lo que indica que la fibrosis miocárdica estaba inhibida (Figura 14).

50 iii) Angiogénesis

Los resultados de tinción del factor de Von Willebrand en el borde del infarto mostraron que el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) tenía significativamente más vasos que el grupo de PBS ($P = 0,05$), lo que indica que la angiogénesis aumentó (Figura 15).

55 iv) Hipertrofia de cardiomiocitos

Los resultados de la tinción con PAS en el borde del infarto mostraron que el diámetro corto de los cardiomiocitos era significativamente menor en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS ($P = 0,05$), lo que indica que se inhibió la hipertrofia de los cardiomiocitos (Figura 16).

v) Reclutamiento de células madre mesenquimatosas en el borde del infarto

65 La inmunotinción del tejido miocárdico reveló que las células positivas tanto para PDGFR α como para CD90 y las células positivas tanto para PDGFR α como para CD105 se reclutaron cerca del borde del infarto del grupo del péptido

de HMGB1 (1-44) (Figuras 17 y 18). También había más células positivas para PDGFR α y positivas para CD90 en las proximidades del borde del infarto en el grupo del péptido de HMGB1 (1-44) que en el grupo de PBS (Figura 19).

[Ejemplo 4] Evaluación de la eficacia del péptido de fragmentos de HMGB1 para la miocardiopatía hipertensiva

(1) Materiales y métodos

En los experimentos se usaron ratas Dahl sensibles a la sal (en lo sucesivo, también denominadas ratas DIS/Eis). Las ratas DIS/Eis son hipertensas cuando se las alimenta con una dieta rica en sal y son un modelo que desarrolla insuficiencia cardíaca con una incidencia alta (p. ej., cuando se las alimenta con una dieta suplementada con NaCl al 8 % a partir de las 6 semanas de edad, la presión arterial alcanza los 250 mmHg a las 9 semanas de edad, la muerte comienza a aparecer a partir de las 12 semanas de edad y la muerte es muy probable a las 16 semanas de edad).

Se prepararon diez ratas DIS/Eis (6 semanas de edad, machos, peso corporal de aproximadamente 200 g, Japan SLC) y se dividieron en dos grupos, un grupo con dieta de alta salinidad (n=7) y un grupo con dieta de baja salinidad (n=3), y la alimentación continuó hasta las 15 semanas de edad, en las que la primera se alimentó con una dieta suplementada con NaCl al 8 % y la segunda con una dieta suplementada con NaCl al 0,3 %. Aparte de las comidas, nada interfería con la libertad de movimiento y se las mantenía limpias y descansaban sin restricciones en cuanto al agua potable, la alimentación y tales en sus jaulas.

A las 11 semanas de edad, el grupo con dieta de alta salinidad (n=7) se dividió en el grupo tratado con el péptido de HMGB1 (1-44) (n=3) y el grupo de control (n=4), y se inició el tratamiento. La administración de la sustancia de ensayo se llevó a cabo inyectando una solución del péptido de HMGB1 (1-44), que se había ajustado a una concentración de 1 mg/ml con PBS como el vehículo, en la vena caudal a una dosis de 3 ml/kg (3 mg/kg como dosificación de péptido) una vez diariamente durante cuatro días consecutivos. Al grupo de control se le inyectó PBS a una dosis de 3 ml/kg una vez al día a través de la vena caudal durante cuatro días consecutivos. De forma similar al grupo de control, el grupo con dieta de baja salinidad (n = 3) también recibió PBS a través de la vena caudal durante cuatro días consecutivos. A las 4 semanas después de la pauta (a las 15 semanas de edad), se extirparon los corazones de las ratas mediante toracotomía con anestesia general, y se midió su peso, y después se prepararon secciones histológicas de las secciones transversales del miocardio del ventrículo izquierdo a nivel del músculo papilar y se sometieron a análisis histológico. En la siguiente descripción, el grupo al que se administró el péptido de HMGB1 (1-44) alimentado con una dieta de alta salinidad se abrevia como el “grupo con alto 1-44”; el grupo de control alimentado con una dieta de alta salinidad se abrevia como el “grupo con alto PBS” y el grupo con dieta con baja salinidad se abrevia como el “grupo bajo PBS”.

(2) Elementos para evaluación

i) Peso del corazón

A las 15 semanas de edad, se extirparon los corazones de las ratas de cada grupo y se pesaron.

ii) Función cardíaca y grosor de la pared ventricular

Se realizó una ecocardiografía antes de la pauta y cada semana después del inicio de la pauta para determinar el diámetro telediastólico del ventrículo izquierdo (DVI_d), el diámetro telesistólico del ventrículo izquierdo (DVI_s), la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), el espesor telediastólico de la pared anterior del ventrículo izquierdo (EPAVI_d) y el espesor telediastólico de la pared posterior del ventrículo izquierdo (EPPVI_d).

iii) Fibrosis miocárdica

Las secciones de tejido miocárdico se tiñeron con rojo sirio y la proporción del área con tinción positiva en el área de todo el corazón o el ventrículo izquierdo se calculó como el porcentaje de fibrosis (%).

(3) Resultados

i) Peso del corazón

En comparación con el grupo con bajo PBS, los grupos con alto 1-44 y alto PBS tenían mayores pesos del corazón. Además, el grupo con alto 1-44 tenía menores pesos del corazón que el grupo con alto PBS, lo que indica que la administración del péptido de HMGB1 (1-44) inhibió la hipertrofia cardíaca (Figura 20).

ii) Función cardíaca

Durante el período de observación, la FEVI se mantuvo en un valor del 70 % o más en todos los grupos (no hubo diferencias significativas entre los grupos).

iii) Grosor de la pared ventricular

5 Los cambios en la EPAVId durante el período de observación se muestran en la Figura 21. A las 15 semanas de edad, la EPAVId de los grupos con alto PBS y alto 1-44 fue mayor que la del grupo con bajo PBS, pero la EPAVId del grupo con alto 1-44 fue menor que la del grupo alto PBS, lo que muestra la tendencia a inhibir el aumento del espesor de la pared anterior del ventrículo izquierdo mediante la administración del péptido de HMGB1 (1-44).

iv) Fibrosis miocárdica

10 Los resultados de la tinción con rojo sirio de las secciones de tejido miocárdico se muestran en la Figura 22. En comparación con el grupo con bajo PBS, el grupo con alto PBS tuvo un aumento de la fibrosis alrededor de las arterias coronarias. El porcentaje de área con tinción positiva a rojo sirio (porcentaje de fibrosis) en todo el corazón fue menor en el grupo con alto 1-44 que en el grupo con alto PBS, lo que demuestra la tendencia a inhibir la fibrosis del miocardio mediante la administración del péptido de HMGB1 (1-44) (Figura 23A). El porcentaje de fibrosis en el ventrículo izquierdo fue menor en el grupo con alto 1-44 que en el grupo con alto PBS, lo que indica que la fibrosis miocárdica se inhibió mediante la administración del péptido de HMGB1 (1-44) (Figura 23B).

(4) Explicación

20 Las ratas DIS/Eis alimentadas con una dieta de alta salinidad desarrollan hipertensión arterial. También se confirmó que las ratas realmente desarrollaron hipertrofia cardíaca e hipertrofia de cardiomiocitos. Por lo tanto, las ratas DIS/Eis alimentadas con dieta de alta salinidad utilizadas en los ejemplos se pueden evaluar como un modelo de miocardiopatía hipertensiva.

25 La hipertrofia cardíaca/hipertrofia de cardiomiocitos es una anomalía estructural que resulta en capacidad diastólica reducida del corazón. Las ratas DIS/Eis alimentadas con dieta de alta salinidad utilizadas en los presentes ejemplos también se pueden evaluar como un modelo de ICFEc porque desarrollaron hipertrofia cardíaca/hipertrofia de cardiomiocitos mientras mantenían una contractilidad ventricular izquierda normal.

30 El péptido de HMGB1 (1-44) de la presente invención inhibe la hipertrofia cardíaca y la hipertrofia de cardiomiocitos en ratas DIS/Eis alimentadas con dieta de alta salinidad y, por lo tanto, se puede usar para la prevención y/o el tratamiento de la miocardiopatía hipertensiva y la ICFEc.

Aplicabilidad industrial

35 Se espera que la composición farmacéutica para su uso según la invención y la sustancia para su uso según la invención proporcionen grandes beneficios a los pacientes, que son difíciles de operar debido a factores tales como la edad avanzada, y que no pueden recibir un efecto suficiente con los fármacos existentes para la insuficiencia cardíaca crónica. Además, las composiciones farmacéuticas que comprenden el péptido ejercen efectos tales como

40 la mejora de la función cardíaca y la inhibición de la hipertrofia de cardiomiocitos en múltiples modelos de miocardiopatía que son miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica y miocardiopatía hipertensiva, y por lo tanto se puede esperar que presenten amplios efectos terapéuticos en diversos tipos de miocardiopatía, incluidas miocardiopatías idiopáticas y secundarias.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, en donde la composición farmacéutica comprende la sustancia descrita en cualquiera de (a) o (b) a continuación:
 - (a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º: 1;
 - (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.
2. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, que es para su uso en el tratamiento de la miocardiopatía.
3. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, que es para su uso en el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía.
4. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, que es para su uso en la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía.
5. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la miocardiopatía es una miocardiopatía secundaria.
6. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 5, en donde la miocardiopatía secundaria se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía isquémica, miocardiopatía hipertensiva, miocardiopatía valvular, miocardiopatía inducida por fármacos, miocardiopatía alcohólica, miocardiopatía mitocondrial, miocardiopatía causada por sarcoidosis cardíaca, miocardiopatía causada por amiloidosis cardíaca, miocardiopatía causada por miocarditis, miocardiopatía causada por distrofia muscular, miocardiopatía causada por la enfermedad de Fabry cardíaca y miocardiopatía del periparto.
7. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la miocardiopatía es miocardiopatía idiopática.
8. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7, en donde la miocardiopatía idiopática se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía restrictiva y miocardiopatía arritmógena del ventrículo derecho.
9. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la miocardiopatía es miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica o miocardiopatía hipertensiva.
10. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el péptido se selecciona de entre (a) o (b) a continuación:
 - (a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º: 1;
 - (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que un aminoácido se ha sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.
11. La composición farmacéutica para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el péptido es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1.
12. Una sustancia para su uso en (1) el tratamiento de la miocardiopatía, (2) el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por una miocardiopatía o (3) la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía, en donde la sustancia se selecciona de entre (a) o (b) a continuación:
 - (a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º: 1;
 - (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se han sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.

