

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 941 347**

51 Int. Cl.:

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/395 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

A61P 27/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.10.2016** **PCT/US2016/056987**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.04.2017** **WO17066529**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.10.2016** **E 16856248 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.01.2023** **EP 3362063**

54 Título: **Estatinas en dosis altas para la degeneración macular relacionada con la edad**

30 Prioridad:

14.10.2015 US 201562241522 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
22.05.2023

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**VAVVAS, DEMETRIOS y
MILLER, JOAN W.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

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

ES 2 941 347 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

Estatinas en dosis altas para la degeneración macular relacionada con la edad

5 Campo técnico

Esta divulgación se refiere a materiales y métodos de uso de estatinas en dosis altas para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad.

10 Antecedentes

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una enfermedad heterogénea multifactorial, de la que se han notificado al menos 100 genes de riesgo diferentes en la literatura y con varios fenotipos diferentes, incluyendo los tipos y el tamaño de las drusas (Miller, 2013 Am J Ophthalmol 155(1):1-35.e13). La DMAE es la principal causa de pérdida irreversible de la visión en el mundo desarrollado y se clasifica ampliamente en la forma atrófica o "seca" y la forma neovascular o "húmeda".

Sumario

20 De acuerdo con la presente invención, se proporciona una estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas.

25 En el presente documento se describen materiales y métodos para el uso de estatinas en dosis altas para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad. Existen tratamientos antiangiogénicos eficaces para la DMAE neovascular, pero faltan tratamientos efectivos para la forma seca más prevalente.

30 En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrarle una estatina en dosis altas. La estatina en dosis altas es eficaz para provocar una regresión de las drusas en el paciente. El método puede incluir la monitorización del paciente para la regresión de las drusas. La regresión de LAS drusas puede ser una reducción del tamaño de las drusas de al menos un 85 % o una regresión completa.

35 En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrarle una estatina en dosis altas. La estatina en dosis altas es eficaz para prevenir la atrofia del epitelio pigmentario de la retina (EPR) en el paciente.

40 En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrarle una estatina en dosis altas. La estatina en dosis altas es eficaz para prevenir la atrofia de uno o más fotorreceptores en el paciente.

En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrarle una estatina en dosis altas. La estatina en dosis altas es eficaz para prevenir la atrofia geográfica.

45 En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrarle una estatina en dosis altas. La estatina en dosis altas es eficaz para prevenir la pérdida de visión en el paciente.

50 En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrar al paciente una estatina en dosis altas, en donde la estatina en dosis altas es eficaz para mejorar la agudeza visual del paciente. La agudeza visual se puede mejorar en al menos 3 letras. La agudeza visual se puede mejorar en al menos 12 letras.

55 En el presente documento se desvela un método para tratar la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente. El método incluye identificar al paciente con DMAE y administrarle una estatina en dosis altas. La estatina en dosis altas es eficaz para prevenir la progresión a DMAE húmeda en el paciente.

60 En cualquiera de los métodos desvelados en el presente documento, el paciente puede ser un mamífero. Por ejemplo, el paciente puede ser un ser humano. En algunas realizaciones, el ser humano tiene drusas blandas y grandes y/o DEP drusenoides en uno o ambos ojos.

65 En cualquiera de los métodos desvelados en el presente documento, la estatina en dosis altas se puede administrar durante al menos 12 meses. En algunas realizaciones, la estatina en dosis altas se puede administrar durante al menos 36 meses.

En cualquiera de los métodos desvelados en el presente documento, la estatina en dosis altas se puede administrar

por vía oral.

La estatina en dosis altas para su uso en la presente invención es al menos 40 mg de atorvastatina al día, 0,4 mg de cerivastatina al día, 120 mg de fluvastatina al día, 90 mg de lovastatina al día, 4 mg de pitavastatina al día, 60 mg de pravastatina al día, 20 mg de rosuvastatina al día o 60 mg de simvastatina al día. En algunas realizaciones, la estatina en dosis altas puede incluir una dosis equivalente de al menos 80 mg de atorvastatina. La estatina en dosis alta puede ser de al menos 80 mg de atorvastatina.

En cualquiera de los métodos desvelados en el presente documento, el método puede incluir además la administración de un agente terapéutico adicional seleccionado entre el grupo que consiste en un agente antiinflamatorio, un agente antiangiogénico, un agente antioxidante, un ácido graso omega-3 y una vitamina/mineral.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y/o científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto habitual en la materia a la que pertenece la divulgación. Los métodos y materiales se describen en el presente documento para su uso en la presente divulgación; otros, también se pueden utilizar métodos y materiales adecuados conocidos en la técnica. Los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Adicionalmente, los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en los dibujos adjuntos y en la descripción a continuación. Otras características, objetos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y los dibujos y de las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

La Figura 1 es una serie de imágenes de fondo de ojo. Al comienzo del ensayo, se observan grandes drusas blandas grandes confluentes bilaterales y alteraciones pigmentarias (fila superior). La administración de complementos del Estudio de enfermedades oculares relacionadas con la edad (AREDS) no afectó a las drusas (fila central). Seis meses después de 80 mg de atorvastatina, se aprecia la desaparición de las drusas (fila inferior).

La figura 2 es una tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT). Al comienzo de la prueba, se observan distorsión arquitectónica del EPR y del fotorreceptor (fila superior). Después de seis meses de 80 mg de atorvastatina, se aprecia desaparición completa de las drusas (Figura 1) sin atrofia del EPR acompañante (fila inferior).

La figura 3 muestra que las estatinas lipofílicas aumentan la función fagocítica de las células AEPR-19. (A-C) son imágenes de microscopía de células AEPR-19 que se incubaron con microesferas de carboxilato (5×10^7 esferas/ml) durante 6 horas y luego se tomaron imágenes usando una microscopía confocal recolectando una pila de 50 imágenes. (A) Una pila de imágenes confocales que muestra perlas marcadas con fluoresceína y células AEPR-19 con núcleos marcados con DAPI. La profundidad de la imagen A dentro de la pila se indica mediante líneas azules en B y C. (B) es una vista a través de la misma pila en el lugar indicado por la línea vertical en A. (C) es una vista a través de la misma pila en el lugar indicado por la línea horizontal en A. (D) es un gráfico que muestra un porcentaje de células fagocíticas, representado por células positivas para esferas o eje Y, y el índice fagocítico, representado por la intensidad de la fluorescencia o el eje X, según lo determinado por citometría de flujo de células AEPR-19 incubadas con microesferas de carboxilato marcadas con fluoresceína y tratadas durante 6 horas con 50 μ M de atorvastatina (ATV), lovastatina (LOV) o simvastatina (SIMV) (E) es un gráfico que cuantifica el porcentaje de células fagocíticas. (F) es un gráfico que cuantifica la intensidad media de fluorescencia (o índice fagocítico). Los datos se expresan como media \pm SE. * $p < 0,05$ frente al grupo de control.

La figura 4 contiene gráficos que muestran que la atorvastatina aumenta la función fagocítica de las células AEPR-19. (A) Porcentaje de células fagocíticas, representado por células positivas para esferas o eje Y, y el índice fagocítico, representado por la intensidad de la fluorescencia o el eje X, según lo determinado por citometría de flujo de células AEPR-19 incubadas con microesferas de carboxilato marcadas con fluoresceína y tratadas durante 6 horas con atorvastatina 1, 25, 50 o 75 μ M (B) Cuantificación del porcentaje de células fagocíticas. (C) Cuantificación de la intensidad media de fluorescencia (o índice fagocítico). Cada experimento se repitió tres veces independientes. Los datos se expresan como media \pm SE. * $p < 0,05$ frente al grupo de control.

La figura 5 contiene gráficos que muestran que la atorvastatina aumenta la recuperación de la fluorescencia en la membrana de las células AEPR19 después del fotoblanqueo. Las mediciones FRAP de AEPR-19 se realizaron 3 horas después del tratamiento con atorvastatina 50 μ M usando el colorante BODIPY[®] FL C12. (A) Una curva de recuperación promedio de BODIPY[®] FL C12 en células AEPR-19 control (n = 16 células) o tratadas con atorvastatina (n = 16 células) de dos experimentos independientes. (B) Un promedio del semitiempo normalizado de equilibrio de BODIPY[®] FL C12 en células AEPR19 control (n = 16 células) o tratadas con atorvastatina (n = 16 células) de dos experimentos independientes. Los datos se expresan como media \pm SE. * $p < 0,05$ frente al grupo de control.

La figura 6 es una serie de gráficos que muestran que la atorvastatina restaura la función fagocítica disminuida inducida por cristales de colesterol y ox-LDL en células AEPR-19. (A) Las células AEPR-19 se incubaron con microesferas de carboxilato (5×10^7 esferas/ml), 1 o 2 mg/ml de cristales de colesterol con o sin atorvastatina 50 μ M durante 6 horas Cuantificación del porcentaje de células fagocíticas, representado por células positivas para las esferas y (B) cuantificación de la intensidad media de fluorescencia (o índice fagocítico) determinada por

citometría de flujo de células AEPR-19 incubadas con microesferas de carboxilato marcadas con fluoresceína y tratadas durante 6 horas con 1 o 2 mg/ml de CHL con o sin coincubación con atorvastatina 50 µM. (C) Las células AEPR-19 se trataron con 300 µg/ml de ox-LDL durante 18 horas y luego se incubaron con microesferas de carboxilato (5×10^7 esferas/ml), con o sin atorvastatina 50 µM durante 6 horas. Cuantificación del porcentaje de células fagocíticas, representado por células positivas para microesferas, y (D) cuantificación de la intensidad media de fluorescencia (o índice fagocítico) determinada por citometría de flujo de células AEPR-19 incubadas con microesferas de carboxilato marcadas con fluoresceína y tratadas durante 18 horas con oxLDL con o sin atorvastatina 50 µM. Los datos se expresan como media \pm SE. * $p < 0,05$ frente al grupo de control. § $p < 0,05$ frente al grupo de 2 mg/ml de CHL o el grupo de oxLDL.

La figura 7 es una serie de gráficos que muestran que la atorvastatina inhibe la secreción de IL-6 e IL-8 inducida por cristales de colesterol y oxLDL en células AEPR-19. Secreción de IL-6 (A) e IL-8 (B) de las células AEPR-19 según lo determinado por transferencia Western del medio de cultivo 6 horas después del tratamiento con CHL con o sin pretratamiento con atorvastatina 0,1, 0,5 o 1 µM. Secreción de IL-6 (C) e IL-8 (D) de las células AEPR-19 determinada por transferencia Western y ELISA, respectivamente, 18 horas después del tratamiento con oxLDL con o sin pretratamiento con atorvastatina 0,1, 0,5 o 1 µM. Los datos se expresan como media \pm SE. * $p < 0,05$ frente al grupo tratado con CHL.

Descripción detallada

La degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) es la principal causa de pérdida irreversible de la visión en adultos en el mundo occidental (Wong *et al.*, 2014 *Lancet Glob Health* 2(2):e106-16).

DMAE se clasifica ampliamente en dos tipos. La forma atrófica o "seca" es la más prevalente, caracterizada por la acumulación de depósitos extracelulares, llamadas drusas, entre el epitelio pigmentado de la retina (EPR) y la coroides. La progresión a DMAE avanzada puede implicar, por ejemplo, atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores, y/o neovascularización corioidea anormal (DMAE neovascular o "húmeda"). Aunque es menos frecuente que la forma seca, la DMAE neovascular se asocia con una pérdida rápida de la visión. Sin embargo, a pesar de los tratamientos antiangiogénicos eficaces para la DMAE neovascular, se carece de tratamientos efectivos para la forma seca más prevalente.

