



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 269 825**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 38/12 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

A61P 41/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **02804721 .5**

(86) Fecha de presentación : **05.12.2002**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1461062**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **29.09.2004**

(54) Título: **Composición y procedimiento para el tratamiento del rechazo crónico de aloinjerto.**

(30) Prioridad: **05.12.2001 US 6562**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2007

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2007

(73) Titular/es: **THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE**
10550 North Torrey Pines Road
La Jolla, California 92037, US

(72) Inventor/es: **Salomon, Daniel, R. y**
Cramer, Donald, V.

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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

Composición y procedimiento para el tratamiento del rechazo crónico de aloinjerto.

5 **Antecedentes de la invención**

En la actualidad, un problema importante en el trasplante de órganos es el fracaso de las estrategias inmunosupresoras actuales para reducir significativamente el riesgo de rechazo en trasplantes de riñón, de corazón, de pulmón y de páncreas que se produce entre uno y dos años después del trasplante. Como resultado, los formidables éxitos conseguidos en la proporción de órganos trasplantados que sobreviven entre uno y dos años se pierden en el intervalo de entre cinco y diez años después del trasplante, intervalo en el que la mayoría de los pacientes, especialmente los que han recibido órganos donados de cadáveres, pierden la funcionalidad del órgano trasplantado.

15 *Patología del rechazo del aloinjerto*

Existen tres etapas generales en el rechazo del aloinjerto: hiperagudo, agudo y crónico. En general, el rechazo hiperagudo se produce durante las primeras horas después del trasplante. El rechazo agudo se produce generalmente entre los primeros 6 y 12 meses posteriores al trasplante y el rechazo crónico ocurre generalmente más tarde, normalmente uno o dos años después del trasplante.

20 Cada etapa del rechazo del aloinjerto presenta una histopatología característica. Es conocido que el rechazo hiperagudo se debe a la reacción de los anticuerpos en el riego sanguíneo del receptor del órgano en contra de éste. El rechazo hiperagudo resulta en la disfunción del órgano casi inmediatamente después del trasplante.

25 El rechazo agudo se caracteriza por una inflamación iniciada por una fuerte respuesta inmunológica, basada en las células T, contra los aloantígenos. Esta respuesta inmunológica basada en las células T puede ocurrir directamente, por reacción cruzada con las moléculas alogénicas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), o indirectamente, mediante la ruta más habitual de la reacción con fragmentos de péptidos alogénicos unidos a las moléculas MHC del huésped en células presentadoras de antígeno o en células alogénicas diana. Las células T no sólo inician la respuesta inmunológica, sino que actúan además como mediadores en las respuestas efectoras específicas de antígeno. Además, las células T secretan factores solubles para la regulación de la actividad de otros leucocitos. Por ejemplo, las células T ayudantes activadas producen interleuquinas, interferones gamma y leucotrienos. Esta cascada de inmunorreguladores estimula el ataque de los linfocitos T citotóxicos contra el aloinjerto. En el rechazo irreversible fatal para el aloinjerto, estas células linfoides citotóxicas dan paso finalmente a un mayor número de fagocitos y de trombocitos mononucleares. El resultado final de la unión de los trombocitos a las células endoteliales vasculares del aloinjerto es un flujo sanguíneo reducido, la trombosis microvascular y la necrosis. Häyry, P. *et al.*, Clin. Investig. 70:780-90, (1992).

En contraste con la patología endovascular del rechazo agudo, el rechazo crónico presenta, como característica principal, una inflamación perivascular persistente. A menudo, esta inflamación perivascular va acompañada de niveles relativamente reducidos de la actividad linfóide y de la arteriosclerosis del aloinjerto. De todas maneras, comparado con la arteriosclerosis ordinaria, definida normalmente por un engrosamiento focal y excéntrico de la capa intimal, la forma más común de arteriosclerosis del aloinjerto es concéntrica y presenta un engrosamiento generalizado de la capa intimal, en la que las células de músculo liso en la capa intimal se encuentran entremezcladas con diversas células T y macrófagos inflamatorios. Häyry, P. *et al.* Clin. Investig. 70:780-90, (1992). La arteriosclerosis del aloinjerto en el rechazo crónico afecta a todas las arterias intramurales hasta el nivel de las arteriolas. Entre otras características comunes del rechazo crónico se incluyen el estrechamiento de la capa media vascular y las roturas focales de la lámina elástica interna.

La evidencia de estudios acerca de la producción de citoquinas apoya asimismo la hipótesis de que el rechazo crónico caracterizado por la inflamación perivascular es el resultado de un nivel reducido de respuesta inmunológica que, de hecho, induce una lesión mínima persistente en el endotelio vascular del aloinjerto. En respuesta a esta lesión de los vasos del aloinjerto, las células endoteliales secretan factores de crecimiento, tales como el factor de crecimiento derivado de la plaqueta, el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento del fibroblasto básico y el factor de crecimiento beta transformador. Estos factores de crecimiento estimulan la proliferación de células de músculo liso y la migración de los miocitos desde la capa media hasta la capa intimal, donde forman la lesión arteriosclerótica Häyry, P. *et al.* Clin. Investig. 70:780-90, (1992).

60 *Tratamiento farmacéutico del rechazo del aloinjerto*

Es conocida una serie de fármacos inmunosupresores que se han utilizado para el tratamiento del rechazo del aloinjerto. Entre éstos se incluyen, por ejemplo, ciclosporina, azatioprina, FK-506, metilprednisolona, desoxipergualina, rapamicina y micofenilato. En la actualidad, la ciclosporina (CSA) forma la base de la mayoría de los protocolos inmunosupresores. De todas maneras, la efectividad del CSA resulta limitada debido a sus bien conocidos efectos secundarios, tales como su nefrotoxicidad y su hepatotoxicidad.

65 Con el fin de reducir dichos efectos secundarios tóxicos, la CSA normalmente se combina con otros fármacos inmunosupresores para reducir la dosis de CSA a niveles no tóxicos. Con esta fin, la CSA inicialmente se combinó con esteroides, tales como la metilprednisolona, y después en combinación con esteroides y azatioprina, conocida

como triple terapia de fármacos. De todas maneras, incluso los nuevos inmunosupresores más potentes, tales como FK-506, se han asociado a efectos secundarios tóxicos similares a los de CSA. Schmid, T. *et al.*, Eur. Surg. Res. 30:61-68, (1998).

- 5 Un fármaco relativamente nuevo, un análogo del nucleósido purina, la 2-clorodesoxiadenosina (2-CDA), ya ha sido utilizada como fármaco citotóxico para el tratamiento de la leucemia de las células pilosas, y de enfermedades autoinmunitarias, tales como la anemia hemolítica autoinmune y la esclerosis múltiple. Debido a su toxicidad hacia los linfocitos y los monocitos, la 2-CDA presenta asimismo propiedades inmunosupresoras. A pesar de que la 2-CDA por sí sola no presenta efectos de rechazo del aloinjerto, se sabe que actúa de manera sinérgica con la CSA para
10 mejorar el efecto inmunosupresor de la CSA cuando se utiliza en combinación para el tratamiento del rechazo agudo. Schmid T. *et al.*, Eur. Surg. Res. 30:61-68, (1998).