13. La sustancia para su uso según la reivindicación 12, que es para su uso en el tratamiento de la miocardiopatía.
- 5 14. La sustancia para su uso según la reivindicación 12, que es para su uso en el tratamiento de una insuficiencia cardíaca crónica causada por miocardiopatía.
- 10 15. La sustancia para su uso según la reivindicación 12, que es para su uso en la inhibición de una anomalía estructural del corazón seleccionada del grupo que consiste en cardiomegalia, hipertrofia de cardiomiocitos o fibrosis miocárdica en un paciente con miocardiopatía.
- 15 16. La sustancia para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15, en donde la miocardiopatía es una miocardiopatía secundaria.
- 20 17. La sustancia para su uso según la reivindicación 16, en donde la miocardiopatía secundaria se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía isquémica, miocardiopatía hipertensiva, miocardiopatía valvular, miocardiopatía inducida por fármacos, miocardiopatía alcohólica, miocardiopatía mitocondrial, miocardiopatía causada por sarcoidosis cardíaca, miocardiopatía causada por amiloidosis cardíaca, miocardiopatía causada por miocarditis, miocardiopatía causada por distrofia muscular, miocardiopatía causada por la enfermedad de Fabry cardíaca y miocardiopatía del periparto.
- 25 18. La sustancia para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15, en donde la miocardiopatía es miocardiopatía idiopática.
- 30 19. La sustancia para su uso según la reivindicación 18, en donde la miocardiopatía idiopática se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía dilatada, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía restrictiva y miocardiopatía arritmógena del ventrículo derecho.
- 35 20. La sustancia para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12-15, en donde la miocardiopatía es miocardiopatía dilatada, miocardiopatía isquémica o miocardiopatía hipertensiva.
- 40 21. La sustancia para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12-20, en donde el péptido se selecciona de entre (a) o (b) a continuación:
 - (a) un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en la Id. de sec. n.º: 1;
 - (b) un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos en la que un aminoácido se ha sustituido, eliminado, insertado o añadido en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1 y que tiene una actividad de estimulación de la migración de células madre mesenquimatosas positiva para PDGFR α y positiva para CD29.
22. La sustancia para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 12-20, en donde el péptido es un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos descrita en Id. de sec. n.º: 1.