En el presente documento se describen métodos para usar una estatina en dosis altas para el tratamiento de DMAE en un paciente. Por ejemplo, los métodos desvelados se pueden utilizar para hacer retroceder las drusas (por ejemplo, drusas blandas), para la regresión de los desprendimientos del epitelio pigmentario drusoide (DEP), para prevenir la atrofia del EPR, para prevenir la atrofia de uno o más fotorreceptores, para prevenir la pérdida de la visión, para mejorar la agudeza visual y/o para prevenir la progresión de DMAE seca a DMAE húmeda.

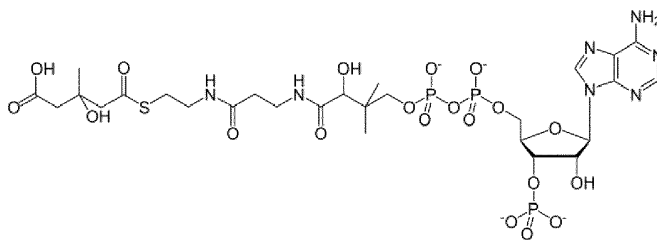
Drusa

Una de las manifestaciones distintivas de la DMAE seca es la acumulación de drusas, cuyos componentes se derivan de los tejidos locales (EPR/retina) y de la circulación (Curcio *et al.*, 2011 *Br J Ophthalmol* 95(12):1638-45; Wu *et al.*, 2010 *J Neurochem* 114(6): 1734-44). También se asocian con la DMAE los desprendimientos del epitelio pigmentario drusoide (DEP), en el que el epitelio pigmentario de la retina se separa de la membrana de Bruch subyacente debido a la presencia de una o más drusas.

Las drusas pueden ser drusas duras o drusas blandas. Las drusas "duras" son pequeñas, distintos y distantes entre sí, y pueden no causar problemas de visión durante mucho tiempo, como mucho. Las drusas "blandas" tienen bordes mal definidos, son grandes y se agrupan más juntos. Los lípidos son un componente principal de las drusas, con colesterol esterificado (CE), colesterol no esterificado (CNE) y fosfatidilcolina que constituyen el 40 % del volumen de las drusas duras. Las drusas blandas son más frágiles que las drusas duras y aceitosas tras la disección, consistente con una alta constitución de lípidos. La presencia de drusas blandas es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo posterior de DMAE seca o húmeda avanzada. Las drusas tratadas mediante un método descrito en el presente documento pueden ser drusas blandas.

Estatinas

Los métodos descritos en el presente documento incluyen la administración de estatinas en dosis altas. Las estatinas (o inhibidores de la HMG-CoA reductasa) son una clase de medicamentos para reducir el colesterol que son similares en estructura a la HMG-CoA, mostrado a continuación:



Las estatinas inhiben la enzima HMG-CoA reductasa al unirse competitivamente a la HMG-CoA reductasa en el sitio activo de del HMG-CoA. Puede usarse cualquier estatina en los métodos descritos en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de estatinas incluyen: atorvastatina (LIPITOR®), cerivastatina, fluvastatina (LESCOL®), lovastatina (MEVACOR®, ALTOCOR™), pitavastatina (LIVALO®), pravastatina (PRAVACHOL®, SELEKTINE®), rosuvastatina (CRESTOR®) simvastatina (ZOCOR®), análogos de los mismos y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, una estatina es atorvastatina.

- 10 Las estatinas pueden ser lipofílicas o hidrofílicas. Las estatinas lipofílicas incluyen, por ejemplo, atorvastatina, lovastatina y simvastatina. Las estatinas hidrofílicas incluyen, por ejemplo, fluvastatina, rosuvastatina y pravastatina. En algunas realizaciones, una estatina es lipofílica (*por ejemplo*, atorvastatina).

- 15 Como se usa en el presente documento, el término "dosis alta" se refiere a cualquier dosis que supere la dosis diaria definida (DDD) según la Organización Mundial de la Salud (OMS). El índice ATC/DDD de 2015 indica que la DDD es de 20 mg para atorvastatina, 0,2 mg para cerivastatina, 60 mg para fluvastatina, 45 mg para lovastatina, 2 mg para pitavastatina, 30 mg para pravastatina, 10 mg para rosuvastatina y 30 mg para simvastatina (véase, por ejemplo, whocc.no/atc_ddd_index/). En realizaciones de la invención donde una estatina es atorvastatina (que tiene una DDD de 20 mg), una dosis alta de atorvastatina es de al menos 40 mg, al menos 50 g, al menos 60 mg, al menos 70 mg, al menos 80 mg, al menos 90 mg o al menos 100 mg. En algunas realizaciones, una estatina en dosis altas es al menos 80 mg de atorvastatina.

- 25 En otras realizaciones, se puede utilizar una dosis equivalente de atorvastatina en dosis altas. Un experto en la materia puede determinar fácilmente las dosis equivalentes de otras estatinas. Por ejemplo, según la DDD de las estatinas, una dosis equivalente de 80 mg de atorvastatina podría ser de 0,8 mg de cerivastatina, 240 mg para fluvastatina, 180 mg para lovastatina, 8 mg para pitavastatina, 120 mg para pravastatina, 40 mg para rosuvastatina y 120 mg para simvastatina.

- 30 También se describen en el presente documento métodos para el uso de estatinas en dosis de mantenimiento. Por ejemplo, después de un tratamiento eficaz de DMAE, la cantidad de estatina administrada se puede reducir de una estatina en dosis altas a una estatina de dosis de mantenimiento. Como se usa en el presente documento, una "dosis de mantenimiento" es más baja que la dosis alta e indica una dosis de estatina que es aproximadamente igual a la DDD según la OMS de una estatina. Por ejemplo, una dosis de mantenimiento de atorvastatina (que tiene una DDD de 20 mg) puede ser de aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg o aproximadamente 60 mg. En algunas realizaciones, una estatina a dosis de mantenimiento es de aproximadamente 60 mg de atorvastatina. En algunas realizaciones, una estatina a dosis de mantenimiento es de aproximadamente 40 mg de atorvastatina.

- 40 Como alternativa, se puede utilizar una dosis equivalente a la dosis de mantenimiento de atorvastatina. Un experto en la materia puede determinar fácilmente las dosis equivalentes de otras estatinas. Por ejemplo, según la DDD de las estatinas, una dosis de mantenimiento equivalente de 40 mg de atorvastatina podría ser de 0,4 mg de cerivastatina, 120 mg para fluvastatina, 90 mg para lovastatina, 4 mg para pitavastatina, 60 mg para pravastatina, 20 mg para rosuvastatina y 60 mg para simvastatina.

45 Métodos de uso

- En el presente documento se describen métodos para usar una estatina en dosis altas para el tratamiento de DMAE en un paciente. En el presente documento se desvelan métodos para hacer retroceder las drusas (por ejemplo, blandas) y/o los DEP drusenoides en un paciente. En el presente documento se desvelan métodos para prevenir (es decir, reducir el riesgo de) atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores en un paciente. En el presente documento se desvelan métodos para prevenir (es decir, reducir el riesgo de) pérdida de visión y/o mejorar la agudeza visual en un paciente. En el presente documento se desvelan métodos para prevenir (es decir, reducir el riesgo de) progresión de DMAE (por ejemplo, de DMAE seca a DMAE húmeda) en un paciente. Los métodos desvelados en el presente documento pueden incluir la administración a un paciente de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. Los métodos desvelados en el presente documento también pueden incluir la administración posterior a un paciente de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento. Los métodos desvelados en el presente documento también pueden incluir la identificación de un paciente que tiene DMAE

(por ejemplo, DMAE seca) o drusas blandas y, opcionalmente, seleccionar al paciente en función de que tenga DMRE o drusas blandas. En la técnica se conocen métodos para diagnosticar DMAE y drusas en un paciente. Los métodos desvelados en el presente documento también pueden incluir el seguimiento del paciente para determinar la eficacia de la administración a un paciente de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento (por ejemplo, monitorizar al paciente para la regresión de drusas, la atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores, la pérdida de visión y/o la agudeza visual, la progresión de la DMAE).

Un paciente puede incluir tanto mamíferos como no mamíferos. Los ejemplos no limitantes de mamíferos incluyen, por ejemplo, seres humanos, primates no humanos (por ejemplo, simios y monos), ganado vacuno, caballos, oveja, ratas, ratones, cerdos y cabras. Los ejemplos no limitantes de no mamíferos incluyen, por ejemplo, peces y pájaros. En algunas realizaciones, un paciente es un ser humano. En algunas realizaciones, un paciente es un ser humano que tiene DMAE con características de alto riesgo de progresión (por ejemplo, presencia de muchas drusas grandes, blandas y/o DEP drusenoides en uno o ambos ojos).

La administración de una estatina en dosis altas y/o de dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento a un paciente puede incluir la administración de la estatina durante un período de tiempo adecuado. Por ejemplo, una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento se puede administrar a un paciente durante al menos 12 meses, al menos 15 meses, al menos 18 meses, al menos 21 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 33 meses, al menos 36 meses, al menos 39 meses, al menos 42 meses, al menos 45 meses o al menos aproximadamente 48 meses. En algunas realizaciones, una estatina en dosis altas y/o dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento se administra a un paciente durante al menos 36 meses.

La administración de una estatina en dosis altas y/o una dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento a un paciente puede incluir la administración de la estatina una o más veces al día (por ejemplo, una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, etc.) siempre que la cantidad diaria total esté de acuerdo con las dosis diarias descritas en el presente documento. Por ejemplo, una estatina en dosis altas (por ejemplo, 80 mg de atorvastatina) se puede administrar una vez al día en la dosis alta completa de estatina, dos veces al día donde la combinación de las dos administraciones totaliza la estatina en dosis altas completas, tres veces al día donde la combinación de las tres administraciones totaliza la estatina en dosis altas completa, etc. En algunas realizaciones, una dosis alta y/o una dosis de mantenimiento de estatina como se describe en el presente documento se administra a un paciente una vez al día.

Una estatina en dosis altas y/o dosis de mantenimiento descrita en el presente documento puede administrarse por cualquier vía; por ejemplo, intravenosa (IV), ocular (por ejemplo, intravítrea, gotas tópicas o ungüentos tópicos), intramuscular, subcutánea, oral, intranasal, inhalación, transdérmica y parenteral. En algunas realizaciones, una estatina descrita en el presente documento se administra por vía oral. En algunas realizaciones, una estatina descrita en el presente documento se administra por vía intravítrea.

Para la administración oral, una estatina en dosis altas y/o dosis de mantenimiento descrita en el presente documento puede estar en forma de píldora, comprimido, polvo, líquido, cápsula u otra forma de dosificación oral adecuada. Los comprimidos o cápsulas se pueden preparar con excipientes farmacéuticamente aceptables como agentes aglutinantes, cargas, lubricantes, disgregantes o agentes humectantes. Los preparados líquidos para administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensión, o pueden presentarse como un producto seco para su reconstitución con solución salina u otro vehículo líquido adecuado antes de su uso.

La dosis específica de una estatina en dosis altas y/o dosis de mantenimiento descrita en el presente documento, evidentemente, serán determinadas por las circunstancias particulares del paciente individual incluyendo el tamaño, el peso, la edad y el sexo del paciente, la naturaleza y el estadio de la enfermedad que se está tratando, la agresividad del trastorno de la enfermedad y la vía de administración del compuesto.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una estatina en dosis altas descrita en el presente documento (por ejemplo, una dosis alta de atorvastatina) proporcionada en el presente documento es normalmente una que es suficiente para lograr el efecto deseado (por ejemplo, regresión de las drusas y/o los DEP drusenoides, reducción de la cantidad de material inmunogénico y/o tóxico, prevención de la atrofia, prevención de la pérdida de visión, mejora de la agudeza visual, prevención de la progresión, etc.) y puede variar según la naturaleza y la gravedad de la DMAE, y la potencia de la estatina en dosis altas descrita en el presente documento.