- Diversos estudios han demostrado que la utilización de 2-CDA en combinación con CSA puede mejorar la supervivencia del aloinjerto a corto plazo. Un estudio ha demostrado que la 2-clorodesoxiadenosina, en combinación con
15 la CSA reduce el rechazo posterior al trasplante del intestino delgado en ratas. En este estudio, las ratas receptoras del órgano que recibieron el trasplante del intestino delgado fueron sacrificadas diez días después del trasplante y el aloinjerto se examinó histológicamente. Las ratas tratadas con una combinación de 2-CDA y CSA no mostraron evidencia de rechazo al aloinjerto o mostraron únicamente evidencia de un rechazo moderado, caracterizado por una infiltración mucosa y submucosa por eosinófilos y ocasionalmente por linfocitos. De todas maneras, las ratas receptoras del órgano
20 no tratadas sólo con CSA o sólo con 2-CDA mostraron un rechazo entre moderado y severo, que incluía infiltraciones por linfocitos y granulocitos polimorfonucleares en la capa muscular y en la grasa subserosa del aloinjerto. Schmid T. *et al.*, Transplantation Proceedings 26:1614, (1994).

- Se consiguieron resultados similares en un segundo estudio con ratas que recibieron trasplantes de corazón. Los
25 aloinjertos de corazón examinados 10 días después del trasplante no mostraron evidencia de rechazo o mostraron evidencia de sólo un rechazo moderado. El rechazo moderado se caracterizaba por como mínimo dos focos de infiltración extensa linfocítica perivascular o intersticial sin necrosis de miocitos, o por un gran foco de infiltración, que incluía la distorsión de los miocitos. Las ratas receptoras de órgano tratadas sólo con CSA mostraron el mismo nivel de rechazo moderado o un rechazo moderado que se caracterizaba por múltiples infiltraciones linfocíticas grandes asociadas
30 con la distorsión de la arquitectura de los miocitos y/o con necrosis miocítica. Las ratas huésped tratadas sólo con 2-CDA mostraron un rechazo severo, caracterizado por infiltraciones extensas, al igual que en el rechazo moderado, incluyendo un número significativo de granulocitos y edema intersticial. Schmid, T. *et al.*, Eur. Surg. Res. 30:61-68, (1998).

- 35 Otro estudio describe que la supervivencia del aloinjerto en las ratas podía prolongarse mediante la administración de CSA conjuntamente con 2-CDA. Nawrocki G. *et al.*, Transplantation Proceedings 28:3538-39 (1996). Sin embargo, todos los animales murieron en los 33 días posteriores al trasplante y no se realizó una investigación de la patología asociada con el rechazo del aloinjerto.

- 40 Otro estudio describe que las ratas receptoras de órgano tratadas con 2-CDA y con CSA mostraron menos patologías relacionadas con el rechazo del aloinjerto que las mostradas por las ratas tratadas con sólo CSA noventa días después del trasplante. Cramer, D. V. *et al.*, Transplantation Proceedings 29:616 (1997). En este estudio, se puntuaron los descubrimientos histopatológicos, incluyendo la proliferación intimal vascular, la fibrosis perivascular, la inflamación del miocardio y la fibrosis de miocardio. Los receptores del aloinjerto tratados con CSA en combinación con 2-
45 CDA mostraron una reducción de la incidencia y de la severidad de la proliferación intimal vascular en comparación con los animales que no habían recibido tratamiento o con animales tratados únicamente con CSA.

- A pesar de que todos estos estudios sugieren que la administración de 2-CDA y de CSA podría limitar el rechazo agudo del aloinjerto y que, por lo tanto, podría resultar beneficioso en la mejora de las tasas de supervivencia a corto
50 plazo, ninguno de los estudios ha dado a conocer ni ha propuesto tratamientos eficaces para el rechazo crónico del aloinjerto.

- Por lo tanto, lo que se necesita es un procedimiento mejorado para la prevención o para la mejora del rechazo crónico del aloinjerto, incluyendo un procedimiento para la reducción de la arteriosclerosis asociada en humanos y animales
55 receptores de aloinjertos. También se necesitan composiciones farmacéuticas mejoradas que resulten adecuadas para la prevención o para la reducción del rechazo del aloinjerto crónico.

Sumario de la invención

- 60 La presente invención da a conocer la utilización de ciclosporina y de 2-clorodesoxiadenosina para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención del rechazo del aloinjerto crónico en un mamífero receptor de un aloinjerto, en el que la composición farmacéutica está destinada a la administración de entre un miligramo y 16 miligramos de ciclosporina por kilogramo de peso corporal del receptor por día, y entre 0,5 miligramos y 3 miligramos de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor por semana.

- 65 En las formas de realización preferidas, la ciclosporina se encuentra presente en la composición en una cantidad en peso comprendida entre siete y 224 veces la cantidad en peso de la 2-clorodesoxiadenosina. En una forma de realización, la composición farmacéutica se formula para la obtención de una dosis entre un miligramo y 16 miligramos

de ciclosporina por kilogramo de peso corporal del receptor. En una forma de realización, la composición farmacéutica se formula para la administración de 1 miligramo por kilogramo de peso corporal del receptor por semana de 2-clorodesoxiadenosina.

5 Preferentemente la composición se administra por vía subcutánea, oral o intravenosa.

En las formas de realización preferidas específicas, la composición farmacéutica se administra suministrando aproximadamente 5 miligramos de ciclosporina por kilogramo por día durante 2 semanas seguido de aproximadamente 5 miligramos por kilogramo de ciclosporina unas tres veces por semana. Preferentemente, la composición farmacéutica
10 está destinada a la administración para proporcionar la dosis diaria en dosis múltiples iguales o desiguales, preferentemente divididas en dos dosis iguales.

Breve descripción de los diagramas

15 La figura 1 muestra una fotomicrografía 40x de un corte del miocardio del corazón trasplantado procedente de una rata donante de cepa ACI a una rata huésped de cepa LEW ("Lewis") 90 días después del trasplante; el receptor recibió 5 mg de CSA por kilogramo de peso corporal por día durante dos semanas y 5 mg de CSA por kilogramo tres veces por semana hasta su sacrificio 90 días después del trasplante.

20 La figura 2 muestra fotomicrografías 100x de cortes de diferentes partes del miocardio mostrado en la figura 1.

La figura 3 muestra fotomicrografías 100x de cortes del miocardio de un trasplante procedente de una rata ACI en una rata LEW 90 días después del trasplante; el receptor recibió 5 mg de CSA por kilogramo de peso corporal por día durante dos semanas y posteriormente 5 mg de CSA por kilogramo tres veces por semana, y 1 mg por kilogramo de
25 2-CDA por semana, hasta su sacrificio 90 días después del trasplante.

La figura 4 muestra fotomicrografías 40x de los cortes de diferentes partes del miocardio mostrado en la figura
3.