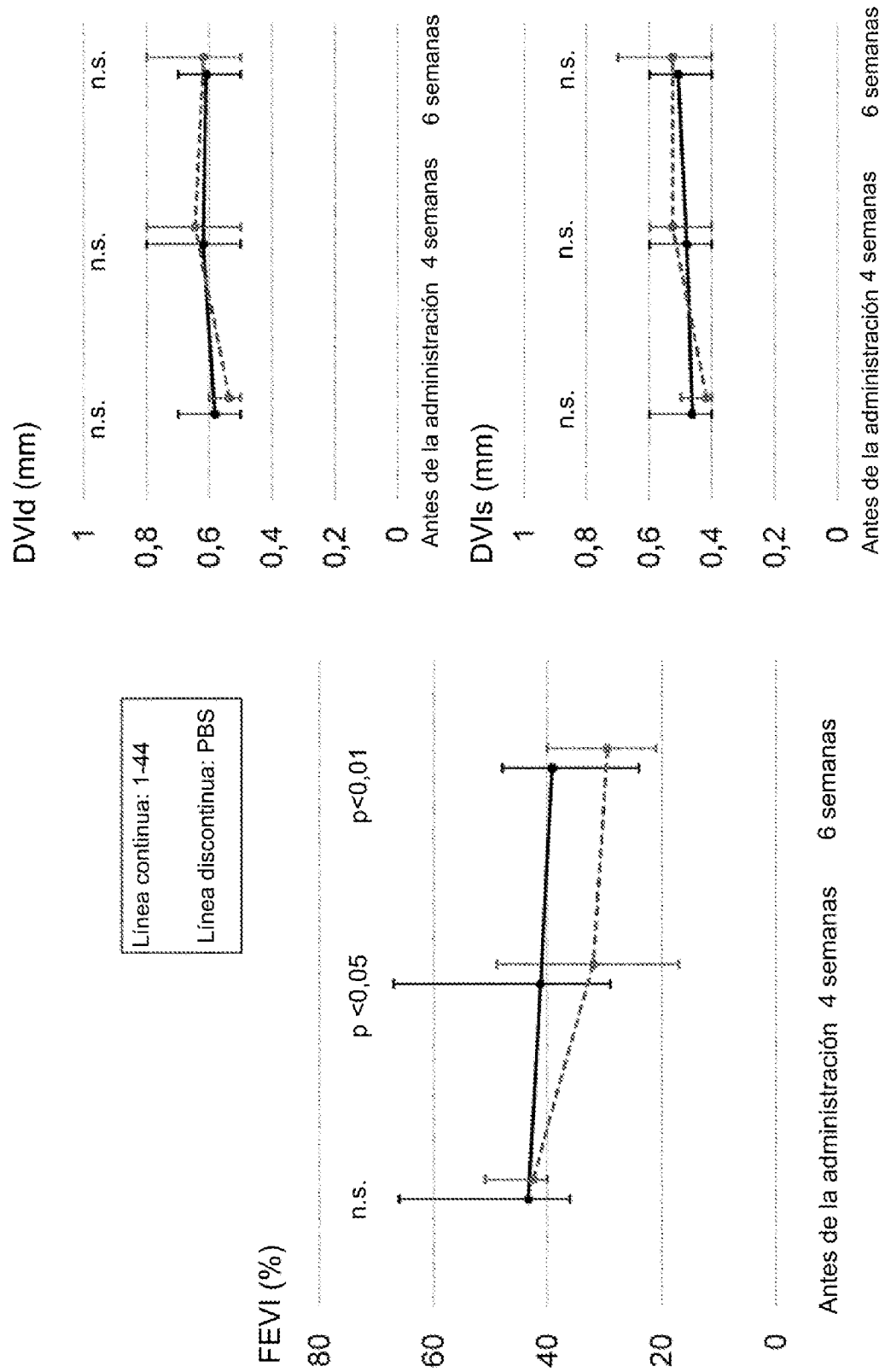


Figura 1

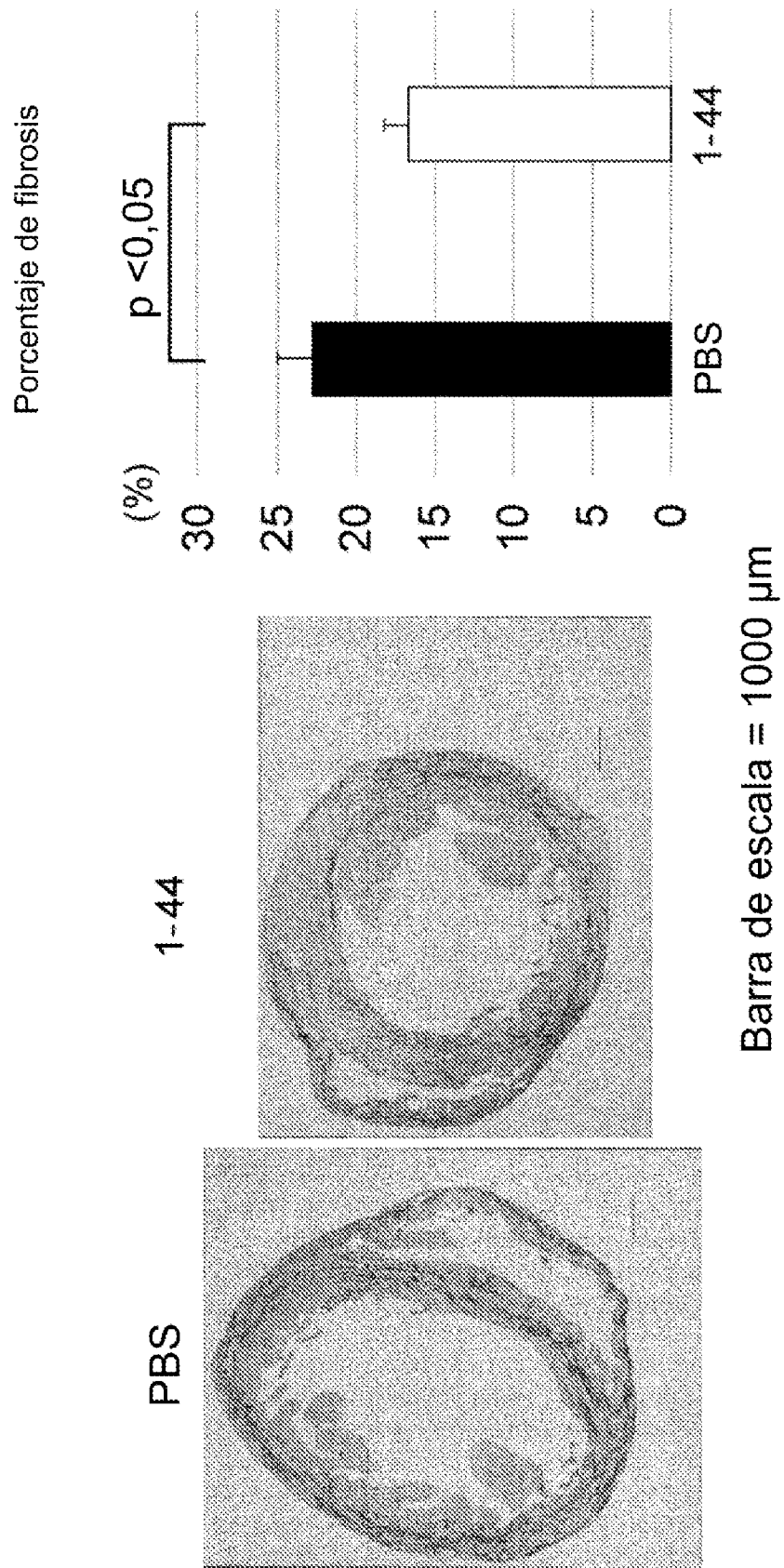


Figura 2

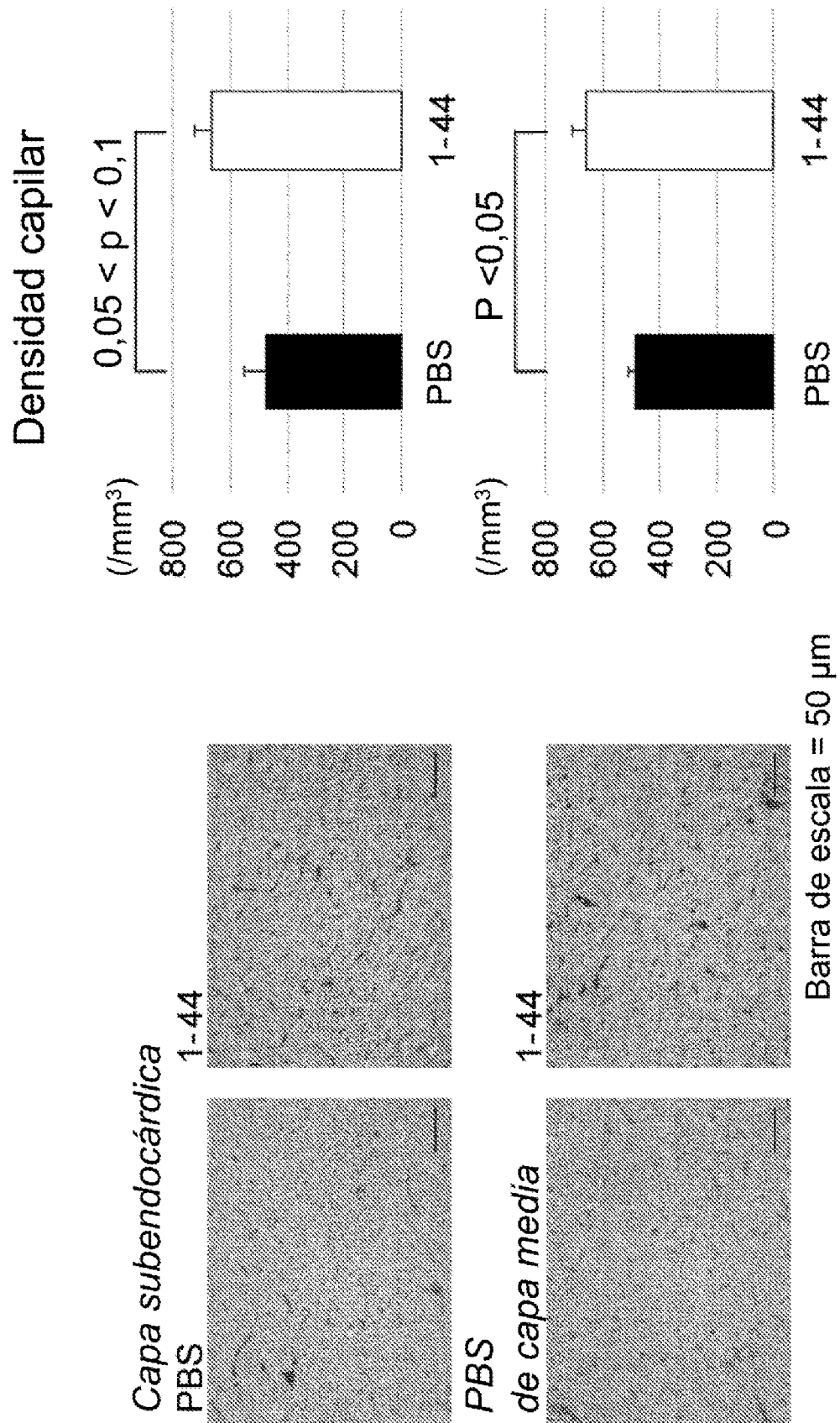


Figura 3

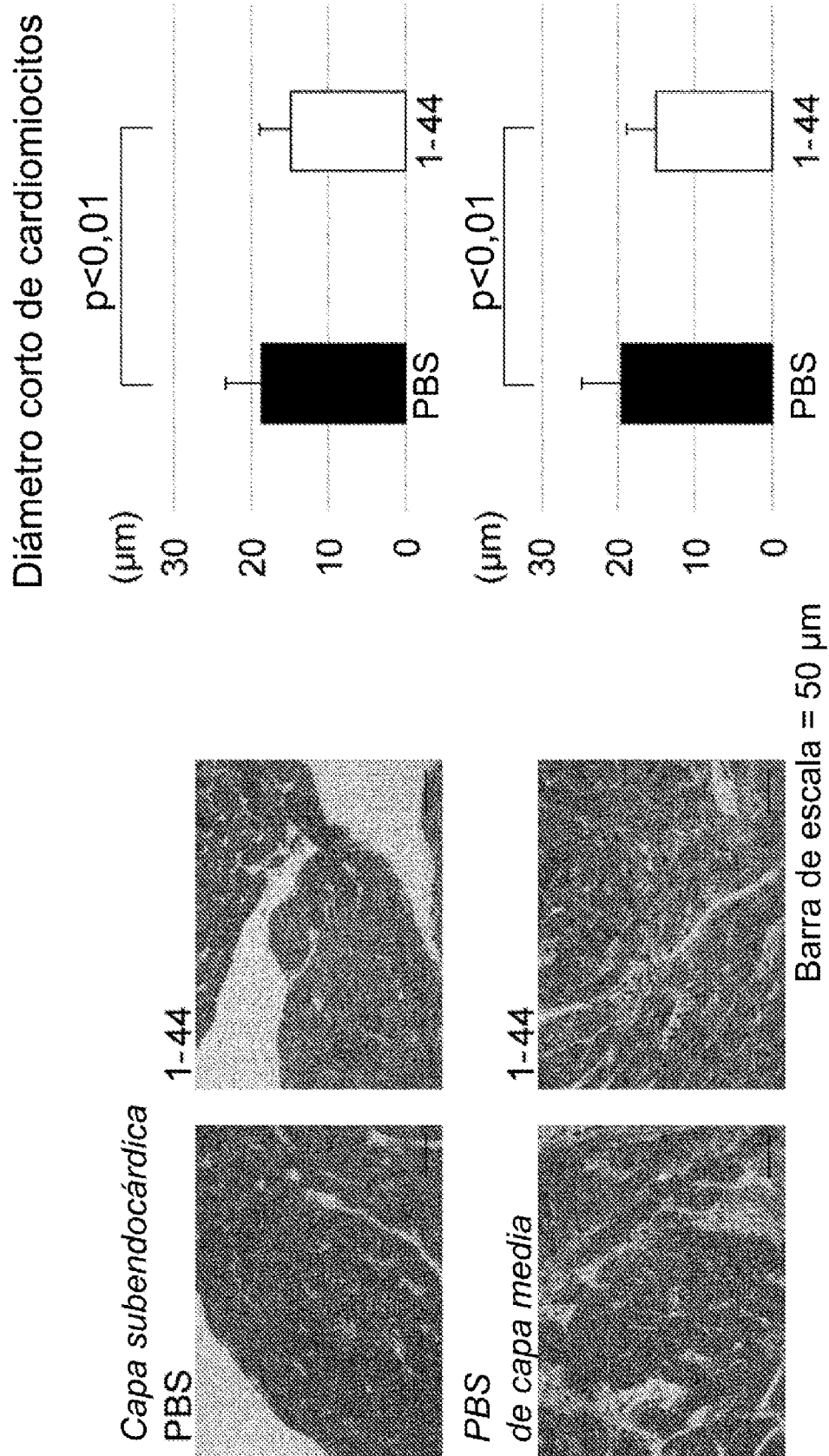


Figura 4

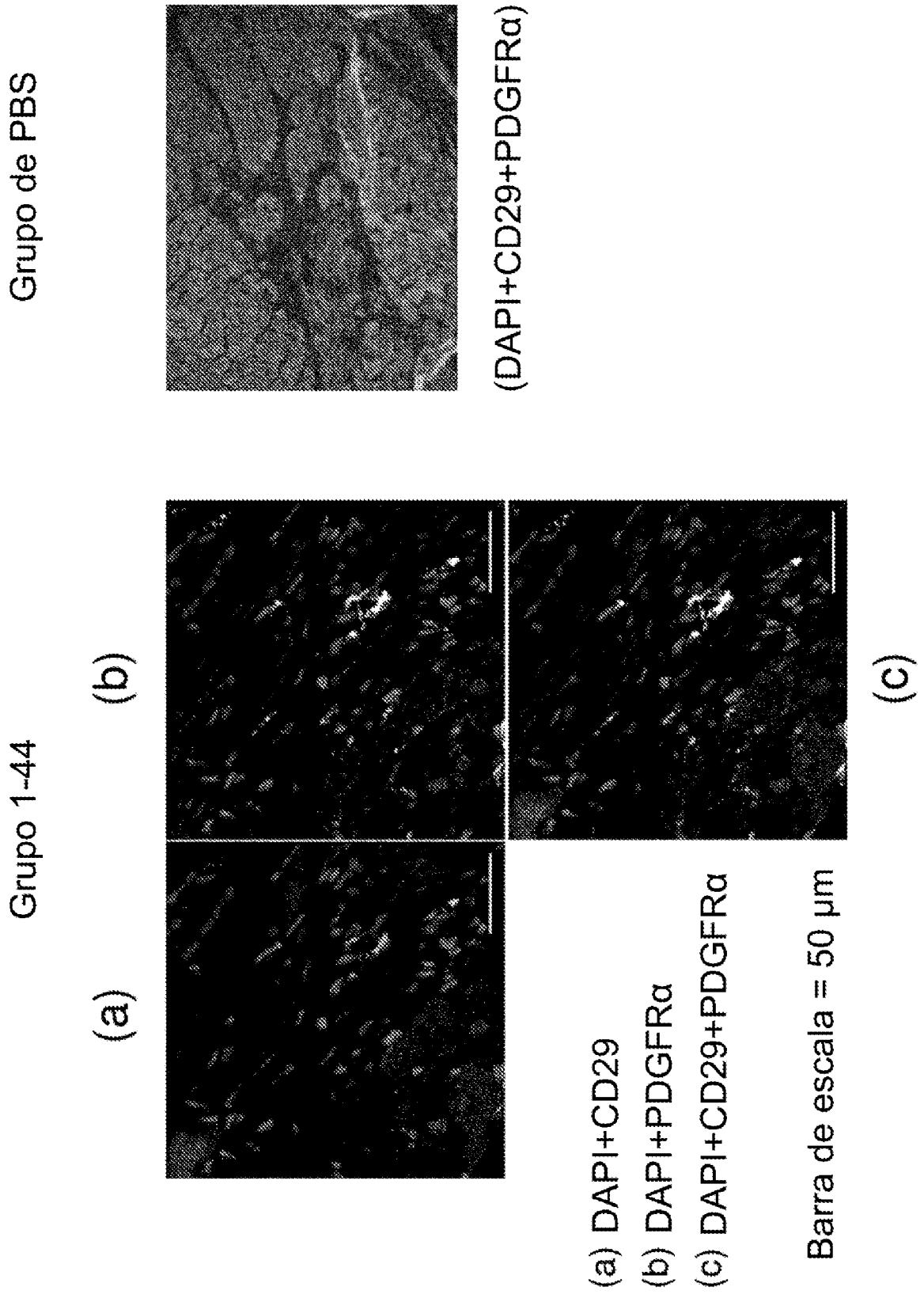