Una "cantidad efectiva" de una estatina de dosis de mantenimiento descrita en el presente documento (por ejemplo, una dosis de mantenimiento de atorvastatina) proporcionada en el presente documento es normalmente una que es suficiente para evitar cualquier cambio adicional en el parámetro medido y puede variar según la naturaleza y la gravedad de la DMAE, y la potencia de la dosis de mantenimiento de estatina descrita en el presente documento.

"Prevenir", como se usa en el presente documento, se refiere a reducir el riesgo de desarrollo o progresión de una afección en un sujeto; así como un tratamiento terapéutico no necesita curar el 100 % de los sujetos o síntomas para ser efectivo y clínicamente útil, un tratamiento preventivo no necesita eliminar el 100 % de todo riesgo de desarrollo o progresión de la afección en el sujeto. Por tanto, un tratamiento que "previene" la atrofia del EPR, la atrofia de uno o

más fotorreceptores, la pérdida de visión y/o la progresión de DMAE seca a DMAE húmeda es una que reduce el riesgo en el sujeto de atrofia del EPR, la atrofia de uno o más fotorreceptores, la pérdida de la visión y/o la progresión de DMAE seca a DMAE húmeda.

- 5 Los métodos de regresión de drusas y/o DEP drusenoides en un paciente pueden incluir la administración a un paciente de una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento. La regresión de drusas y/o DEP drusenoides puede evaluarse de cualquier manera adecuada, incluyendo, por ejemplo, exploraciones oculares, tales como biomicroscopia, examen estereoscópico del fondo de ojo (por ejemplo, fotografía de fondo de ojo en color), evaluación de la función macular, tomografía de coherencia óptica (OCT), autofluorescencia y/o angiografía (por ejemplo, angiografía con fluoresceína). La administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para reducir el tamaño de una drusa en el paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la regresión de las drusas puede ser de al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o al menos un 99 %. Las drusas se pueden evaluar, por ejemplo, midiendo un parámetro, tal como el volumen, la altura, el diámetro y/o el número. Por tanto, la regresión de drusas se puede evaluar determinando un parámetro particular de drusas en un paciente en un primer momento (por ejemplo, antes de la administración de una estatina en dosis altas), determinar el mismo parámetro en el mismo paciente en un segundo momento (por ejemplo, después de la administración de una estatina en dosis alta) y comparar el parámetro medido en el primer punto de tiempo y el segundo punto de tiempo. Una reducción en el parámetro medido desde el primer punto de tiempo hasta el segundo punto de tiempo es indicativa de regresión de las drusas. En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas puede ser eficaz para reducir las drusas en al menos un 40 %. En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para causar una regresión completa (es decir, 100 % de regresión) de las drusas. La administración de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento puede ser eficaz para evitar que las drusas aumenten de tamaño y/o se formen en un paciente.

- También se asocian con la DMAE los desprendimientos del epitelio pigmentario drusoide (DEP), en el que el epitelio pigmentario de la retina se separa de la membrana de Bruch subyacente debido a la presencia de una o más drusas. Los métodos de regresión de los DEP drusenoides pueden dar como resultado la resolución de el DEP drusenoides mediante el aplanamiento y/o la reinserción de el DEP en la membrana de Bruch. La resolución de el DEP drusoide se puede evaluar de cualquier manera adecuada, que incluye, por ejemplo, OCT, angiografía (por ejemplo, angiografía con fluoresceína), autofluorescencia y/o estado macular. La administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para hacer retroceder Las DEP drusenoides en el paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. La administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para aplanar el DEP y/o volver a unir el DEP a la membrana de Bruch. Por ejemplo, un DEP se puede aplanar en al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o al menos un 99 %. Por ejemplo, la separación entre un DEP y la membrana de Bruch puede reducirse al menos en un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o al menos un 99 %. El DEP se puede evaluar para aplanamiento, por ejemplo, midiendo un parámetro, tal como el volumen, la altura y/o el diámetro, y puede evaluarse para volver a adherirse a la membrana de Bruch mediante, por ejemplo, medición de un parámetro como la distancia de separación. Por tanto, el aplanamiento del DEP y/o la reinserción a la membrana de Bruch se puede evaluar determinando un parámetro particular de drusas en un paciente en un primer momento (por ejemplo, antes de la administración de una estatina en dosis altas), determinar el mismo parámetro en el mismo paciente en un segundo momento (por ejemplo, después de la administración de una estatina en dosis alta) y comparar el parámetro medido en el primer punto de tiempo y el segundo punto de tiempo. Una reducción en el parámetro medido desde el primer punto de tiempo hasta el segundo punto de tiempo es indicativo de regresión de los DEP drusenoides (por ejemplo, por aplanamiento del DEP y/o reinserción a la membrana de Bruch). En algunas realizaciones, la separación entre el DEP y la membrana de Bruch se puede reducir al menos en un 30 %. La administración de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento puede ser eficaz para evitar que los DEP aumenten y/o se formen en un paciente.

- Sin limitarse a teoría alguna, se cree que la regresión de las drusas y/o los DEP drusenoides resulta de la mejora de la función fagocítica de las células del EPR. La función fagocítica se puede evaluar de cualquier manera adecuada, incluyendo, por ejemplo, citometría de flujo. La administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para mejorar la función fagocítica en las células del EPR del paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el porcentaje de células fagocíticas se puede aumentar en al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o al

menos un 99 %. La administración de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento puede ser eficaz para evitar que los DEP aumenten y/o se formen en un paciente.

Se sabe que las drusas contienen varios materiales inmunogénicos y tóxicos, tal como complemento (Crabb, 2014 Cold Spring Harb Perspect Med 4(7):a017194-4), 7-ketocolesterol (Rodríguez *et al.*, 2014 Exp Eye Res 128:151-5) y amiloide (Luihl *et al.*, 2006 J Clin Invest 116(2):378-85). La administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para reducir la cantidad de material inmunogénico y/o tóxico en el paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. La administración de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir un aumento en la cantidad de material inmunogénico y/o tóxico en un paciente.

Los métodos para prevenir la atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores en un paciente pueden incluir la administración a un paciente de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. El EPR interactúa estrechamente con los fotorreceptores y les suministra nutrientes. Las drusas son la ubicación entre el EPR y su suministro vascular, la coriocapilar. Sin limitarse a teoría alguna, es posible que las drusas priven al EPR ya las células fotorreceptoras de oxígeno y nutrientes, lo que da como resultado la atrofia tanto del EPR como de los fotorreceptores. La atrofia tanto del EPR como de los fotorreceptores se suele denominar atrofia geográfica. La prevención de la atrofia se puede evaluar de cualquier manera adecuada, incluyendo, por ejemplo, exploraciones oculares, tales como biomicroscopia, examen estereoscópico del fondo de ojo (por ejemplo, fotografía de fondo de ojo en color), evaluación de la función macular, OCT, autofluorescencia y/o angiografía (por ejemplo, angiografía con fluoresceína). La administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para reducir la cantidad de atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores en el paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la cantidad de atrofia se puede reducir en al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos un 45 %, al menos un 50 %, al menos un 55 %, al menos un 60 %, al menos un 65 %, al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 % o al menos un 99 %. La atrofia se puede evaluar, por ejemplo, midiendo un parámetro como la autofluorescencia o el grosor de la retina. Por tanto, la cantidad de atrofia se puede evaluar determinando un parámetro particular de drusas en un paciente en un primer momento (por ejemplo, antes de la administración de una estatina en dosis altas), determinar el mismo parámetro en el mismo paciente en un segundo momento (por ejemplo, después de la administración de una estatina en dosis alta) y comparar el parámetro medido en el primer punto de tiempo y el segundo punto de tiempo. El mantenimiento o una reducción en el parámetro medido desde el primer punto de tiempo hasta el segundo punto de tiempo es indicativo de la prevención de la atrofia (por ejemplo, atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores). En el presente documento se describen métodos que pueden usarse para prevenir la atrofia tanto del EPR como de los fotorreceptores en un paciente. La administración de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir un aumento en la cantidad de atrofia del EPR y/o uno o más fotorreceptores en un paciente.

En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para provocar una desaparición completa (*es decir*, 100 % de regresión) de las drusas y prevenir la atrofia tanto del EPR como de los fotorreceptores en un paciente (*es decir*, atrofia geográfica).

Los métodos para prevenir la pérdida de visión y/o mejorar la agudeza visual en un paciente pueden incluir la administración a un paciente de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. La agudeza visual se puede evaluar de cualquier manera adecuada, incluyendo, por ejemplo, determinar las letras más pequeñas que el paciente puede leer en un gráfico estandarizado (por ejemplo, una tabla de Snellen) o una tarjeta sostenida a unos 20 pies de distancia. En el presente documento se describen métodos que pueden usarse para prevenir la pérdida de visión en un paciente. La administración de una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir la pérdida de visión en el paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir la pérdida de la visión al perder no más de 5 letras, no más de 4 letras, no más de 3 letras, no más de 2 letras, no más de 1 letra. En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento es eficaz para prevenir la pérdida de la visión al perder no más de 2 letras. En algunas realizaciones, la administración de una estatina como se describe en el presente documento es eficaz para prevenir la pérdida de visión al mantener la agudeza visual (*es decir*, no se detecta pérdida de agudeza visual). La administración de una estatina en dosis de mantenimiento como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir la pérdida de visión en un paciente.

En el presente documento se describen métodos que pueden usarse para mejorar la agudeza visual en un paciente. La administración de una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento puede ser eficaz para mejorar la agudeza visual en el paciente en relación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para mejorar la agudeza visual en al menos 2 letras, al menos 3 letras, al menos 4 letras, al menos 5 letras, al menos 6 letras, al menos 7 letras, al menos 8 letras, al menos 9 letras,

al menos 10 letras, al menos 11 letras, al menos 12 letras, al menos 13 letras, al menos 14 letras, al menos 15 letras. En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento es eficaz para mejorar la agudeza visual en 3 letras. En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento es eficaz para mejorar la agudeza visual en 12 letras.

Los métodos para prevenir la progresión de DMAE (*por ejemplo*, de DMAE seca a DMAE húmeda) en un paciente puede incluir administrar a un paciente una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento. La prevención de la progresión de DMAE se puede evaluar de cualquier manera adecuada, que incluye, *por ejemplo*, exploraciones oculares, tales como biomicroscopia, tonometría, examen estereoscópico del fondo de ojo (*por ejemplo*, fotografía de fondo de ojo en color), evaluación de la función macular, OCT y/o angiografía (*por ejemplo*, angiografía con fluoresceína y angiografía basada en OCT (OCTA)). La administración de una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir la progresión a DMAE húmeda en el paciente en comparación con un paciente con DMAE que no recibió una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para prevenir la progresión de la DMAE seca a la DMAE húmeda. La administración de una estatina en dosis altas, como se describe en el presente documento, puede ser eficaz para prevenir la progresión a DMAE húmeda. *Por ejemplo*, la progresión a DMAE húmeda puede implicar, *por ejemplo*, neovascularización coroidea anormal. *Por ejemplo*, la administración de una estatina en dosis altas como se describe en el presente documento puede ser eficaz para reducir y/o prevenir la neovascularización coroidea. La progresión de DMAE puede ser evaluada *por, por ejemplo*, medición de un parámetro tal como la neovascularización. *Por tanto*, progresión de DMAE evaluada determinando un parámetro particular de drusas en un paciente en un primer punto de tiempo (*por ejemplo*, antes de la administración de una estatina en dosis altas), determinar el mismo parámetro en el mismo paciente en un segundo momento (*por ejemplo*, después de la administración de una estatina en dosis alta) y comparar el parámetro medido en el primer punto de tiempo y el segundo punto de tiempo. El mantenimiento o una reducción en el parámetro medido desde el primer punto de tiempo hasta el segundo punto de tiempo es indicativo de la prevención de la progresión de DMAE (*por ejemplo*, de DMAE seca a DMAE húmeda).