30 La figura 5 muestra fotomicrografías 100x de cortes del miocardio de un trasplante de rata ACI a rata LEW 90 días después del trasplante; el receptor recibió 5 mg de CSA por kilogramo de masa corporal por día durante dos semanas y posteriormente 5 mg de CSA por kilogramo tres veces por semana y 1 mg/kg por semana de 2-CDA hasta el momento de su sacrificio 90 días después del trasplante.

35 La figura 6 muestra fotomicrografías 100x de los cortes de diferentes partes del miocardio mostrado en la figura 5.

La figura 7 muestra fotomicrografías 100x de cortes del miocardio de un trasplante de rata ACI a rata LEW 90 días después del trasplante; el receptor recibió 5 mg de CSA por kilogramo de masa corporal por día durante dos semanas y posteriormente 5 mg de CSA por kilogramo tres veces por semana y 1 mg/kg por semana de 2-CDA hasta el momento
40 de su sacrificio 90 días después del trasplante.

La figura 8 muestra fotomicrografías 40x de los cortes de diferentes partes del miocardio mostrado en la figura
7.

45 Descripción detallada de las formas de realización preferidas

En una realización, ventajosamente para facilitar la administración, la ciclosporina y la 2-clorodesoxiadenosina se combinan con por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable en una única composición farmacéutica.

50 Las composiciones farmacéuticas preparadas según la presente invención pueden administrarse a seres humanos y a otros mamíferos por vía oral, rectal, parenteral (por ejemplo por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (mediante polvos, pomadas o gotas), bucal o por medio de pulverizaciones orales o nasales. En las formas de realización específicas, la composición está destinada a la administración por vía subcutánea, oral o intravenosa. El término "mamífero" se refiere a cualquier elemento de la clase "mamífero",
55 incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, seres humanos, primates no humanos, tales como los chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja, tales como vacas, caballos, ovejas, cabras y cerdos; animales domésticos, tales como conejos, perros y gatos; animales de laboratorio, tales como roedores, ratas, ratones y cobayas, y similares. El término "mamífero" no se refiere a una edad o sexo particular.

60 Las composiciones farmacéuticas para la inyección parenteral comprenden soluciones estériles, acuosas o no acuosas, farmacéuticamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones, así como polvos estériles para su reconstitución en forma de soluciones estériles inyectables o dispersiones inmediatamente antes de su utilización. Entre los ejemplos de portadores acuosos o no acuosos, diluyentes, solventes o vehículos, se incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales
65 (tales como el aceite de oliva), y estéres orgánicos inyectables, tales como el oleato de etilo. Puede mantenerse una fluidez adecuada mediante el uso, por ejemplo, de materiales de recubrimiento, tales como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de surfactantes.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsificantes y agentes dispersantes. Puede garantizarse que se impide la acción de los microorganismos mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, tales como, por ejemplo, parabén, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede resultar deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro sódico y similares. Puede conseguirse una absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante la inclusión de agentes retardantes de la absorción, tales como el monoestearato de aluminio y la gelatina.

Si se desea, y con el fin de lograr una distribución más efectiva, los compuestos pueden incorporarse a sistemas de liberación lenta o a sistemas de administración dirigida, tales como las matrices poliméricas, los liposomas y las microesferas.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro supresor de bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones estériles sólidas que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril o en otros medios estériles inyectables inmediatamente antes de su utilización.

Entre las formas de dosificación sólidas para la administración oral se incluyen cápsulas, comprimidos, pastillas, polvos y granulados. En estas formas de dosificación sólida, el componente activo se mezcla con por lo menos un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable, tal como citrato sódico o fosfato de dicalcio y/o a) rellenos o extensores, tales como almidón, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y acacia, c) humectantes, tales como glicerol, d) agentes desintegrantes, tales como ágar-ágar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido alginico, determinados silicatos, y carbonato sódico, e) agentes retardantes de la disolución, tales como la parafina, f) aceleradores de la absorción, tales como los compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectante, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes, tales como el caolín y la arcilla de bentonita e i) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico, y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las pastillas, la forma de dosificación comprende asimismo agentes tamponadores.

Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden utilizarse también como relleno en cápsulas duras y blandas rellenas de gelatina utilizando excipientes, tales como lactosa o azúcar lácteo, así como polietilenglicol de peso molecular elevado, y similares.

Las formas de dosificación sólidas: comprimidos, grageas, cápsulas, pastillas y granulados pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como los recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de las formulaciones farmacéuticas. Pueden contener opcionalmente agentes opacificadores y pueden ser asimismo de una composición capaz de liberar únicamente los ingredientes activos, o preferentemente, de liberar los ingredientes activos en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, con un retardo. Entre los ejemplos de composiciones que pueden utilizarse se incluyen las sustancias poliméricas y las ceras.

Los compuestos activos pueden presentarse también en forma de microencapsulados, en su caso, comprendiendo uno o más de los excipientes anteriormente indicados.

Entre las formas de dosificación líquidas para la administración oral se incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los componentes activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua y otros solventes, agentes solubilizantes y emulsificantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular aceite de algodón, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de germen, aceite de oliva, aceite de ricino y aceite de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos con sorbitán y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, edulcorantes, agentes saborizantes y agentes aromáticos.

Además de los ingredientes activos, las suspensiones pueden contener agentes de suspensión, tales como, por ejemplo, alcohol isostearílico etoxilado, polioxietilén sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita ágar-ágar, tragacanto y mezclas de los mismos.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos utilizados en las composiciones farmacéuticas preparadas según la presente invención pueden modificarse para proporcionar una cantidad de compuestos activos que resulte efectiva para la obtención de la respuesta terapéutica deseada para un paciente, unas composiciones y una vía de administración particulares. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de la actividad del compuesto particular, de la vía de administración, de la severidad del estado tratado y del estado e historial médico del paciente tratado. De todas maneras, es práctica común en la técnica empezar un tratamiento con un nivel de dosificación de los compuestos inferior al requerido para obtener los efectos terapéuticos deseados e incrementar la dosificación hasta alcanzar el efecto deseado.

Convenientemente, la dosificación de 2-clorodesoxiadenosina es de aproximadamente 1 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por semana, dividido en una o más dosis por semana. En otra forma de realización, se administran aproximadamente 1,5 mg de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor del aloinjerto aproximadamente cada tres semanas en una o más dosis. En otra forma de realización, se administran aproximadamente 3 mg de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor del aloinjerto aproximadamente cada 3 semanas en una o más dosis.

En una forma de realización, la ciclosporina se administra en un régimen de aproximadamente 5 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día durante aproximadamente dos semanas seguido de aproximadamente 5 mg por kilogramo de peso corporal del receptor aproximadamente tres veces por semana. En este régimen de dosificación, la dosis diaria puede dividirse convenientemente en por lo menos dos dosis diarias iguales.

Ejemplo 1

15 Efecto del tratamiento sobre las poblaciones de glóbulos blancos

Los presentes inventores resumen brevemente los resultados histológicos de apariencia de los corazones trasplantados en el modelo de rata Lewis a rata F344 (Cramer, D. V., *et al.*, *Transplantation Proceedings*, 29:616 (1997)). Algunos estudios posteriores, descritos posteriormente, han examinado los efectos de un tratamiento concomitante de 20 CSA y 2-CDA sobre la cantidad de células T en circulación.