Figura 5

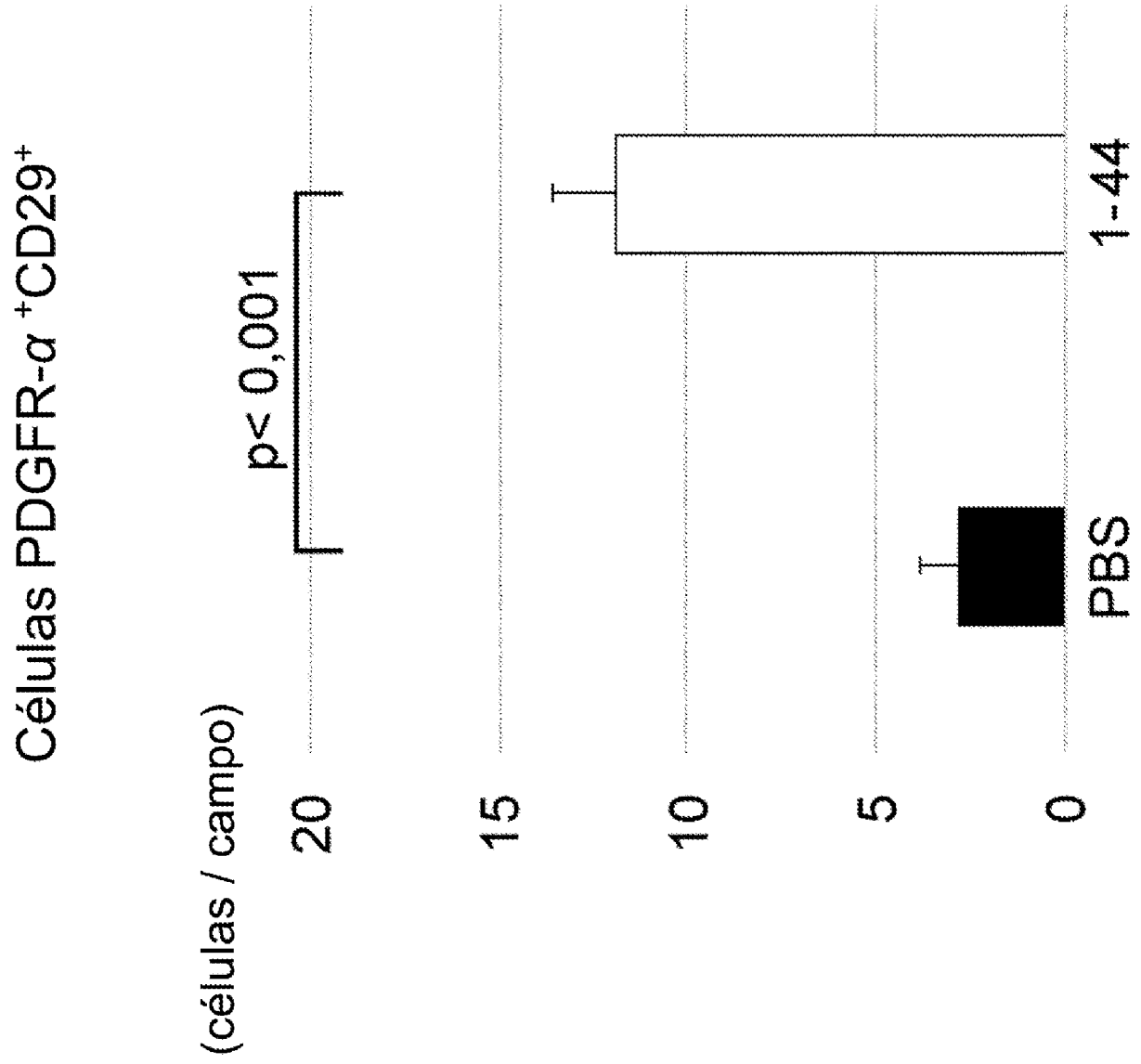


Figura 6

RT-PCR

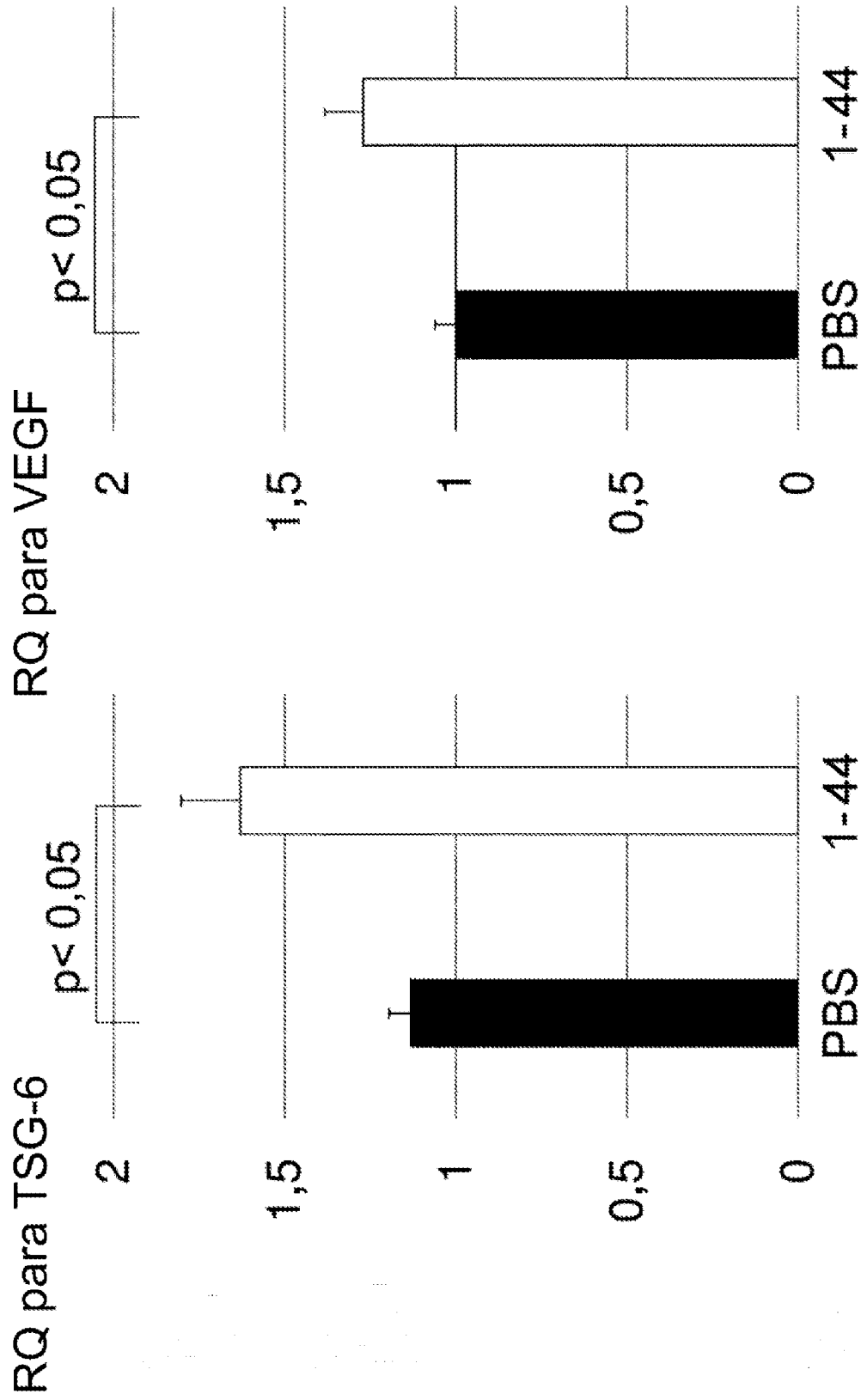


Figura 7

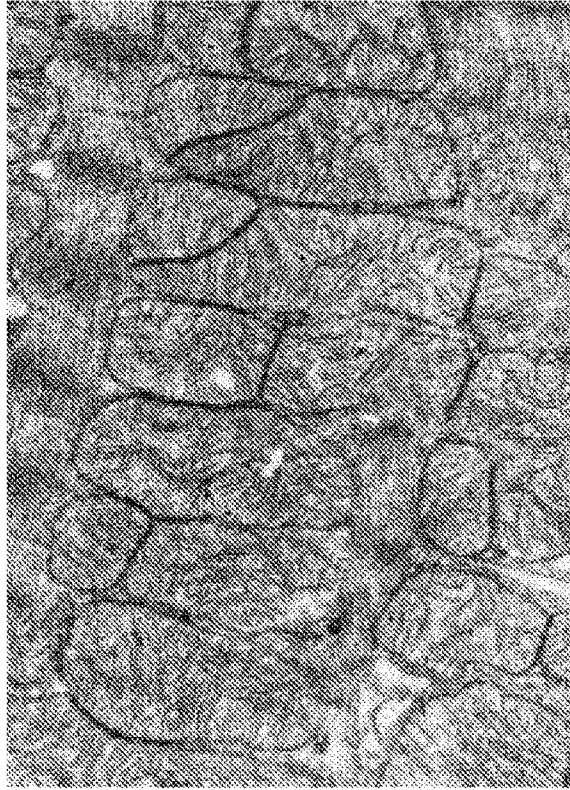
Observación con microscopio electrónico

(Ampliación: 12 000 veces)