Los métodos proporcionados en el presente documento también pueden incluir la administración de un agente terapéutico adicional, además de la estatina. Como se usa en el presente documento, un agente terapéutico adicional incluye cualquier molécula que pueda tener un efecto terapéutico sobre DMAE. Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen agentes antiinflamatorios (*por ejemplo*, agente anti-IL-6, agentes anti-IL-8, aspirina, ibuprofeno y naproxeno), agentes antiangiogénicos (*por ejemplo*, agentes anti-VEGF, ranibizumab, bevacizumab, acadesina y activadores de AMPK), agentes antioxidantes (*por ejemplo*, vitamina C, vitamina E, vitamina A, glutatión, catalasa, *etc.*), ácidos grasos omega-3 (*por ejemplo*, ácido α -linolénico (ALA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA)), y vitaminas/minerales (*por ejemplo*, vitamina C, vitamina E, vitamina A, luteína, zeaxantina, cinc y cobre).

Un agente terapéutico descrito en el presente documento se puede administrar por cualquier vía (*por ejemplo*, intraocular, intravenosa (IV), intramuscular, subcutánea, oral, ocular (*por ejemplo*, intravítrea, gotas tópicas o pomada tópica), intranasal, inhalación, transdérmica y parenteral), y por cualquier método (*por ejemplo*, inyección, bomba (*por ejemplo*, una bomba implantable), *etc.*). En algunas realizaciones, un agente activo descrito en el presente documento se administra por vía oral.

La estatina en dosis altas descrita en el presente documento (*por ejemplo*, una dosis alta de atorvastatina) y el agente terapéutico pueden administrarse al paciente de forma independiente o administrarse al paciente simultáneamente. En los casos en que la estatina en dosis altas y el agente terapéutico se administren al paciente simultáneamente, la estatina en dosis altas y el agente terapéutico pueden ser una forma de dosificación única o la estatina en dosis altas y el agente activo pueden ser formas de dosificación separadas.

Los métodos desvelados en el presente documento también pueden incluir la administración de una dosis de mantenimiento de una estatina. *Por ejemplo*, después de un tratamiento eficaz de DMAE (*por ejemplo*, regresión de drusas), la administración de una estatina en dosis alta como se describe en el presente documento puede reemplazarse con la administración de una dosis de mantenimiento de una estatina.

La invención se describirá adicionalmente en los ejemplos siguientes, que no limitan el alcance de la invención descrita en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1: Estatina de dosis alta para la regresión de las drusas y la mejora de la agudeza visual

Este ejemplo, presenta la primera evidencia de que el tratamiento con dosis altas de atorvastatina da como resultado la regresión de las drusas y la mejora de la agudeza visual en pacientes con DMAE con características de alto riesgo de progresión.

Métodos

Se realizó un informe de caso y un estudio piloto de intervención prospectivo multicéntrico con la aprobación del IRB. Los criterios de inclusión fueron pacientes mayores de 50 años con diagnóstico de DMAE y la presencia de muchos drusas blandas grandes/DEP drusenoides en ambos ojos. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: presencia (o antecedentes) de atrofia geográfica significativa o neovascularización coroidea en cualquiera de los ojos; otras enfermedades oculares que puedan reducir la agudeza visual (excepto cataratas leves); antecedentes de cirugía ocular (aparte de la extracción de cataratas); pacientes actualmente o recientemente (dentro de 2 años) en terapia con estatinas a una dosis equivalente a 40 mg de atorvastatina; antecedentes de enfermedad hepática, rabdomiólisis o alergia a las estatinas; embarazo o lactancia; uso actual de medicamentos que se sabe que interactúan con las estatinas (por ejemplo, ciclosporina, itraconazol sistémico, claritromicina, inhibidores de la proteasa del VIH); y transaminasas elevadas o creatinina quinasa al inicio del estudio. La pseudofaquia no fue motivo de exclusión, a menos que se acompañara de una opacidad capsular posterior significativa.

Resultados

Informe del caso inicial

Un hombre de 63 años de edad, por lo demás sano, que padecía DMAE, presentaba un deterioro de la agudeza visual. Su agudeza visual inicial era 20/25 con distorsión significativa; ya estaba tomando suplementos del Estudio de enfermedades oculares relacionadas con la edad (AREDS). La fundoscopia reveló extensas drusas blandas grandes confluentes bilaterales y alteraciones pigmentarias (Figura 1, fila superior). La tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (SD-OCT, por sus siglas en inglés) confirmó la extensión significativa de estos depósitos y desprendimientos del epitelio pigmentario, así como la distorsión arquitectónica del EPR y del fotorreceptor (Figura 2, fila superior). No había líquido subretiniano o intrarretiniano. Se continuó con la suplementación estándar de AREDS. Un año después, el paciente se volvió más sintomático y la AV disminuyó ligeramente a 20/30. El paciente comenzó con atorvastatina, con aumento gradual planificado en la dosis durante 9 meses desde una dosis de prueba diaria inicial de 10 mg hasta la dosis diaria objetivo de 80 mg. Seis meses después de 80 mg de atorvastatina, la agudeza visual mejoró en 12 letras a 20/20, y la exploración con examen de fondo de ojo y SD-OCT reveló la desaparición completa de las drusas (figura 1) sin acompañar atrofia del EPR (figura 2).

Estudio piloto

De 26 pacientes inscritos en el estudio piloto, 23 lo completaron. Tres pacientes abandonaron el estudio: uno debido a calambres, uno por dolores musculares y otro porque el paciente sintió que el medicamento estaba induciendo la caída del cabello.

Diez de 23 pacientes (Tabla 1) respondieron al tratamiento y mostraron una regresión de los depósitos de drusas, ocho pacientes mostraron una regresión casi completa. De media, los que respondieron ganaron 3 letras mientras que los que no respondieron perdieron 2,2 letras. El tiempo medio de respuesta fue de 11,7 meses (intervalo 3-22). El promedio de años-persona de seguimiento fue de -30. Ninguno de los pacientes se convirtió en DMAE neovascular. Según una calculadora de riesgo en línea (disponible en la World Wide Web en caseyamdcalc.ohsu.edu basada en Klein *et al.*, 2011 Arch Ophthalmol. 129(12):1543-50), cabría esperar que el 14 % de nuestros casos (3-4 de los 23 pacientes) se convirtieran en DMAE neovascular.

Tabla 1. Características de los respondedores frente a los no respondedores.

	Toos (n = 23)	Respondedores (n= 10)	No respondedores (n=13)	
Edad (años)	68,1 +/-6	70,6 +/- 6,2	66,2 +/- 5,5	$p = 0,08137$
Hipertensión	10	5/10	5/13	Fisher 0,685018
Colesterol Inicial	208 +/- 34,9	210 +/- 33,4	207 +/-37,4	$p = 0,859484$
Último colesterol	147 +/- 31	161 +/- 34,2	136 +/- 24,4	$p = 0,057162$
Col. Reducción	-62 +/-35	49 +/-31,2	71+/-35,9	$p = 0,140764$
Vitaminas para los ojos	14	7/10	7/13	Fisher 0,669269
Uso de vitamina D	5	3/10	2/13	Fisher 0,635117
Uso de aceite de pescado	5	2/10	3/13	Fisher 1
Uso de aspirina	7	3/10	4/13	Fisher 1
VA Inicial (Letras)	77,6 +/- 8,3	74,2 +/- 9,9	80,2 +/- 6	$p = 0,089024$
Última VA (letras)	77,7 +/-8,4	77,5 +/-10,3	77,9 +/- 7,1	$p = 0,908481$
Ganancia (pérdida) VA		+3,3	-2,3	$p = 0,061144$

Los que respondieron eran mayores que los que no respondieron (70,6 frente a 66,2 años de mediana de edad) y tenían niveles de colesterol basales iguales. La reducción de los niveles de colesterol no pareció correlacionarse con el estado de respuesta. Hubo una tendencia hacia un mayor uso de multivitaminas y menos consumo de alcohol en los que respondieron, mientras que no hubo diferencias aparentes en el uso de aspirina, el consumo de aceite de pescado o medicamentos antihipertensivos. Había pocos fumadores en nuestro estudio y, por lo tanto, no teníamos poder estadístico para evaluar el efecto del tabaquismo. La atorvastatina en dosis altas no pareció tener un efecto positivo o negativo sobre la progresión de los cambios pigmentarios o de la atrofia preexistente.

A pesar de las características de alto riesgo de nuestra cohorte de pacientes, ninguno de ellos progresó a DMRE neovascular o húmeda.

Discusión

Estos resultados demuestran que el tratamiento con estatinas en dosis altas se puede utilizar para tratar las características de alto riesgo de la DMAE seca y prevenir la progresión hacia la atrofia o la pérdida de la visión.

Ejemplo 2: La atorvastatina promueve la fagocitosis y atenúa la respuesta proinflamatoria en las células epiteliales del pigmento retinal humano

Métodos y materiales

Materiales

La línea celular EPR humana AEPR-19 se adquirió de ATCC (Manassas, VA, EE.UU.). DMEM/F-12, medio HEPES, suero bovino fetal (FBS) y penicilina-estreptomycin se obtuvieron de Life Technologies (Grand Island, NY, EE.UU.). La IL-1 α humana recombinante se obtuvo de R&D Systems (Minneapolis, MN, EE.UU.). Los cristales de colesterol se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.). Anticuerpos anti-IL-18, el anticuerpo anti-IL-6 y el anticuerpo anti- β -actina se obtuvieron de Abcam (Cambridge, MA, EE.UU.). El anticuerpo anti-IL-1 β y el anticuerpo anti-IL-8 se adquirieron de R&D Systems (Minneapolis, MN, EE.UU.). Los anticuerpos secundarios ligados a HRP se obtuvieron de Cell Signaling Technology (Danvers, MA, EE.UU.).

Estatinas

Atorvastatina (trihidrato de sal de calcio de atorvastatina), simvastatina y lovastatina (Mevinolin de *Aspergillus* sp.) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.). Se reconstituyeron en dimetilsulfóxido (DMSO; ATCC, Manassas, VA, EE.UU.). Se preparó una solución madre de 5 mM de cada estatina y se realizaron diluciones adicionales en el medio. Los cultivos de control se incubaron con DMSO a concentraciones finales correspondientes a las concentraciones más altas añadidas con las estatinas.

Cultivo celular

Las células AEPR-19 se mantuvieron en DMEM/F-12, Medio HEPES suplementado con 10 % de FBS, 100 U/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin. Las células se cultivaron en CO₂ al 5 % humidificado a 37 °C y se pasaron cuando alcanzaron el 80 % de confluencia.

Preparación de solución de cristales de colesterol

Los cristales de colesterol se pulverizaron con un molinillo y posteriormente se esterilizaron con luz ultravioleta durante 30 minutos. Se añadió medio de cultivo AEPR-19 a los cristales de colesterol para preparar una solución madre de 6 mg/ml. La solución madre se sonicó hasta que los cristales de colesterol se suspendieron uniformemente en el medio de cultivo.