Las Tablas 1 a 5 presentan los datos relativos al número de células T, y al número de células de los subgrupos CD4+ y CD8+ de células T, en ratas Lewis sin tratamiento (control), y en ratas F344 bajo tratamiento, que habían recibido un corazón de rata Lewis, tras 14 y 90 días de tratamientos con diversas combinaciones de CSA y de 2-CDA. Las ratas del grupo 1 se trataron con la combinación de 2,5 mg/kg/día de CSA y 0,1 mg/kg/día de 2-CDA. Las ratas del grupo de tratamiento 2 se trataron con una combinación de 5 mg/kg/día de CSA y 0,1 mg/kg/día de 2-CDA. Las ratas del grupo de tratamiento 3 se trataron con una combinación de 5 mg/kg/día de CSA y 1 mg/kg/día de 2-CDA.

Leyenda para los grupos de tratamiento

Control (ratas Lewis no tratadas) = 1

Tratamientos experimentales	14 días	90 días
Grupo 1: 2,5 mg/kg/día CSA + 0,1 mg/kg/día 2-CDA	2	3
Grupo 2: 5 mg/kg/día CSA + 0,1 mg/kg/día 2-CDA	4	5
Grupo 3: 5 mg/kg/día CSA + 1 mg/kg/día 2-CDA	6	7

La significancia del efecto de los regímenes de tratamiento sobre los parámetros medidos se evaluó utilizando una prueba t de Student; los resultados de los análisis se presentan en la Tabla 6, posteriormente. El régimen de tratamiento administrado al grupo 3 (ver leyenda, anteriormente) produjo una reducción significativa, tanto a los 14 días como a los 90 días, del número de células linfoides, del número de células CD4+ y del número de células T, en comparación con los datos correspondientes a los animales de control. También se observó una reducción significativa del número de células CD4+ a los 14 días en el grupo 2. La reducción del número de células CD4+ en el grupo 2 a los 90 días y en el grupo 1 a los 90 días no alcanzó el nivel $P=0,05$ (0,065 y 0,067, respectivamente), quizás debido al menor tamaño de las muestras.

Algunos estudios anteriores que han utilizado este modelo de trasplante animal han resultado predictivos en relación a la eficacia de las terapias inmunosupresoras en el ser humano (por ejemplo, CSA, nicofenolato de mofetilo, rapamicina, CTLA-4). Por lo tanto, resulta previsible que la inmunosupresión basada en CSA con la administración crónica de 2-CDA prolongue la supervivencia del aloinjerto en el ser humano. Esta terapia incrementará la eficacia de la inmunosupresión en rechazos de grado reducido en curso, mejorando de manera segura el nivel general de inmunosupresión, dirigiéndose específicamente a los mecanismos mediados por los macrófagos y por anticuerpos/células B de manera más efectiva que las terapias actuales.

TABLA 1

Efecto de CSA + 2-CDA sobre las células T y sobre los subgrupos de células T CD4 y CD8

Control (Ratas Lewis no tratadas)

ID del animal	Días tras transp.	glóbulos blancos totales/mm ³	% linf.	nº linfocitos/mm ³	% CD4	nº células CD4/mm ³	% CD8	nº células CD8/mm ³	% células T	nº células T/mm ³	CD4/CD8	%HCT
L1	0	12.600	54	6.804	57,7	3.925	20,9	1.422	76,8	5.225	2,7	-
L2	0	6.000	62	3.720	61,2	2.276	16,5	613	84,8	3.150	3,7	-
L3	0	13.850	60	8.100	66,0	5.346	27,0	2.236	85,0	6.880	2,4	-
L4	0	14.450	57	8.236	62,8	5.173	24,6	2.026	85,0	7.001	2,55	-
L5	0	6.000	42	2.520	66,5	1.675	24,9	627	78,6	1.981	2,67	-
L6	0	5.800	30	1.740	53,7	934	23,4	407	82,1	1.428	2,3	44
L7	0	8.800	44	3.872	54,0	2.091	28,4	1.100	77,1	2.985	1,9	40
L8	0	13.900	42	5.838	56,9	3.322	19,3	1.127	77,3	4.513	2,95	46
L9	0	11.900	35	4.165	61,3	2.553	15,3	637	85,1	3.544	4,01	41
L10	0	18.500	-	-	61,6	-	23,5	-	89,1	-	2,62	-
L11	0	13.200	-	-	42,2	-	10,2	-	69,3	-	4,14	-
L12	0	5.100	-	-	52,9	-	22,7	-	71,6	-	2,33	42
L13	0	8.700	54	4.698	57,6	2.706	12,7	597	79,8	3.749	4,54	53

TABLA 2
Efecto de CSA + 2-CDA sobre las células T, y sobre los subgrupos de células T CD4 y CD8
GRUPO 1: 2,5 mg/kg/día de CSA + 0,1 mg/kg/día de 2-CDA

ID del animal	Días tras transp.	glóbulos blancos totales/mm ³	% linf.	nº linfocitos/mm ³	% CD4	nº células CD4/mm ³	% CD8	nº células CD8/mm ³	% células T	nº células T/mm ³	CD4/CD8	%HCT
F1*	14	7.350	65	4.777	56,5	2.698	34,4	1.643	81,2	3.877	1,64	-
F2	14	6.700	60	4.020	55,6	2.235	32,6	1.310	77,6	3.119	1,71	-
F3	14	11.000	42	4.620	49,0	2.264	36,7	1.695	72,3	3.340	1,33	-
F4	14	10.000	40	4.000	48,6	1.944	39,0	1.501	68,5	2.700	1,24	-
F5	14	5.350	62	3.317	50,3	1.668	37,9	1.257	70,5	2.339	1,33	-
F1REJ	22	9.550	36	3.582	55,7	1.995	29,8	1.067	83,3	2.984	1,87	38
F2REJ	28	9.900	46	4.554	64,4	2.932	22,6	1.029	89,9	4.094	2,8	43
F2	90	7.100	42	2.982	42,8	1.276	23,7	707	73,2	2.183	1,8	43
F3	90	5.800	50	2.900	43,6	1.264	24,5	710	69,0	2.001	1,78	43
F4	90	8.600	32	2.752	42,3	1.164	25,5	702	66,7	1.836	1,66	45

TABLA 3

Efecto de CSA + 2-CDA sobre las células T y sobre los subgrupos de células T CD4 y CD8