PBS

Pérdida de la estructura de
las crestas mitocondriales



1-44

Mantenimiento de la estructura
de las crestas mitocondriales

Figura 8

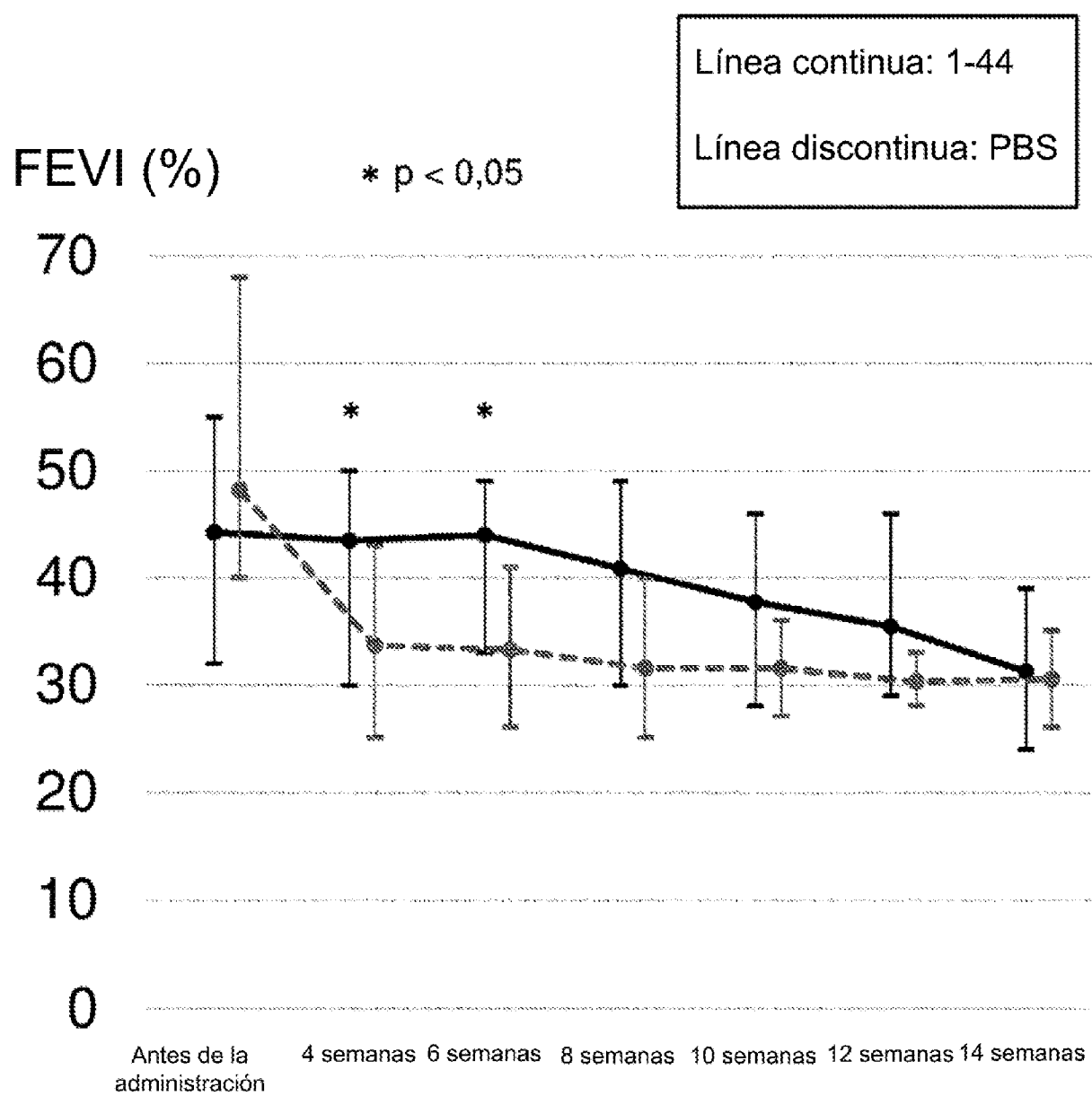


Figura 9

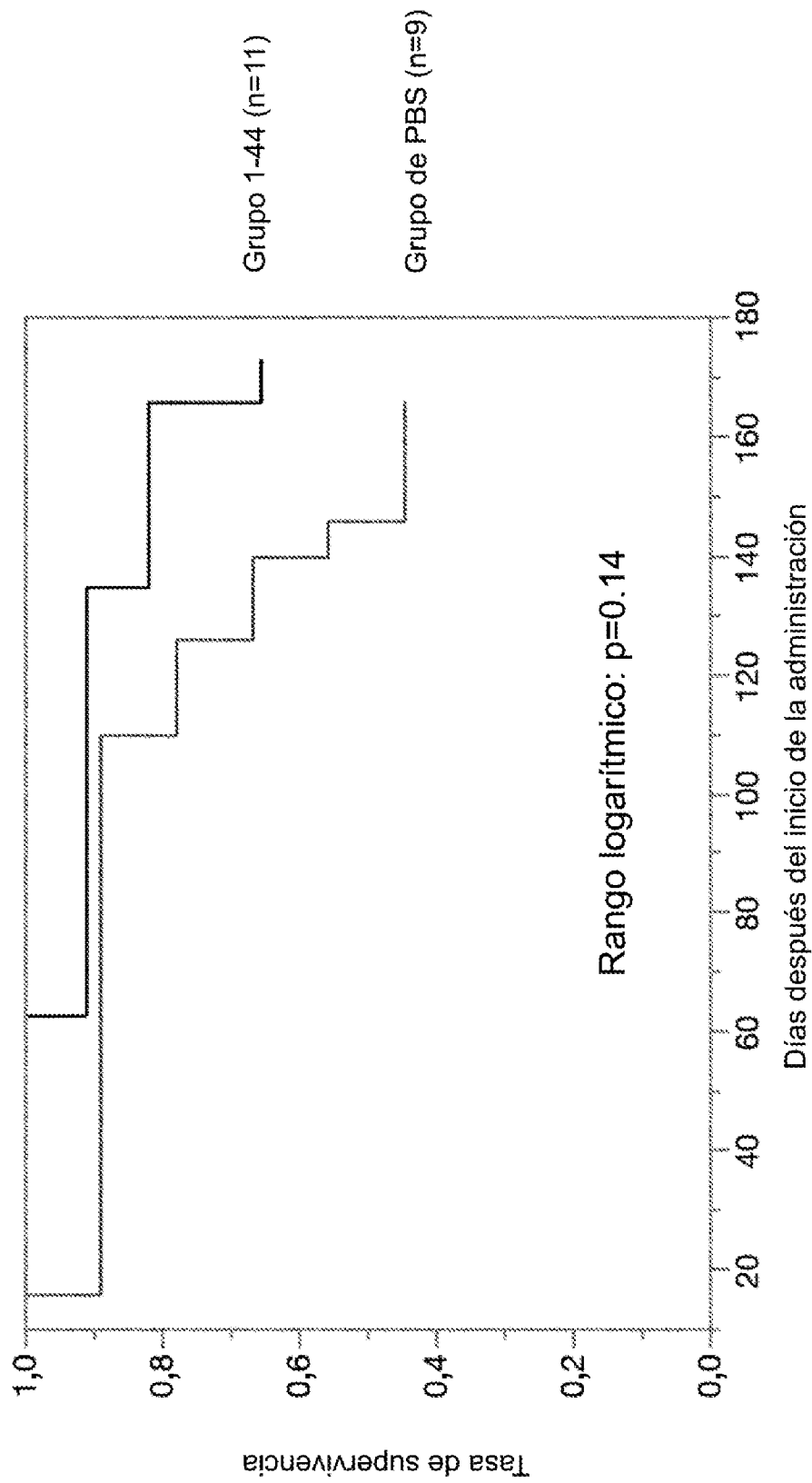