Preparación de LDL oxidadas

LDL (LEE Biosolution, Maryland Heights, MO, US) se oxidaron usando CuSO₄ (Sigma, St. Louis, MO, US), como se describe en otra parte (Hendriks *et al.*, 1996 Biochem J 314 (Pt 2):563-8). En resumen, LDL (600 μ l, 0,25 mg/ml), CuSO₄ (22,5 μ l, 1,6 mM) y PBS (277,5 μ l) se mezclaron y se incubaron a 37 °C. La reacción de oxidación se detuvo usando EDTA 1 mM después de 24 horas de incubación. Inmediatamente después de la oxidación, las lipoproteínas se desalinizaron utilizando columnas de desalinización desechables PD-10 (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido).

Análisis de fagocitosis por citometría de flujo

Se utilizó un ensayo de citometría de flujo para evaluar la fagocitosis celular de acuerdo con un protocolo descrito por Pranab (Mukherjee *et al.*, 2007 Proc Natl Acad Sci USA 104:13158-63). En resumen, las células AEPR-19 se

sembraron en placas de 12 pocillos y se cultivaron hasta una confluencia del 90 %. Las células se incubaron con 5×10^7 /ml de Fluoresbrite de 1 μ m de diámetro® Microesferas de carboxilato YG (Polysciences, PA, EE.UU.) sola o en combinación con estatinas (atorvastatina, lovastatina o simvastatina), cristales de colesterol u ox-LDL; las concentraciones de los fármacos utilizados y la duración exacta del tratamiento se describen para cada experimento por separado en la sección de resultados. Después de la incubación, las células se lavaron con PBS tres veces para eliminar las perlas extracelulares, luego se digirieron con tripsina (0,25 % de tripsina-EDTA, Gibco, EE.UU.) durante 1 minuto y SE neutralizaron con medio de cultivo precalentado. La suspensión celular se recogió y centrifugó (241 g, 5 minutos). El sedimento celular se resuspendió en 0,5 ml de PBS para cada muestra. Luego, las células se analizaron en busca de perlas fluorescentes fagocitadas verdes (longitud de onda de excitación de 441 nm y longitud de onda de emisión de 486 nm) mediante un citómetro de flujo FACScalibur utilizando CellQuest 3.0.1 (Becton & Dickinson, Mountain View, CA, EE. UU.) y el software FlowJo 10.0. Se registró el porcentaje de células fagocíticas presentes en cada grupo así como la intensidad media de fluorescencia de las partículas engullidas.

Recuperación de fluorescencia después del fotoblanqueo (FRAP) para evaluar la fluidez de la membrana celular

Las células AEPR-19 se cultivaron en placas con fondo de vidrio de 35 mm (MatTek Corporation, MA) en medio DMEM/F12 suplementado con 10 % de FBS y 1 % de penicilina/estreptomicina. El 70-80 % de las células confluentes se trataron con atorvastatina 50 μ M durante 3 horas. Treinta minutos antes de medir la fluidez de la membrana, las células se incubaron con 5 μ M de 4, 4-difluoro-5, 7-dimetil-4-bora-3a, ácido 4a-diazas-indaceno-3-dodecanoico (BODIPY® FL C12) (Thermo Fisher Scientific), un fluoróforo verde combinado con una cola de hidrocarburo saturado de 12 carbonos, disuelto en medio FluoroBrite™ DMEM (Thermo Fisher Scientific). A continuación, las células se lavaron con medio FluoroBrite™ DMEM para eliminar cualquier tinte no incorporado y se mantuvieron a 37 °C y 5 % de CO₂ usando una cámara ambiental montada en una platina de microscopio para mediciones de FRAP. Las mediciones de FRAP se realizaron fotoblanqueando un área microscópica de la membrana celular (las regiones de interés (ROI) del blanqueador se dibujaron usando un cuadrado de 7 x 7 píxeles) con un breve (2 segundos), pulso intensivo de luz (líneas de 458, 477, 488 y 514 nm simultáneamente al 100 % de transmisión) desde un láser de argón a través de un 63x, objetivo de inmersión en aceite de apertura numérica de 1,4 -con un zoom digital adicional de 2x (ampliación total = $[10x][63x][2x] = 1260x$)- de un microscopio de barrido láser confocal Zeiss LSM 510 Axiovert 200M. La recuperación de la fluorescencia dentro del área decolorada, debido a la difusión lateral del fluoróforo intacto vecino, se evaluó mediante escaneo repetitivo a través de la superficie celular (cada 500 ms) con un rayo láser atenuado (línea de 488 nm al 3 % de transmisión).

Transferencia Western

Las células AEPR-19 se sembraron en placas de 6 pocillos a una densidad de 1×10^5 células/pozo. Veinticuatro horas después, las células se cebaron con IL-1 α (5 ng/ml) durante 8 horas, se trataron con atorvastatina (0,1, 0,5 o 5 μ M) durante 16 horas y luego incubados con 2 mg/ml de cristales de colesterol durante 6 horas o 300 μ g/ml de LDL oxidada durante 18 horas, con o sin atorvastatina. Después del tratamiento, se recogió el medio de cultivo y se centrifugó a 13,3 g durante 15 minutos a 4 °C. El sobrenadante se recogió y almacenó a -80 °C. El medio de cultivo (para IL-6, IL-8) se cargó en cada carril y las muestras se analizaron mediante electroforesis. Las proteínas se transfirieron a una membrana de PVDF y la membrana se bloqueó con leche descremada y se incubó con anticuerpos primarios contra IL-6 e IL-8. A continuación, la membrana se lavó y se incubó con anticuerpos secundarios. La membrana se desarrolló con quimioluminiscencia mejorada. La intensidad de las bandas de proteína se midió utilizando el software Image Lab 4.1 (Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.).

Enzimoimmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

La IL-8 inducida por oxLDL se midió mediante análisis de medios acondicionados de células AEPR-19 utilizando un kit ELISA (IL-8, R&D Systems, Minneapolis, MN, EE.UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando GraphPad Prism 5.0a. Los resultados se expresan como media \pm SE. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de dos tratamientos se analizó mediante la prueba t no pareada. El valor de $p < 0,05$ se fijó como estadísticamente significativo.

Resultados

Las estatinas lipofílicas aumentan la función fagocítica de las células AEPR-19

Para validar un método que mida de forma fiable la función fagocítica de AEPR-19, las células se incubaron con microesferas de carboxilato durante 6 horas, y luego se tomaron imágenes usando una microscopia confocal recolectando una pila de 50 imágenes. Las células pudieron de internalizar activamente las partículas, que se ubicaron proximales a los núcleos (Figura 3A-C), lo que indica que las células AEPR-19 pueden fagocitar las microesferas de poliestireno en estas condiciones establecidas, y que este método puede evaluar adecuadamente la función fagocítica

de las células AEPR-19.

Para investigar el efecto de los lipofílicos, pero no hidrófilo, estatinas en la función fagocítica de las células EPR humanas, Las células AEPR-19 se incubaron con microesferas de poliestireno junto con 50 μ M de atorvastatina, lovastatina o simvastatina. El porcentaje de células AEPR-19 fagocíticas y la intensidad media de fluorescencia de las partículas engullidas por grupo se midieron mediante citometría de flujo 6 horas después del tratamiento. Como se muestra en las figuras 3D y E, el tratamiento con atorvastatina, lovastatina o simvastatina aumentó significativamente el porcentaje de células fagocíticas AEPR-19 del 31 % al 43 %, 53 % y 56 %, respectivamente ($p < 0,05$). De forma similar, se observó un aumento en la intensidad media de fluorescencia dentro de las células AEPR-19, del 332 al 455, 502 y 513, respectivamente ($p < 0,05$) (Figura 3F). Esto indicó que las tres estatinas aumentaban la función fagocítica de las células AEPR-19, teniendo la simvastatina el efecto más potente, seguida de lovastatina y atorvastatina.

Atorvastatina aumenta la función fagocítica de las células AEPR-19 de forma dependiente de la dosis

La atorvastatina en dosis altas dio como resultado la regresión de los depósitos de drusas y la mejora de la agudeza visual en pacientes seleccionados con DMAE (Ejemplo 1; Vavvas *et al.*, 2016 EBioMedicine 5:198-203). Para explorar más a fondo los efectos de la atorvastatina en dosis altas sobre la función fagocítica de las células AEPR-9, las células se incubaron con ambas microesferas y diferentes dosis de atorvastatina durante 6 horas y se evaluó el porcentaje de células fagocíticas del EPR mediante citometría de flujo, como se ha descrito previamente. Tal como se muestra en las figuras 4A y B, 1, 25, 50 o 75 μ M de atorvastatina aumentaron el porcentaje de células AEPR-19 fagocíticas al 35 %, 40 %, 42 % y 46 %, respectivamente, en comparación con el porcentaje inicial (31 %) del grupo de control de DMSO ($p < 0,05$). Adicionalmente, el tratamiento de las células con 1, 25, 50 o 75 μ M de atorvastatina aumentó significativamente la intensidad media de fluorescencia de las células de 340 en el grupo de control a 368, 443, 453 y 467, respectivamente ($p < 0,05$) (Figura 4C). Estos datos indican claramente que la atorvastatina aumenta el porcentaje de células fagocíticas y la actividad fagocítica de las células AEPR-19 de forma dependiente de la dosis.

Atorvastatina aumenta la fluidez de la membrana de las células AEPR-19

Para probar el efecto de la atorvastatina sobre la fluidez de la membrana celular del EPR, las células AEPR-19 se incubaron con atorvastatina 50 μ M durante 3 horas y BODIPY® FL C12 durante 30 minutos. Las mediciones de FRAP se realizaron fotoblanqueando un área microscópica de la membrana celular y la recuperación de la fluorescencia dentro del área blanqueada se evaluó mediante escaneo repetitivo a través de la superficie celular con un rayo láser atenuado, como se describe en los métodos. Los resultados mostraron que el tratamiento con atorvastatina aumentó la recuperación de la fluorescencia en la membrana de las células AEPR19 después del fotoblanqueo (Figura 5A). Adicionalmente, disminuyó el semitiempo de equilibrio de la fluorescencia en comparación con el grupo de control ($p < 0,05$) (Figura 5B). Ambos hallazgos indican que la atorvastatina aumenta la fluidez de la membrana de las células AEPR-19. Este aumento podría, al menos parcialmente, explicar el aumento de la función fagocítica de las células AEPR-19 tras el tratamiento con atorvastatina.

Atorvastatina protege la función fagocítica AEPR-19 del deterioro inducido por cristales de colesterol y ox-LDL

Se estudiaron los efectos de los cristales de colesterol y ox-LDL en la función fagocítica de las células del EPR porque el deterioro de esta función está relacionado con la DMAE (Nandrot *et al.*, 2007 Adv Exp Med Biol 801:978-1). Las células AEPR-19 se trataron con 2 mg/ml de cristales de colesterol durante 6 horas o 300 μ g/ml de oxLDL durante 18 horas. Luego se evaluó la función fagocítica por citometría de flujo, como se describe en los métodos. Los cristales de colesterol disminuyeron significativamente el porcentaje de células fagocíticas del 31 % al 22 % ($p < 0,05$) (Figura 6A) y la intensidad media de fluorescencia de las células AEPR-19 de 332 a 280 ($p < 0,05$) (Figura 6B). De forma similar, ox-LDL disminuyó el porcentaje de células fagocíticas del 31 % al 26 % ($p < 0,05$) (Figura 6C) y la intensidad media de fluorescencia de las células de 325 a 290 ($p < 0,05$) (Figura 6D).