GRUPO 2: 5 mg/kg/día de CSA + 0,1 mg/kg/día de 2-CDA

ID del animal	Días tras transp.	glóbulos blancos totales/mm ³	% linf.	n° linfocitos/mm ³	% CD4	n° células CD4/mm ³	% CD8	n° células CD8/mm ³	% células T	n° células T/mm ³	CD4/CD8	%HCT
F6+	14	12.500	50	6.250	32,2	2.012	20,7	1.293	58,1	3.631	1,55	40
F9+	14	13.000	37	4.810	44,9	2.159	24,6	1.183	68,6	3.299	1,82	34
F10+	14	11.100	41	4.551	39,4	1.793	22,5	1.123	59,0	2.685	1,75	35
F11+	14	11.800	35	4.130	32,7	1.350	25,1	1.036	60,3	2.490	1,3	41
F12+	14	9.200	33	3.036	39,5	1.199	18,9	574	73,1	2.189	2,09	39
F13	14	10.300	35	3.605	44,2	1.593	27,3	984	73,1	2.635	1,62	37
*F6	90	15.400	35	5.390	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-
*F10	90	11.400	45	5.130	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-
F11	90	6.300	49	3.087	41,8	1.290	8,9	275	72,6	2.242	4,69	-
F12	90	7.700	45	3.465	38,2	1.324	11,2	388	72,2	2.502	3,41	-
F13	90	5.000	50	2.500	45,6	1.140	13,1	328	76,9	1.923	3,48	-

ND = No disponible

TABLA 4
Efecto de CSA + 2-CDA sobre las células T y sobre los subgrupos de células T CD4 y CD8
GRUPO 3: 5 mg/kg/día de CSA + 1 mg/kg/día de 2-CDA

ID del animal	Días tras transp.	glóbulos blancos totales/mm ³	% linf.	n° linfocitos/m ³	% CD4	n° células CD4/mm ³	% CD8	n° células CD8/mm ³	% células T	n° células T/mm ³	CD4/CD8	%HCT
F18	14	5.300	26	1.378	54	744	28,9	398	66,2	912	1,87	43
F19	14	6.500	36	2.340	53,1	1.243	28	655	64,2	1.502	1,89	43
F20+	14	6.700	27	1.809	47,2	854	23,4	423	58,2	1.053	2,02	43
F21+	14	6.000	22	1.320	54,5	719	29,6	391	61,3	809	1,84	40
F19	90	8.700	56	2.296	35,2	808	16,6	381	54,1	1.242	2,12	45
F20	90	4.100	49	1.470	34,6	509	15,6	229	48,3	710	2,21	43
*F21	90	2.500	57	1.425	34,8	496	17	242	50,8	724	2,05	25

*Sangre coagulada

TABLA 5

Efecto de CSA + 2-CDA sobre las células T y sobre los subgrupos de células T CD4 y CD8

Resumen [Media $\pm$ S.E.M.(N)]

Clave		glóbulos biancos totales/mm ³	% linf.	n° linfocitos /mm ³	% CD4	n° células CD4/mm ³	% CD8	n° células CD8/mm ³	% células T	n° células T/mm ³	CD4/CD8
1	Lewis Simple	10.677 $\pm$ 4.218 (13)	48 $\pm$ 11 (10)	4.969 $\pm$ 2.234 (10)	58 $\pm$ 6,5 (13)	3.000 $\pm$ 1.447 (10)	20,7 $\pm$ 5,6 (13)	1.079,2 $\pm$ 637,4 (10)	80,1 $\pm$ 5,7 (13)	4.045,6 $\pm$ 1.878,5 (10)	3,0 $\pm$ 0,8 (10)
2	Grupo 1 14 días	8.080 $\pm$ 2.351 (5)	53,8 $\pm$ 11,8 (5)	4.146,8 $\pm$ 580,4 (5)	52 $\pm$ 3,8 (5)	2.162 $\pm$ 386 (5)	36,1 $\pm$ 2,6 (5)	1.481 $\pm$ 195 (5)	74,0 $\pm$ 5,3 (5)	3.075 $\pm$ 591 (5)	1,45 $\pm$ 0,21 (5)
3	Grupo 1 90 días	7.167 $\pm$ 1.401 (3)	41,3 $\pm$ 9,0 (3)	2.878 $\pm$ 1.16,6 (3)	42,9 $\pm$ 0,7 (3)	2.135 $\pm$ 62 (3)	24,6 $\pm$ 0,9 (3)	706 $\pm$ 4 (3)	69,6 $\pm$ 3,3 (3)	2.007 $\pm$ 174 (3)	1,75 $\pm$ 0,08 (3)
4	Grupo 2 14 días	11.317 $\pm$ 1.416 (6)	38,5 $\pm$ 6,3 (6)	4.397 $\pm$ 1.112 (6)	38,8 $\pm$ 5,4 (6)	1.684 $\pm$ 374 (6)	23,2 $\pm$ 3,1 (6)	1.032 $\pm$ 250 (6)	65,2 $\pm$ 6,8 (6)	2.822 $\pm$ 538 (6)	1,69 $\pm$ 0,27 (6)
5	Grupo 2 90 días	9.160 $\pm$ 4.230 (5)	44,8 $\pm$ 5,9 (5)	3.914 $\pm$ 1.279 (5)	41,9 $\pm$ 3,7 (3)	1.251 $\pm$ 97,9 (3)	11,1 $\pm$ 2,1 (3)	330 $\pm$ 56,5 (3)	73,9 $\pm$ 2,6 (3)	2.222 $\pm$ 290 (3)	3,86 $\pm$ 0,72 (3)
6	Grupo 3 14 días	6.125 $\pm$ 624 (4)	27,8 $\pm$ 5,9 (4)	1.712 $\pm$ 472 (4)	52,2 $\pm$ 3,4 (4)	890 $\pm$ 243 (4)	27,5 $\pm$ 2,8 (4)	467 $\pm$ 126 (4)	62,5 $\pm$ 3,5 (4)	1.069 $\pm$ 306 (4)	1,91 $\pm$ 0,08 (4)
7	Grupo 3 90 días	5.100 $\pm$ 3.219 (3)	54 $\pm$ 4,4 (3)	1.730 $\pm$ 490 (3)	34,9 $\pm$ 0,3 (3)	604 $\pm$ 177 (3)	16,4 $\pm$ 0,7 (3)	284 $\pm$ 84 (3)	51,1 $\pm$ 2,9 (3)	892 $\pm$ 303 (3)	2,1 $\pm$ 0,1 (3)

TABLA 6:
Resumen de los resultados de las pruebas "T" de Student

Glóbulos blancos			
Media del número de linfocitos			
Control versus	Control versus	Control versus	Control versus
Grupo 1 14 días	Grupo 2 14 días	Grupo 2 90 días	Grupo 3 90 días
Valor T 1,286	Valor T -0,357	Valor T 0,683	Valor T 2,104
Valor P 0,217	Valor P 0,725	Valor P 0,504	Valor P 0,052
D.F. 16	D.F. 17	D.F. 16	D.F. 15
Media del número de células CD4			
Control versus	Control versus	Control versus	Control versus
Grupo 1 14 días	Grupo 1 90 días	Grupo 2 14 días	Grupo 3 14 días
Valor T 1,251	Valor T 1,580	Valor T 0,582	Valor T 2,838
Valor P 0,238	Valor P 0,143	Valor P 0,349	Valor P 0,015
D.F. 13	D.F. 11	D.F. 14	D.F. 12
Media del número de células T			
Control versus	Control versus	Control versus	Control versus
Grupo 1 14 días	Grupo 1 90 días	Grupo 2 14 días	Grupo 3 14 días
Valor T -1,356	Valor T 0,982	Valor T 0,171	Valor T 1,863
Valor P 0,198	Valor P 0,347	Valor P 0,867	Valor P 0,087
D.F. 13	D.F. 11	D.F. 14	D.F. 12
D.F. Grados de Libertad			
Control versus	Control versus	Control versus	Control versus
Grupo 1 14 días	Grupo 1 90 días	Grupo 2 14 días	Grupo 3 14 días
Valor T 1,110	Valor T 1,821	Valor T 1,539	Valor T 3,079
Valor P 0,287	Valor P 0,095	Valor P 0,146	Valor P 0,01
D.F. 13	D.F. 11	D.F. 14	D.F. 12
D.F. Grados de Libertad			
Control versus	Control versus	Control versus	Control versus
Grupo 1 14 días	Grupo 1 90 días	Grupo 2 14 días	Grupo 3 14 días
Valor T 1,110	Valor T 1,821	Valor T 1,539	Valor T 3,079
Valor P 0,287	Valor P 0,095	Valor P 0,146	Valor P 0,01
D.F. 13	D.F. 11	D.F. 14	D.F. 12