Figura 10

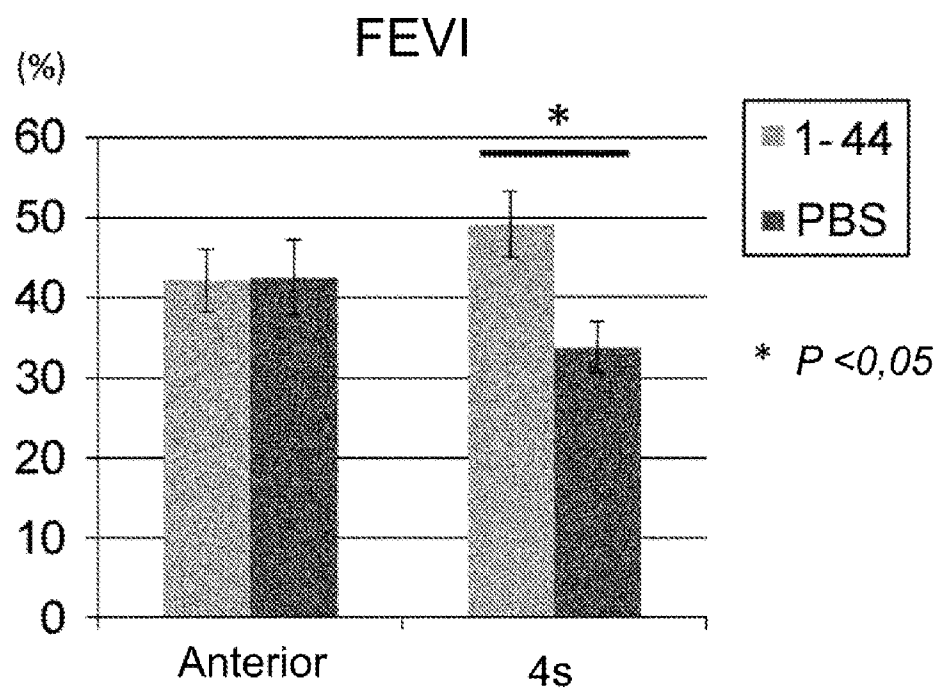


Figura 11

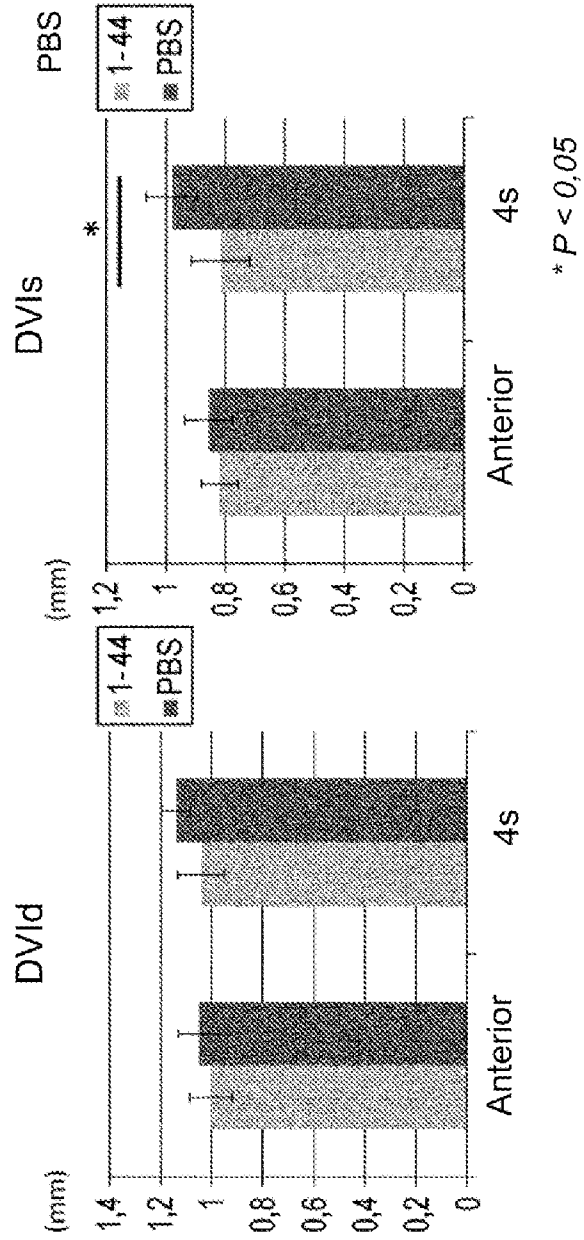


Figura 12

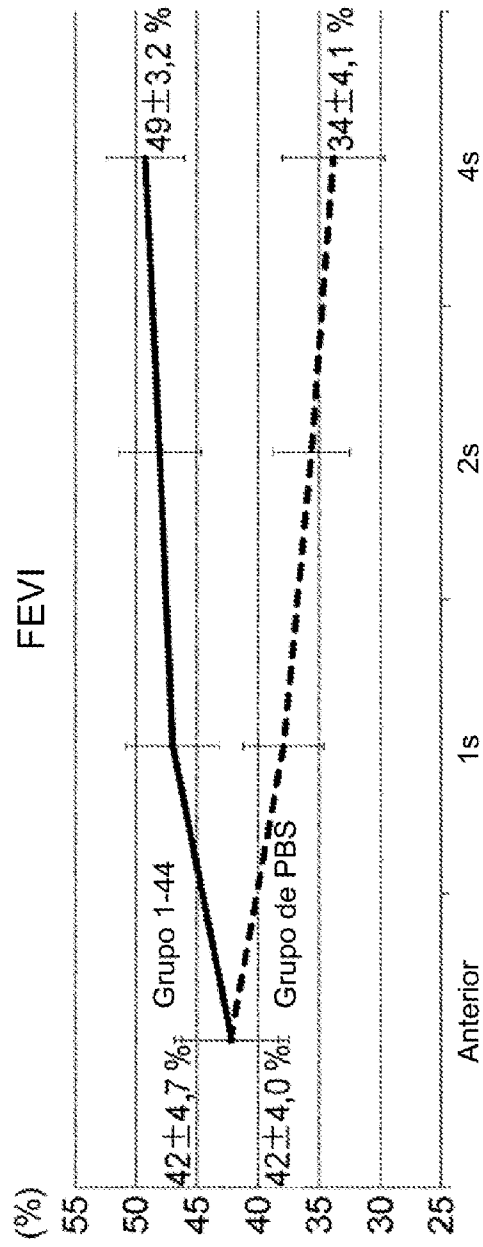


Figura 13

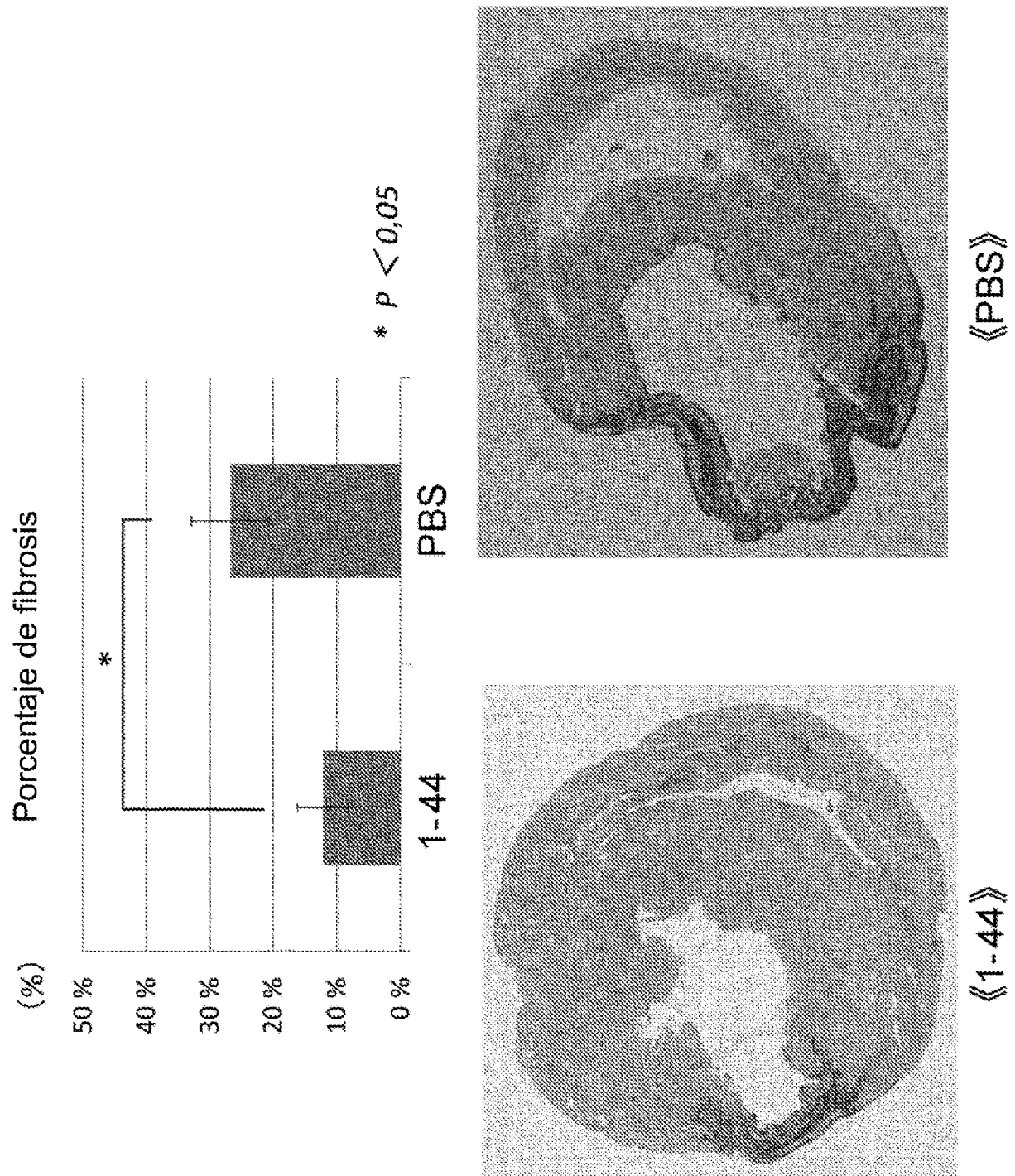