Dado que la atorvastatina aumenta la función fagocítica de AEPR-19, se comprobó si podría ayudar a preservar las propiedades fagocíticas de estas células a pesar del deterioro inducido por los cristales de colesterol y ox-LDL. El pretratamiento de las células con atorvastatina 50 μ M durante 6 horas revirtió por completo la disminución del porcentaje de células fagocíticas y la intensidad media de fluorescencia inducida por los cristales de colesterol (Figuras 6A y B) y ox-LDL (Figuras 6C y D).

En conjunto, estos resultados sugieren que la atorvastatina protege la función fagocítica de las células AEPR-19 del deterioro inducido por los cristales de colesterol y ox-LDL.

Atorvastatina inhibe la secreción de IL-6 e IL-8 inducida por cristales de colesterol y ox-LDL en células AEPR-19

Los cristales de colesterol inducen la secreción de las citocinas inflamatorias IL-6 e IL-8 en células AEPR-19 (Hu *et al.*, 2014 Discovery Med. 18(97):7-14). Dado que estas citocinas están asociadas al desarrollo y la progresión de DMAE, se investigó si la atorvastatina puede bloquear este efecto. Las células AEPR-19 se expusieron a IL-1 α , se trataron con diferentes concentraciones de atorvastatina y luego se incubaron con cristales de colesterol. Los niveles

de IL-6 e IL-8 se evaluaron mediante transferencia Western o ELISA. Como se esperaba, los cristales de colesterol aumentaron la secreción por las AEPR-19 de IL-6 e IL-8, 3,2 y 2,5 veces, respectivamente, en comparación con el tratamiento de control (Figuras 7A y B). Sin embargo, el pretratamiento de las células con atorvastatina 0,1, 0,5 o 1 μ M redujo significativamente los niveles de IL-6 1,7, 1,1 y 0,8 veces, respectivamente, y los niveles de IL-8 1,8, 1,6 y 1,1 veces, respectivamente, en comparación con el control ($p<0,05$) (Figuras 7A y B). Adicionalmente, se deseaba investigar el efecto de ox-LDL sobre IL-6 e IL-8 en células AEPR-19 y el efecto de la atorvastatina en las consecuencias resultantes. Similar a los cristales de colesterol, la incubación de AEPR-19 con ox-LDL condujo a un aumento de 2,6 y 1,3 veces en la IL-6 y la IL-8 secretadas, respectivamente. Sin embargo, el pretratamiento de las células con atorvastatina 0,1, 0,5 o 1 μ M fue capaz de reducir los niveles de IL-6 1,9, 1,3 y 1,4 veces, respectivamente, y de IL-8 1,2, 1,02 y 0,99 veces, respectivamente, en comparación con el control ($p<0,05$) (Figuras 7C y D). Ambos resultados indican que la atorvastatina puede bloquear, de forma dependiente de la dosis, la secreción de IL-6 e IL-8 inducida por cristales de colesterol y ox-LDL en células AEPR-19.

En su conjunto, estos datos sugieren claramente que la atorvastatina tiene una función antiinflamatoria en las células del EPR humano expuestas a inductores inflamatorios.

Discusión

El estudio de los presentes inventores proporciona evidencia de que las estatinas lipofílicas mejoran la función fagocítica de las células AEPR-19 y de que la atorvastatina puede proteger a estas células del deterioro de la función fagocítica y los efectos inflamatorios inducidos por los cristales de colesterol y ox-LDL. Adicionalmente, la atorvastatina aumenta la fluidez de la membrana de las células AEPR-19, lo cual explica, al menos parcialmente, los efectos positivos de las estatinas sobre la función fagocítica de estas células.

Dado que se usó atorvastatina en el presente estudio clínico, los autores se enfocaron más en sus efectos *in vitro* sobre las células AEPR-19. Curiosamente, la atorvastatina no solo aumentó la función fagocítica de referencia de las células AEPR-19, sino que también protegió a las células contra el deterioro de la función fagocítica inducido por cristales de colesterol y ox-LDL. Esto indica que, además de desempeñar un papel preventivo contra la DMAE, el efecto observado de la atorvastatina sobre la reversión de las características de la DMAE seca puede explicarse en parte por su capacidad para inducir una mayor fagocitosis de las drusas existentes por parte de las células del EPR.

En resumen, este estudio muestra que las estatinas lipofílicas atorvastatina, lovastatina y simvastatina tienen efectos potenciadores similares sobre la función fagocítica de las células AEPR-19. También demuestra que la atorvastatina es un fármaco eficaz para proteger las células AEPR-19 frente al deterioro fagocitario y los efectos inflamatorios inducidos por los cristales de colesterol y ox-LDL. Adicionalmente, el estudio de los presentes inventores sugiere el aumento de la fluidez de la membrana celular como un mecanismo importante para los efectos observados de las estatinas en la función fagocítica de AEPR-19. Aún más importante, los resultados de estos inventores introducen a las estatinas, una clase de medicamentos ampliamente utilizada y bien tolerada con efectos adversos graves raros, como medicamento potencialmente efectivo para prevenir y tratar la DMAE.

OTRAS REALIZACIONES

Debe entenderse que si bien la divulgación se ha descrito junto con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la divulgación, que está definida por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones entran dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una estatina en dosis altas para su uso en el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) en un paciente, en donde el tratamiento comprende reducir al menos una de las drusas y el desprendimiento del epitelio pigmentario (DEP) drusanoide o i) prevenir la progresión de DMAE a DMAE húmeda en el paciente; ii) prevenir la atrofia del epitelio pigmentario de la retina (EPR) en el paciente; iii) prevenir la atrofia de uno o más fotorreceptores en el paciente; iv) prevenir la pérdida de visión en el paciente; o v) una combinación de los anteriores, en donde la estatina en dosis altas es al menos de 40 mg de atorvastatina al día, de 0,4 mg de cerivastatina al día, de 120 mg de fluvastatina al día, de 90 mg de lovastatina al día, de 4 mg de pitavastatina al día, de 60 mg de pravastatina al día, de 20 mg de rosuvastatina al día o de 60 mg de simvastatina al día.
2. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la DMAE húmeda implica una neovascularización coroidea anormal.
3. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde el tratamiento comprende además identificar al paciente que tiene DMAE y seleccionar al paciente sobre la base de que el paciente tiene DMAE.
4. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el tratamiento comprende además identificar al paciente que tiene DMAE seca y seleccionar al paciente sobre la base de que el paciente tiene DMAE seca.
5. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el tratamiento comprende además monitorizar al paciente en cuanto a la eficacia de la estatina en dosis altas.
6. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el paciente es un ser humano.
7. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el tratamiento comprende además identificar al paciente que tiene características de alto riesgo de progresión de DMAE y seleccionar al paciente sobre la base de que el paciente tiene características de alto riesgo de progresión de DMAE.
8. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el tratamiento comprende administrar la estatina en dosis altas al paciente durante al menos 12 meses, al menos 15 meses, al menos 18 meses, al menos 21 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 33 meses, al menos 36 meses, al menos 39 meses, al menos 42 meses, al menos 45 meses o al menos aproximadamente 48 meses.
9. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la estatina en dosis altas se administra por una vía seleccionada entre el grupo que consiste en: i) administración intravenosa; ii) administración ocular; iii) administración intramuscular; iv) administración subcutánea; v) administración oral; vi) administración intranasal; vii) administración por inhalación; viii) administración transdérmica; ix) administración intravítrea; y x) administración parenteral.
10. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la estatina en dosis altas se administra por vía ocular seleccionada entre el grupo que consiste en: intravítrea, gotas tópicas o pomada tópica.
11. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde la estatina se selecciona entre el grupo que consiste en atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lovastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina y simvastatina.
12. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde la estatina es una estatina lipofílica.
13. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la estatina lipofílica se selecciona entre el grupo que consiste en atorvastatina, lovastatina y simvastatina.
14. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la estatina en dosis altas es al menos de 80 mg de atorvastatina al día, de 0,8 mg de cerivastatina al día, de 240 mg de fluvastatina al día, de 180 mg de lovastatina al día, de 8 mg de pitavastatina al día, de 120 mg de pravastatina al día, de 40 mg de rosuvastatina al día o de 120 mg de simvastatina al día.
15. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el tratamiento comprende además la administración de una estatina en dosis de mantenimiento después de un tratamiento eficaz con la estatina en dosis altas, en donde la cantidad de estatina de dosis de mantenimiento es menor que la cantidad de estatina en dosis altas.

16. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la estatina en dosis de mantenimiento es de 40 mg de atorvastatina al día, de 0,4 mg de cerivastatina al día, de 120 mg de fluvastatina al día, de 90 mg de lovastatina al día, de 4 mg de pitavastatina al día, de 60 mg de pravastatina al día, de 20 mg de rosuvastatina al día o de 60 mg de simvastatina al día; o
- 5 de aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg o aproximadamente 60 mg de atorvastatina al día.
- 10 17. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde el tratamiento comprende administrar la estatina en dosis altas una vez al día, dos veces al día o tres veces al día.
- 15 18. La estatina en dosis altas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en donde el tratamiento comprende además administrar al paciente un agente terapéutico adicional, en donde el agente terapéutico adicional se selecciona de entre el grupo que consiste en un agente antiinflamatorio, un agente antiangiogénico, un agente antioxidante, un ácido graso omega-3 y una vitamina/mineral.