Ejemplo 2

Se utilizó un modelo de trasplante cardíaco de rata ACI-LEW para someter a ensayo la capacidad del 2-CDA para suprimir el rechazo crónico del aloinjerto.

Los animales se dividieron en cinco grupos de tratamiento, tal como se muestra a continuación:

Grupo	Régimen de Tratamiento
A	Grupo de dosificación de CSA
B	5 mg/kg/día de 2-CDA los días 1 a 14, después 3 veces por semana hasta los 90 días
C	1 mg/kg/semana de 2-CDA durante 90 días + 5 mg/kg/día de CSA
D	1 mg/kg de 2-CDA en los días 3, 4, 5, 23, 24, 25, 43, 44, 45, 63, 64, 65, 83, 84 y 85 después del trasplante, más 5 mg/kg/día de CSA
E	0,5 mg/kg de 2-CDA los días 3, 4, 5, 23, 24, 25, 43, 44, 45, 63, 64, 65, 83, 84 y 85 después del trasplante, más 5 mg/kg/día de CSA

Los animales se sacrificaron 90 días después del trasplante. Los aloinjertos se sometieron a una evaluación que incluía la cuantificación del nivel de presencia de las siguientes patologías típicamente asociadas al rechazo crónico del aloinjerto en los modelos de aloinjerto: infiltración miocárdica (MI), fibrosis miocárdica (MF) y proliferación intimal (IP).

Cada una de estas patologías se encuentra asociada a la enfermedad vascular de la arteriosclerosis del trasplante. Las Tablas 7 y 8, a continuación, resumen las conclusiones.

TABLA 7

Resumen de los resultados histológicos

Grupo	N	Puntuación histológica*		
		MI	MF	IP
A	4	++++	+	+++
B	4	+++	+	+++
C	4	+	-	+
D	4	++	+	+++
E	4	++	+	+++

*Las puntuaciones histológicas representan puntuaciones de grado medias dentro de un grupo.

TABLA 8

Resultados del análisis cuantitativo de infiltrados inflamatorios miocárdicos

Grupo	N	Infiltrados/mm ² Media $\pm$ 1 SD	Valor P*
B	4	4.197,7; 3.465,1; 3.613,9; 3.359,5 (3.595,4 $\pm$ 404,6)	-----
C	4	1.291,0; 3.069,12; 1.132,89; 1.545,0 (1.759,5 $\pm$ 889,5)	0,0077
D	4	2.942,0; 3.444,89; 2.894,3; 2.842,3 (3.030,9 $\pm$ 278,9)	0,0359
E	4	2.978,1; 3.207,9; 2.345,2; 2.796,1 (2.831,8 $\pm$ 365,6)	0,0195

*Prueba "T" de Student para muestras independientes. Todos los grupos se compararon con el grupo de control.

Las figuras 1 y 2 muestran fotomicrografías del miocardio de uno de los animales del grupo B, que muestra que los animales tratados únicamente con CSA presentaban un cuadro histológico consistente con el rechazo severo crónico, incluyendo la infiltración intensiva de células mononucleares en el miocardio y lesiones vasculares prominentes de arteriosclerosis del trasplante.

En contraste, las figuras 3, 4, 5, 6, 7 y 8 muestran fotomicrografías del miocardio de tres animales del grupo C, que se trató con 5 mg/kg/día de CSA durante 2 semanas y posteriormente con 5 mg/kg tres veces por semana y con 1 mg/kg/semana de 2-CDA, presentando únicamente una infiltración moderada de linfocitos en el miocardio y un desarrollo limitado de la arteriosclerosis del trasplante. Uno de los animales del grupo C presentó un rechazo crónico del aloinjerto de corazón entre moderado y severo. El estado del corazón injertado se deterioró 60 días después del trasplante.

Los resultados obtenidos en los grupos D y E indican la efectividad relativa de la administración de 2-CDA en un programa de intervalos de dosificación en comparación con una dosis semanal única.

Estos estudios proporcionan evidencia de la eficacia de la presente invención para la utilización concomitante de inmunosupresores basados en CSA con la administración crónica de 2-CDA en la prevención del rechazo vascular crónico tras el trasplante de un órgano vascularizado. Los animales de ensayo toleraron la terapia sin muertes ni complicaciones evidentes.

Estos resultados demuestran que la cantidad efectiva de CSA era de aproximadamente 5 mg por kilogramo de peso corporal del receptor del aloinjerto por día durante dos semanas y posteriormente de 5 mg por Kilogramo de peso corporal del receptor tres veces por semana.

En general, los niveles reales de dosificación de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas preparadas según la presente invención pueden variarse con el fin de proporcionar una cantidad de los compuestos activos que resulte efectiva para obtener la respuesta terapéutica deseada para un paciente, una composición y un modo de administración particulares. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de la actividad del compuesto particular, de la vía de administración, de la severidad del estado que debe tratarse y del estado e historial médico del paciente que debe tratarse. Sin embargo, se encuentra comprendido dentro de los conocimientos de un experto en la materia iniciar un tratamiento con un nivel de dosificación de los compuestos inferior al requerido para obtener los efectos terapéuticos deseados e incrementar la dosificación hasta alcanzar el efecto deseado. En general, un punto de inicio para dosificaciones humanas comparables de CSA puede obtenerse de un estudio de 1994 de los centros de trasplantes de los Estados Unidos: 9 ± 3 mg/kg/día (media $\pm$ S.D.) para pacientes de trasplante renal, 8 ± 4 mg/kg/día para pacientes de trasplante de hígado y 7 ± 3 mg/kg/día para pacientes de trasplante de corazón Physicians Desk Reference, 52ª edición, páginas 1882-1890, en página 1887 (1998).

El presente estudio ha demostrado que la dosis más efectiva de 2-CDA es de 1 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por semana. Entre otras dosis efectivas se incluyen: 0,5 y 1,0 mg/kg en los días 3-5, 23-25, 43-45, 63-65 y 83-85 posteriores al trasplante ("PTX"). Estas dosis se encuentran comprendidas en el intervalo de aproximadamente 1,5 a 3 mg/kg de peso corporal del receptor cada 3 semanas, de o aproximadamente 0,5 a 1,0 mg/kg/semana.