Figura 14

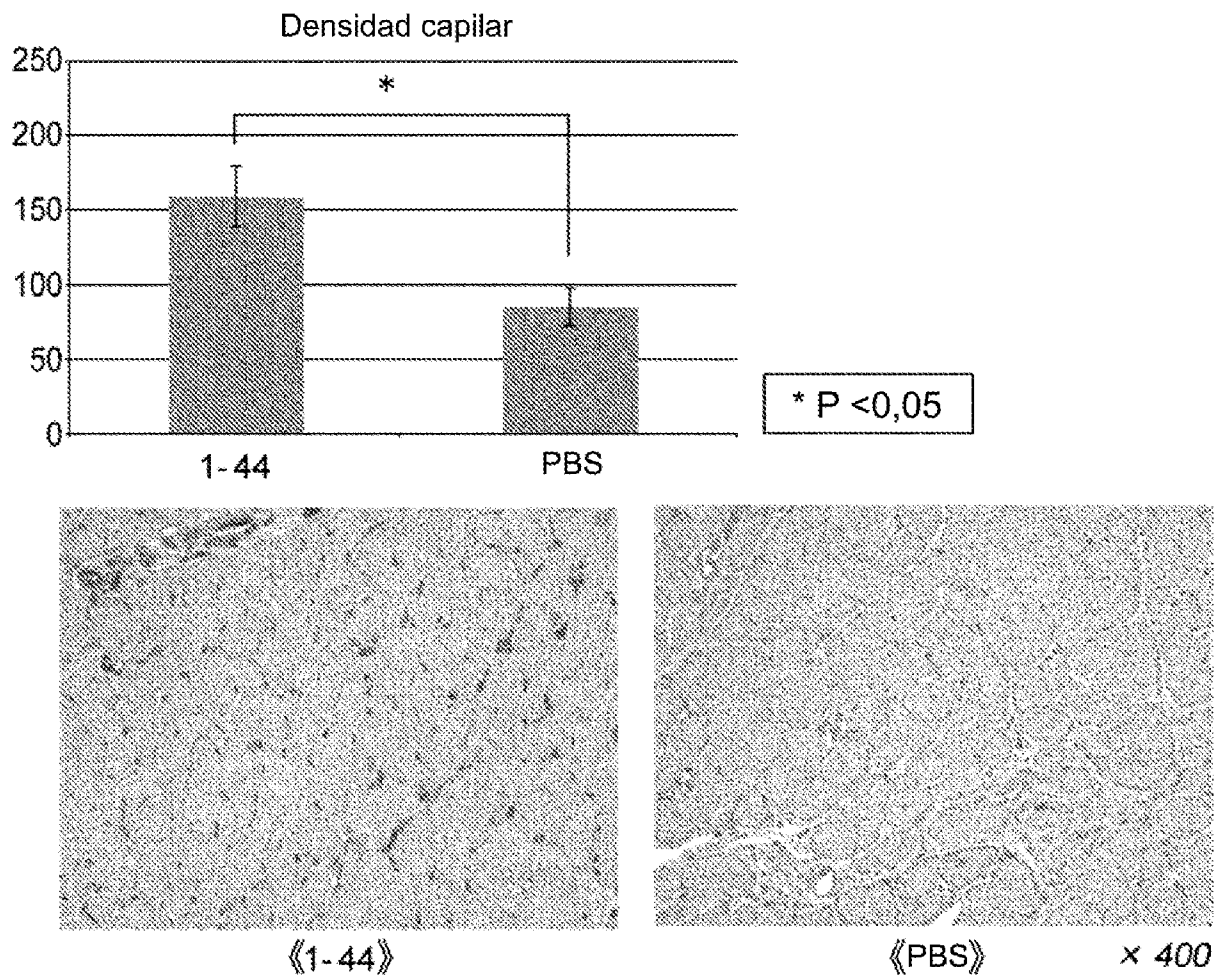


Figura 15

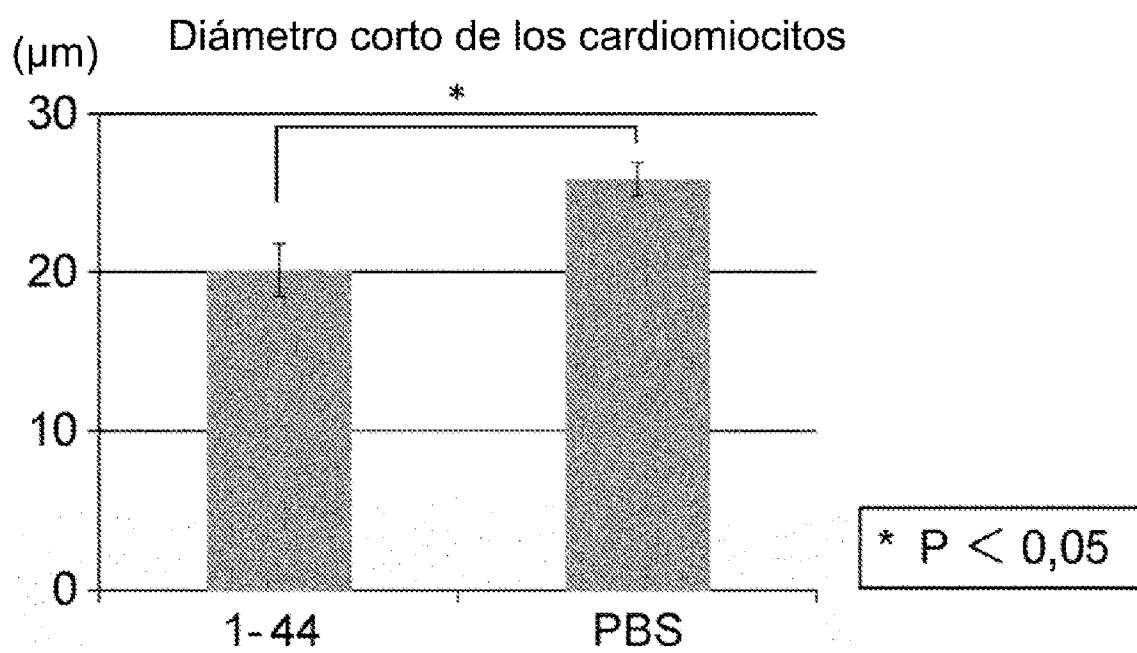


Figura 16

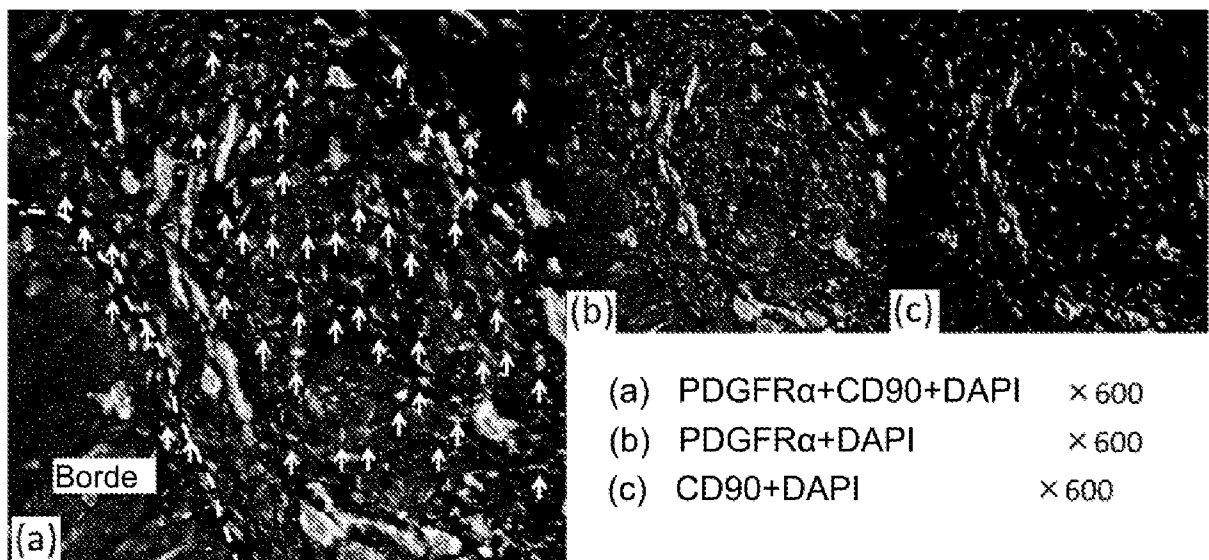
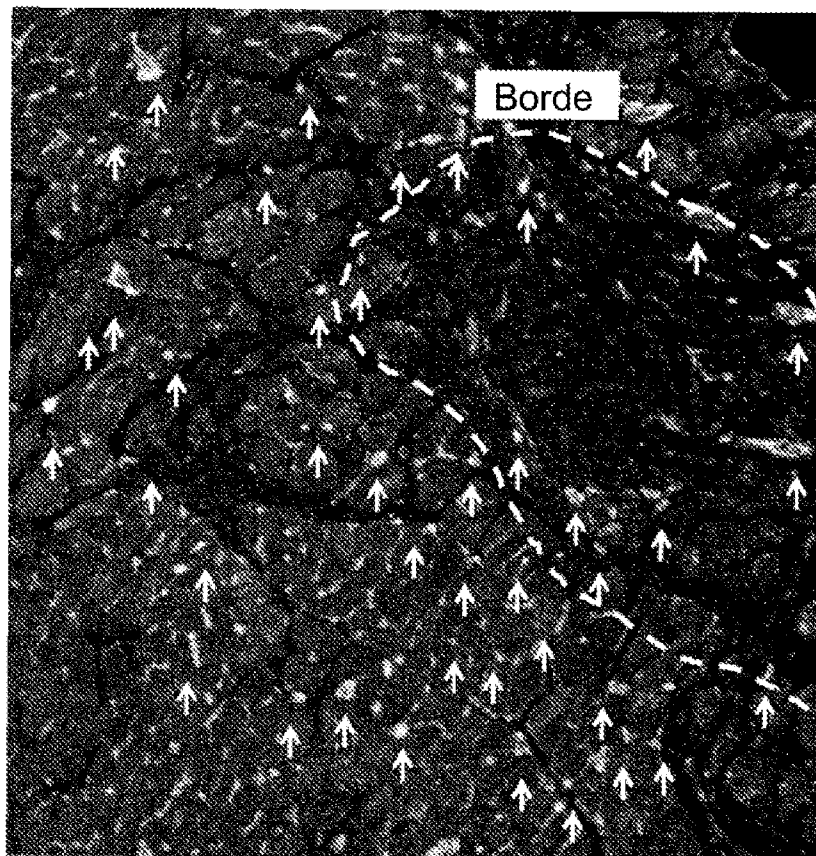