FIG. 1

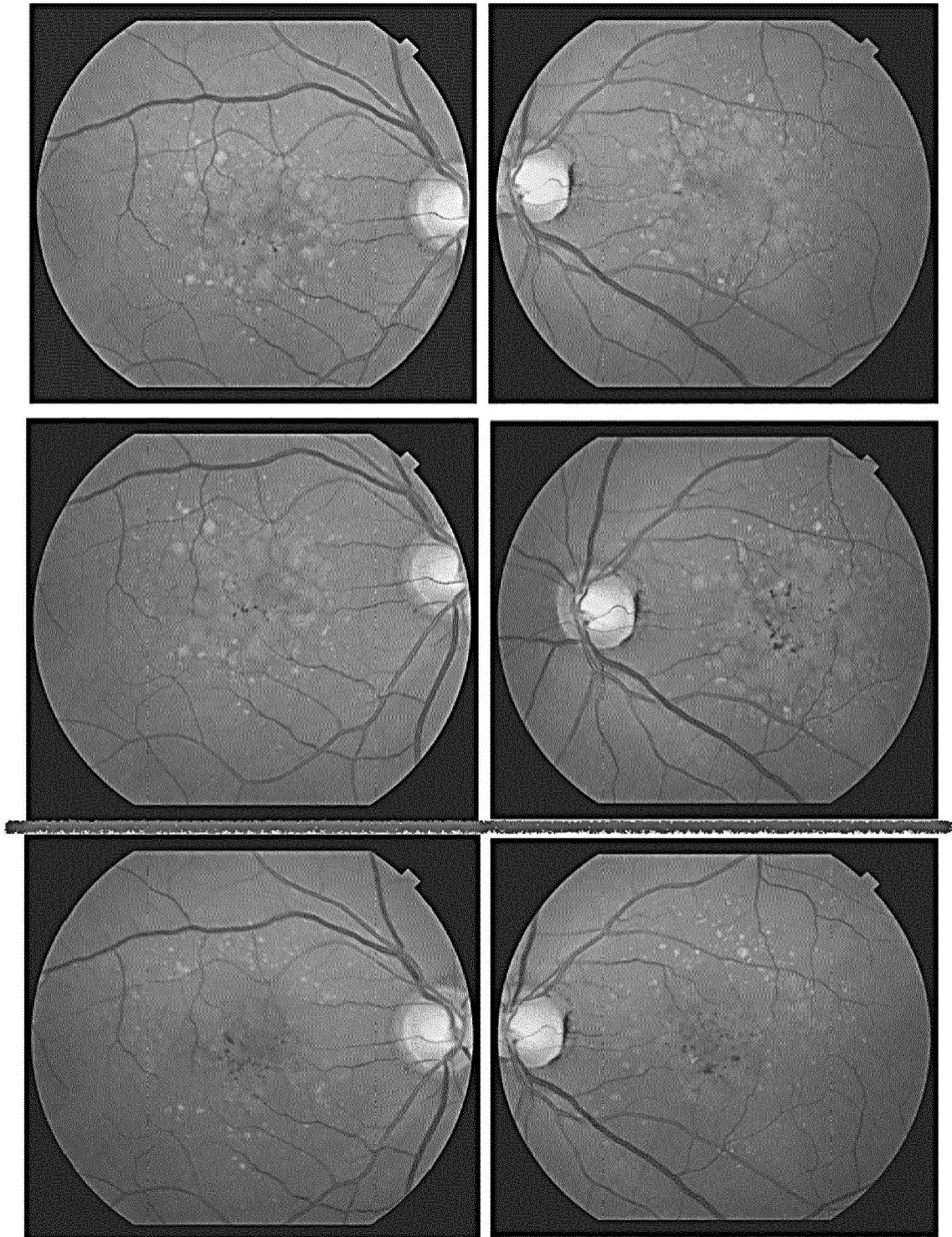


FIG. 2

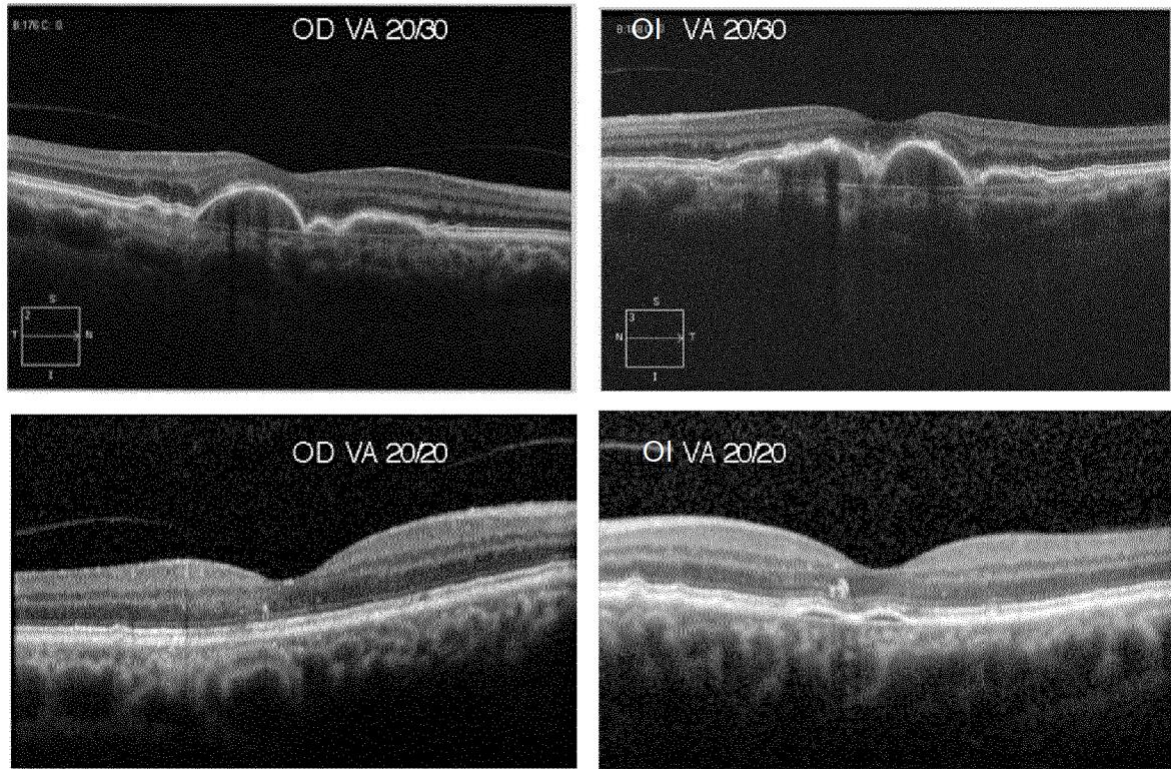


FIG. 3

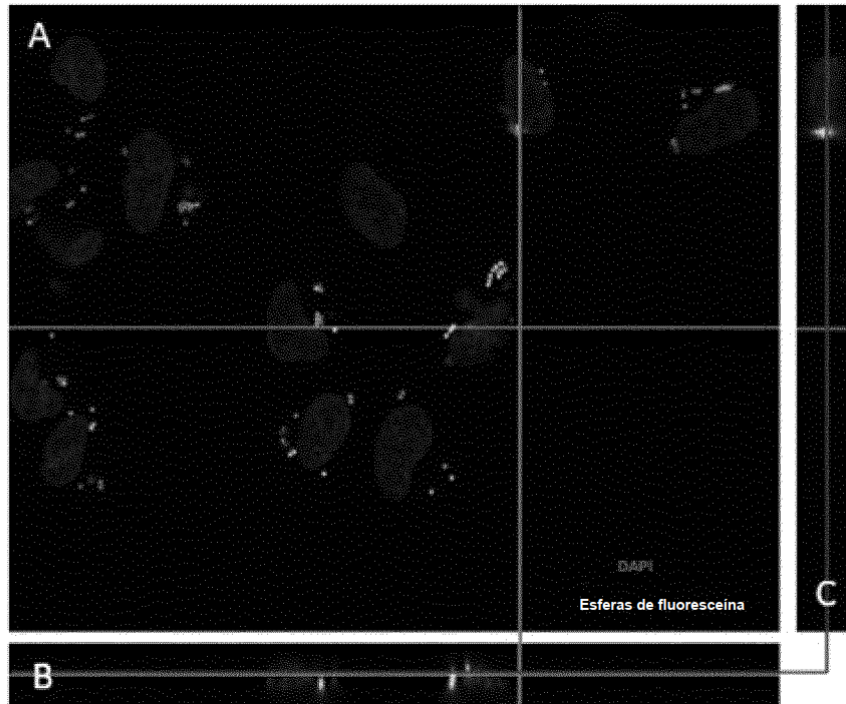
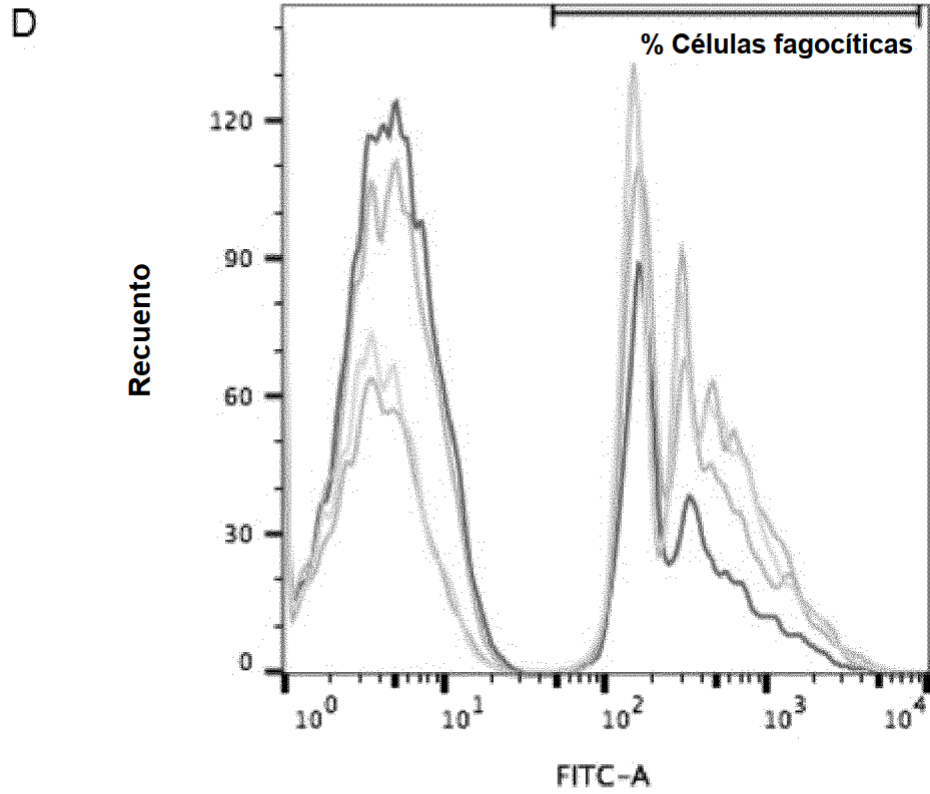


FIG. 3 (cont.)



	Nombre de la muestra	Nombre del subconjunto	Recuento
<input type="checkbox"/>	LOV.fcs	P1	8952
<input type="checkbox"/>	SIMV.fcs	P1	8006
<input type="checkbox"/>	ATV.fcs	P1	7309
<input type="checkbox"/>	Control.fcs	P1	8448

FIG. 3 (cont.)