Tal como se ha indicado anteriormente, un experto en la materia podrá modificar fácilmente las dosificaciones de 2-CDA en relación a las dosificaciones de CSA pacientes humanos con el fin de obtener el efecto terapéutico deseado.

Ejemplo 3

Un ensayo en seres humanos de la utilización de CSA combinado con 2-CDA en pacientes con trasplantes de hígado implica un estudio aleatorio, prospectivo, no ciego de 150 personas. Durante un periodo de dos años, 100 pacientes reciben 2-CDA en combinación con CSA, mientras que 50 pacientes reciben otros controles de inmunosupresión. El 2-CDA se administra cada semana a una dosis basada en ensayos clínicos que utilizaban 2-CDA para el tratamiento de la esclerosis múltiple y de la artritis reumatoide. La dosis puede administrarse por vía subcutánea u oral. Se administra la inmunosupresión concomitantemente con ciclosporina. Los pacientes de control se mantienen bajo terapia con ciclosporina y prednisona en dosificaciones determinadas como óptimas para cada paciente basándose en protocolos conocidos.

Se mide el cambio de la función renal durante los dos años, incluyendo la pérdida de aloinjerto y el criterio de valoración clínica. Se miden los niveles de creatinina en suero cada 3 meses y de la pendiente de la creatinina en mg/dl/mes. Se realizan mediciones de la eliminación de la creatinina y de la excreción de proteínas en las muestras en serie de orina de 24 horas, cada seis meses. Se examinan las biopsias inicial y final, y se puntúan mediante el esquema "Banff 1997 Pathology Scheme" para la fibrosis intersticial, los cambios arteriolares y la esclerosis glomerular. Entre las mediciones adicionales se incluyen los recuentos de sangre y los perfiles de células T (CD4/CD8).

REIVINDICACIONES

1. Utilización de la ciclosporina y de la 2-clorodesoxiadenosina para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención del rechazo crónico de aloinjerto en un mamífero receptor del aloinjerto, en la que la composición farmacéutica está destinada a administrar entre un miligramo y 16 miligramos de ciclosporina por kilogramo de peso corporal del receptor por día y entre 0,5 miligramos y 3 miligramos de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor por semana.

2. Utilización según la reivindicación 1, en la que la ciclosporina se encuentra presente en una cantidad en peso que se encuentra comprendida en el intervalo entre 7 y 224 veces la cantidad en peso de la 2-clorodesoxiadenosina.

3. Utilización según la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica se formula para proporcionar entre un miligramo y 16 miligramos de ciclosporina por kilogramo de peso corporal del receptor por dosis.

4. Utilización según la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica está destinada a administrar un miligramo de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor por semana.

5. Utilización según la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica está destinada a administrar 0,5 miligramos de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor por semana.

6. Utilización según la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica está destinada a administrar entre 1,5 miligramos y 3 miligramos de 2-clorodesoxiadenosina por kilogramo de peso corporal del receptor cada tres semanas.

7. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición farmacéutica debe administrarse en dosis múltiples para proporcionar la dosis diaria.

8. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición farmacéutica debe administrarse subcutáneamente, oralmente o intravenosamente.