Figura 17



PDGFR α +CD105+tinción DAPI $\times 200$

Figura 18

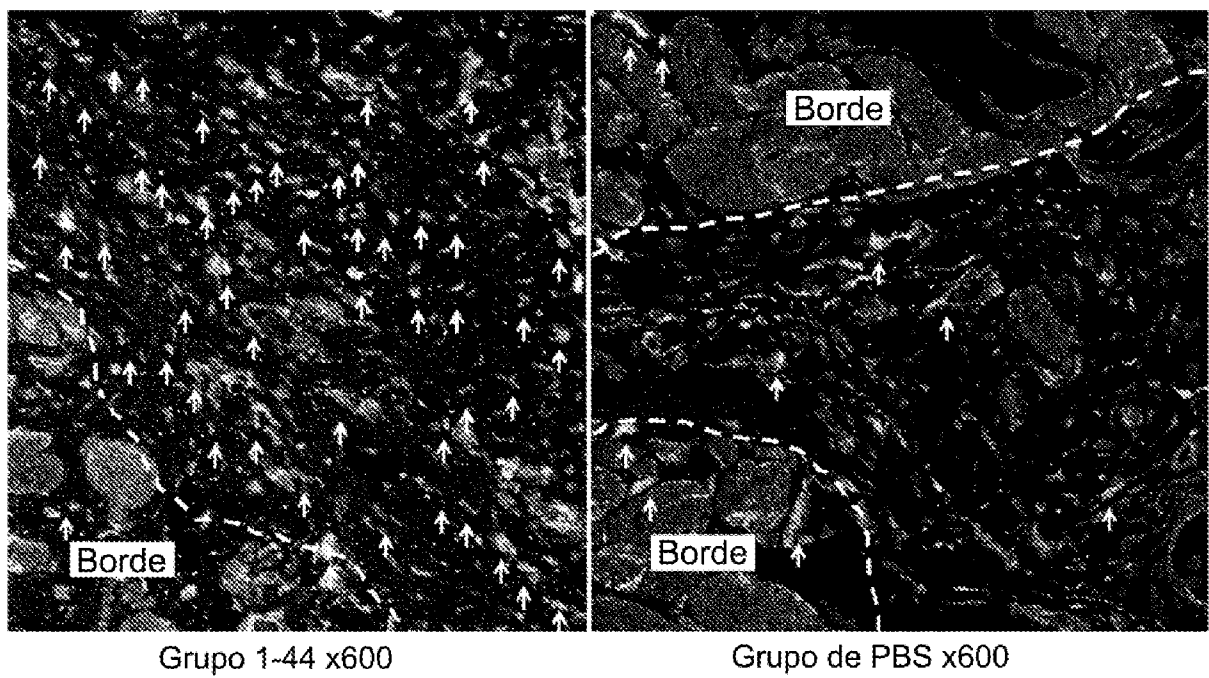


Figura 19

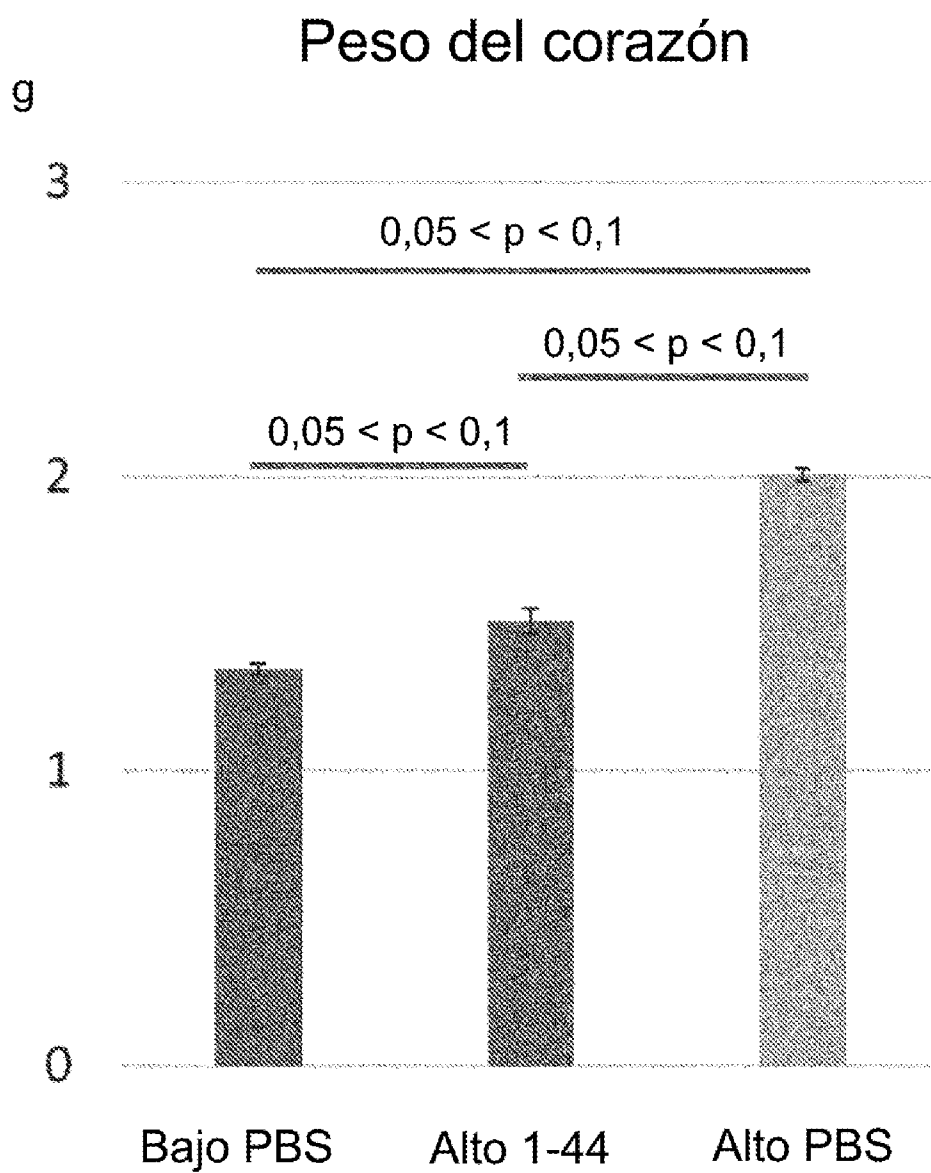


Figura 20

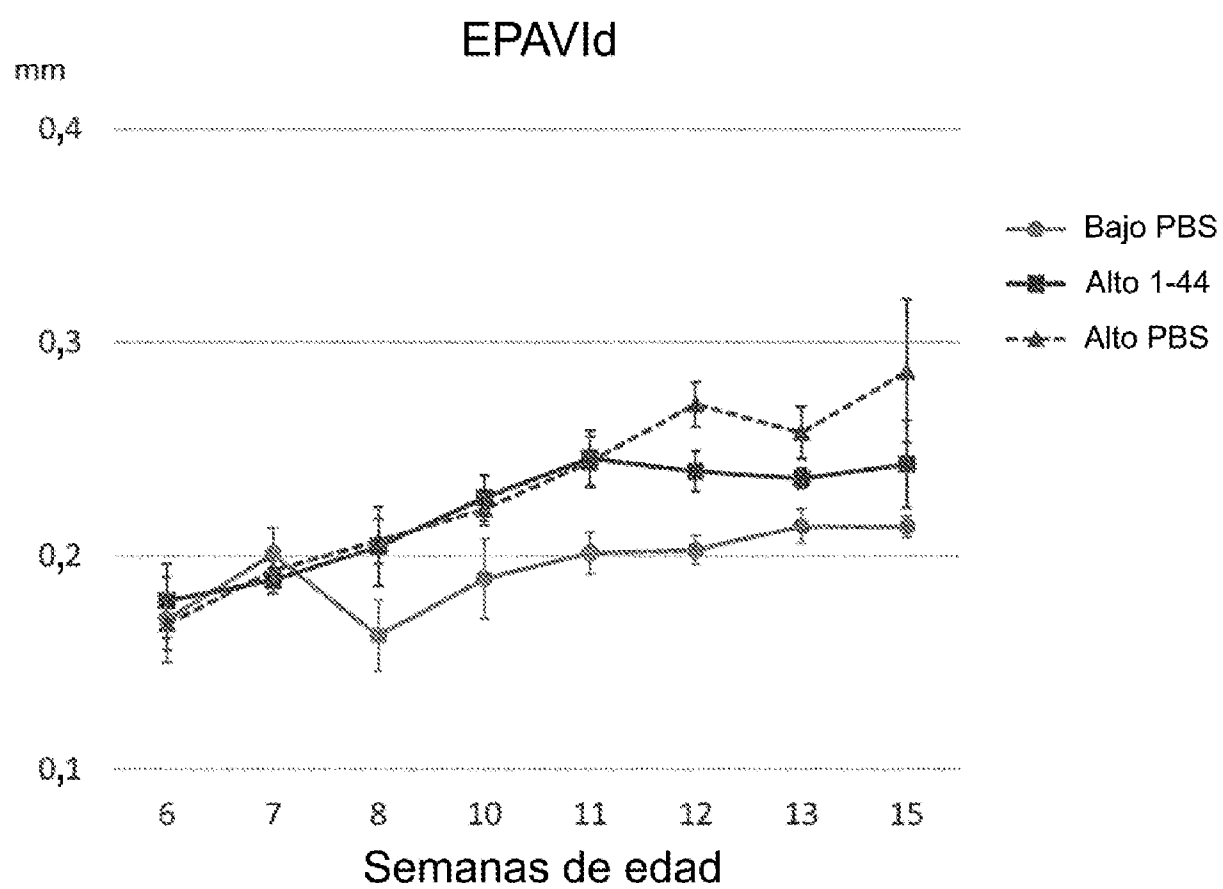
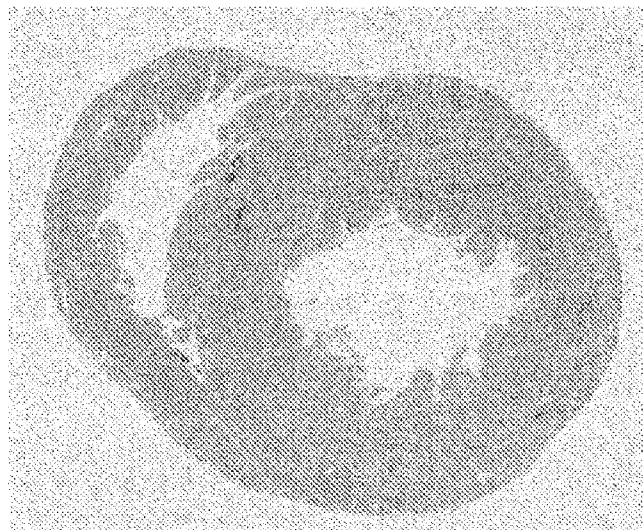


Figura 21

Tinción con rojo sirio

Bajo NaCl + PBS



Alto NaCl + 1-44



Alto NaCl + PBS



× 40

Figura 22

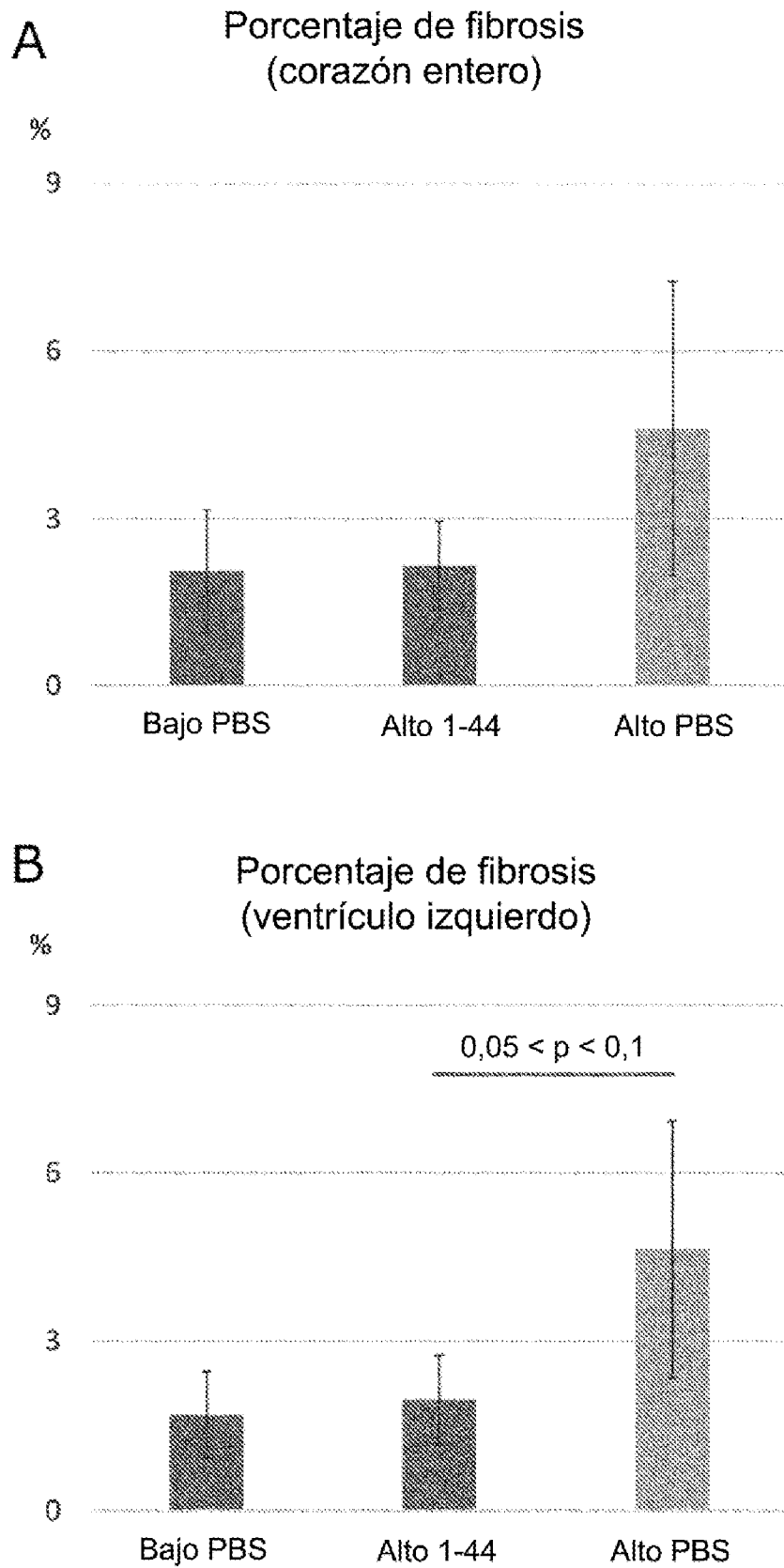


Figura 23