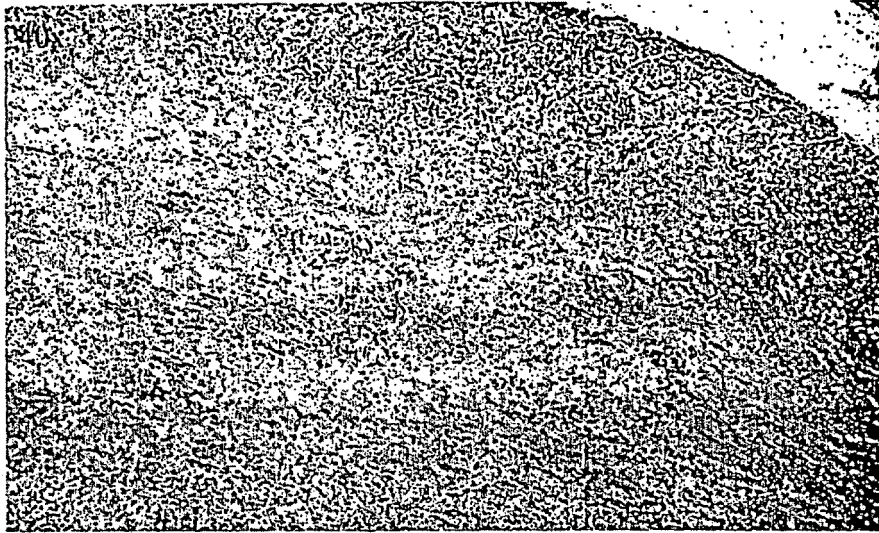


Fig. 1

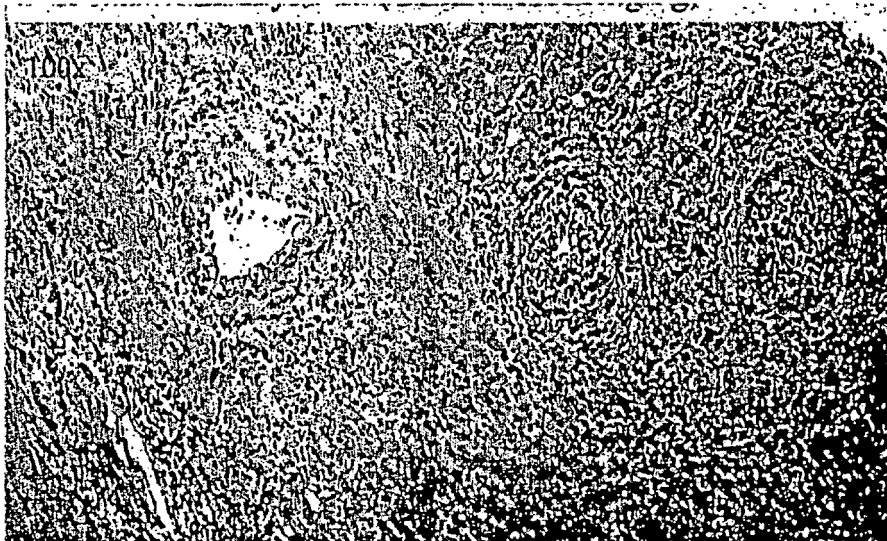


Fig. 2

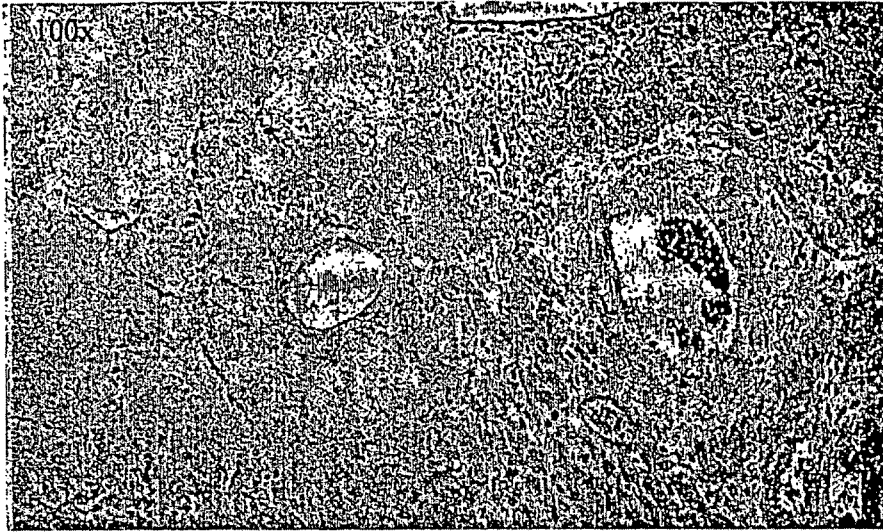


Fig. 3



Fig. 4

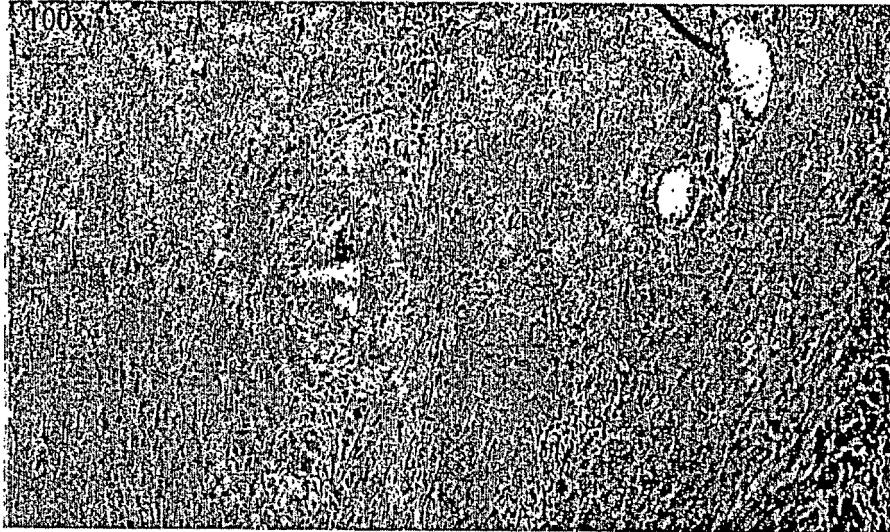


Fig. 5

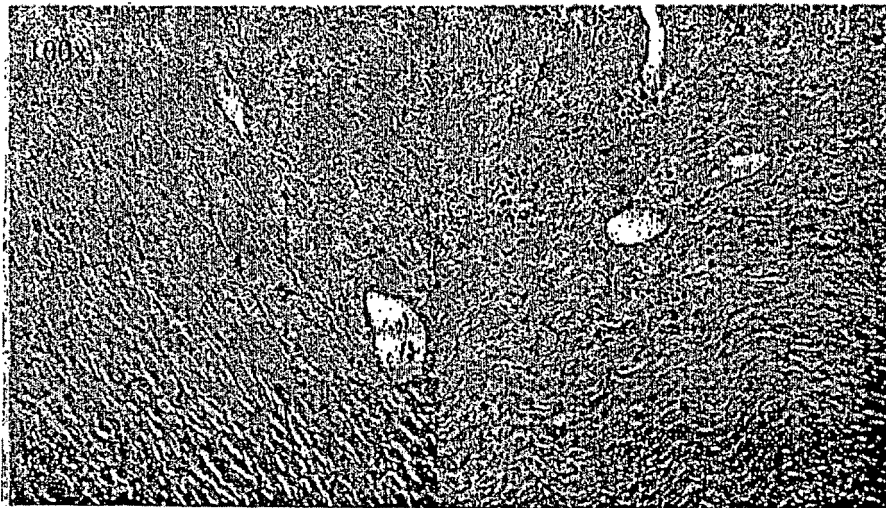


Fig. 6

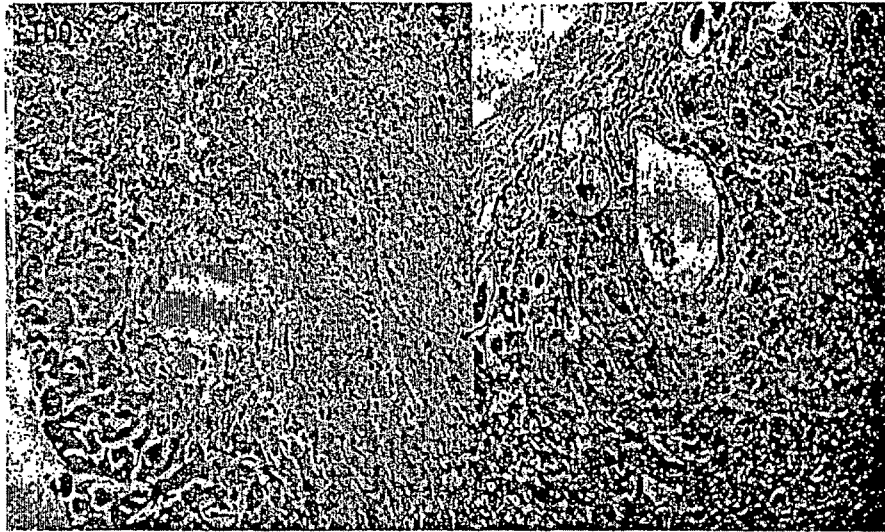


Fig. 7

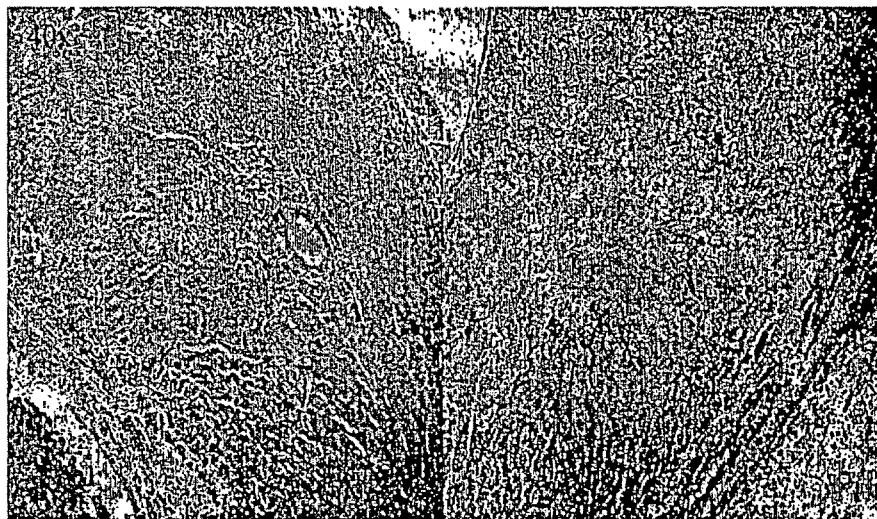


Fig. 8