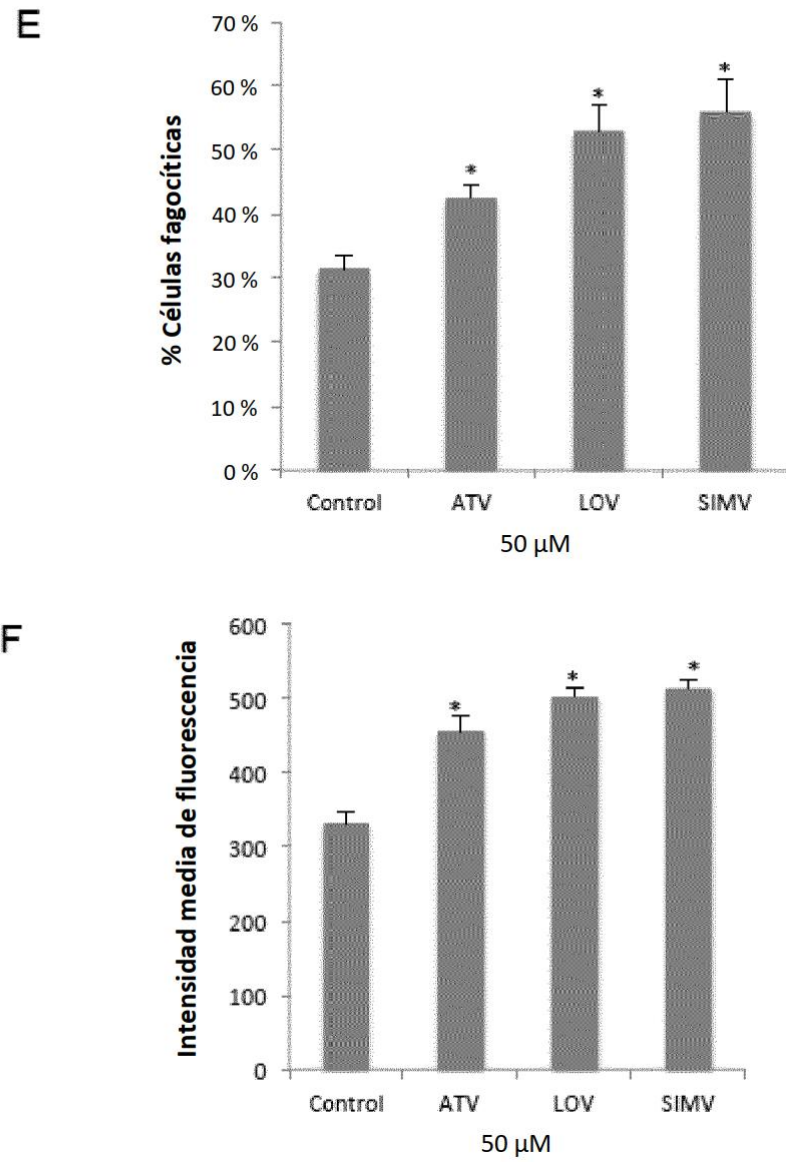


FIG. 4

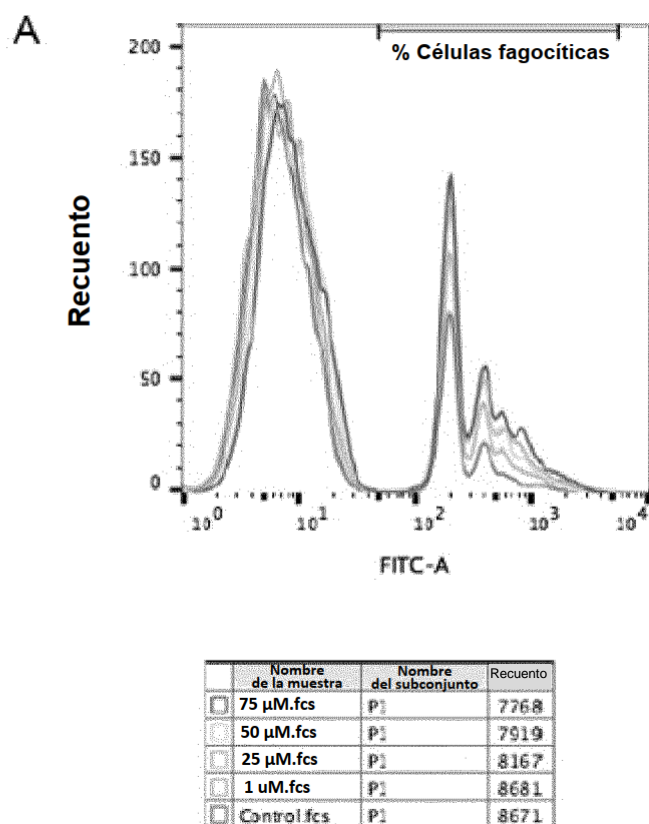


FIG. 4 (cont.)

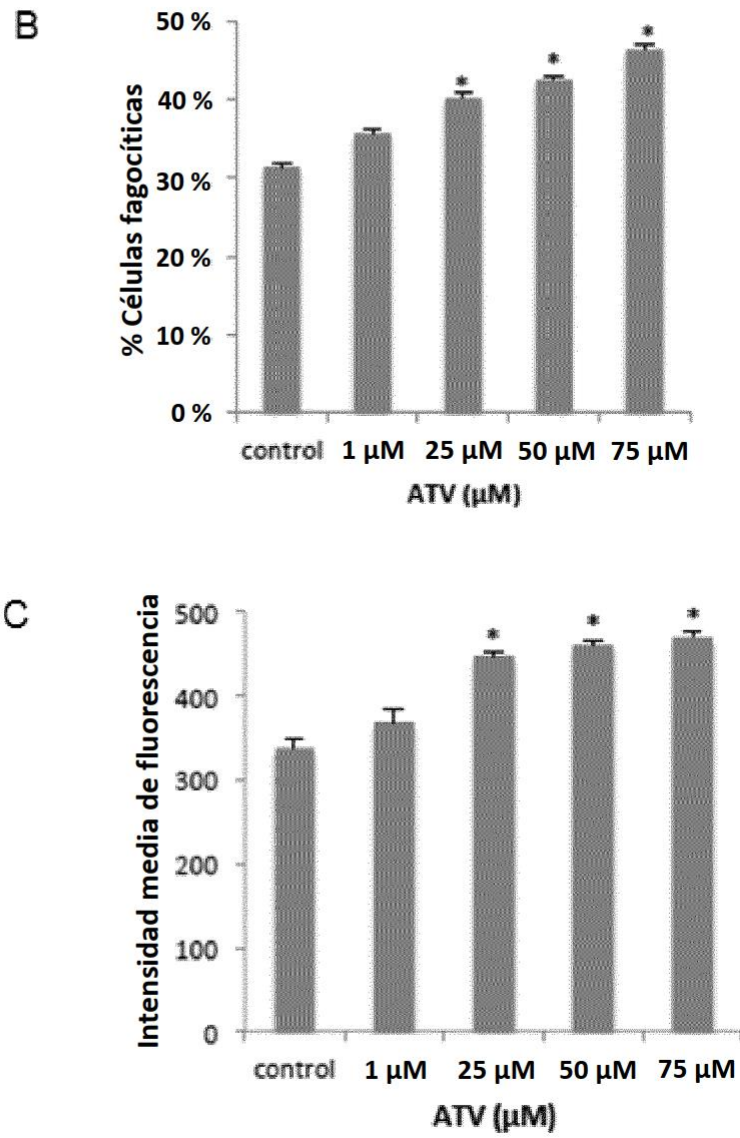


FIG. 5

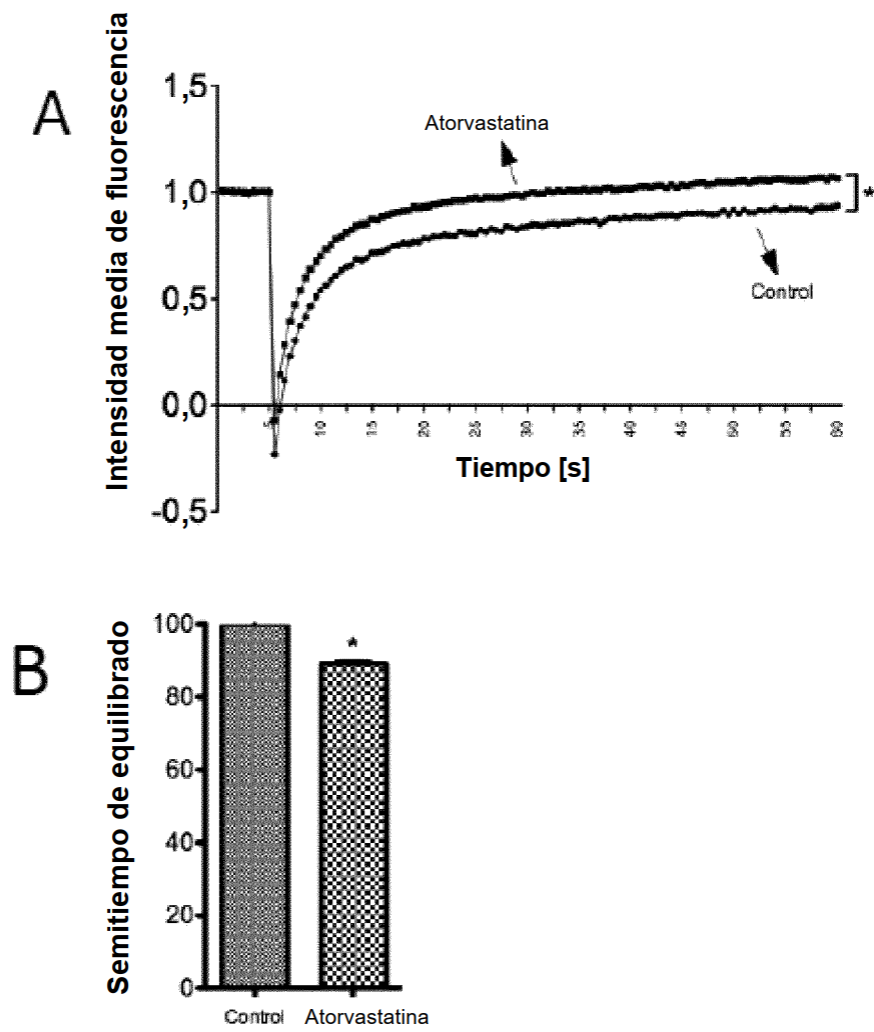


FIG. 6

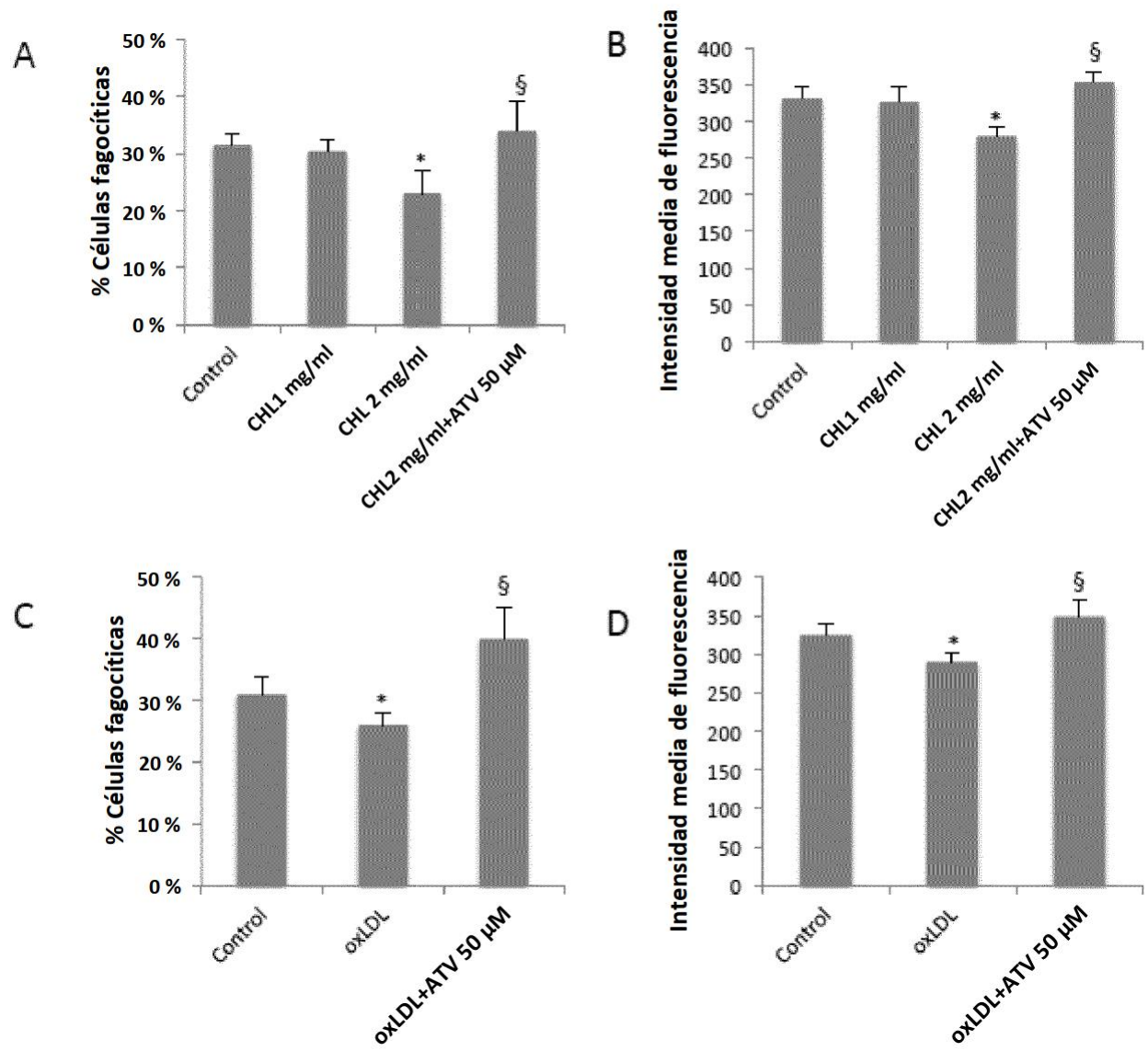


FIG. 7

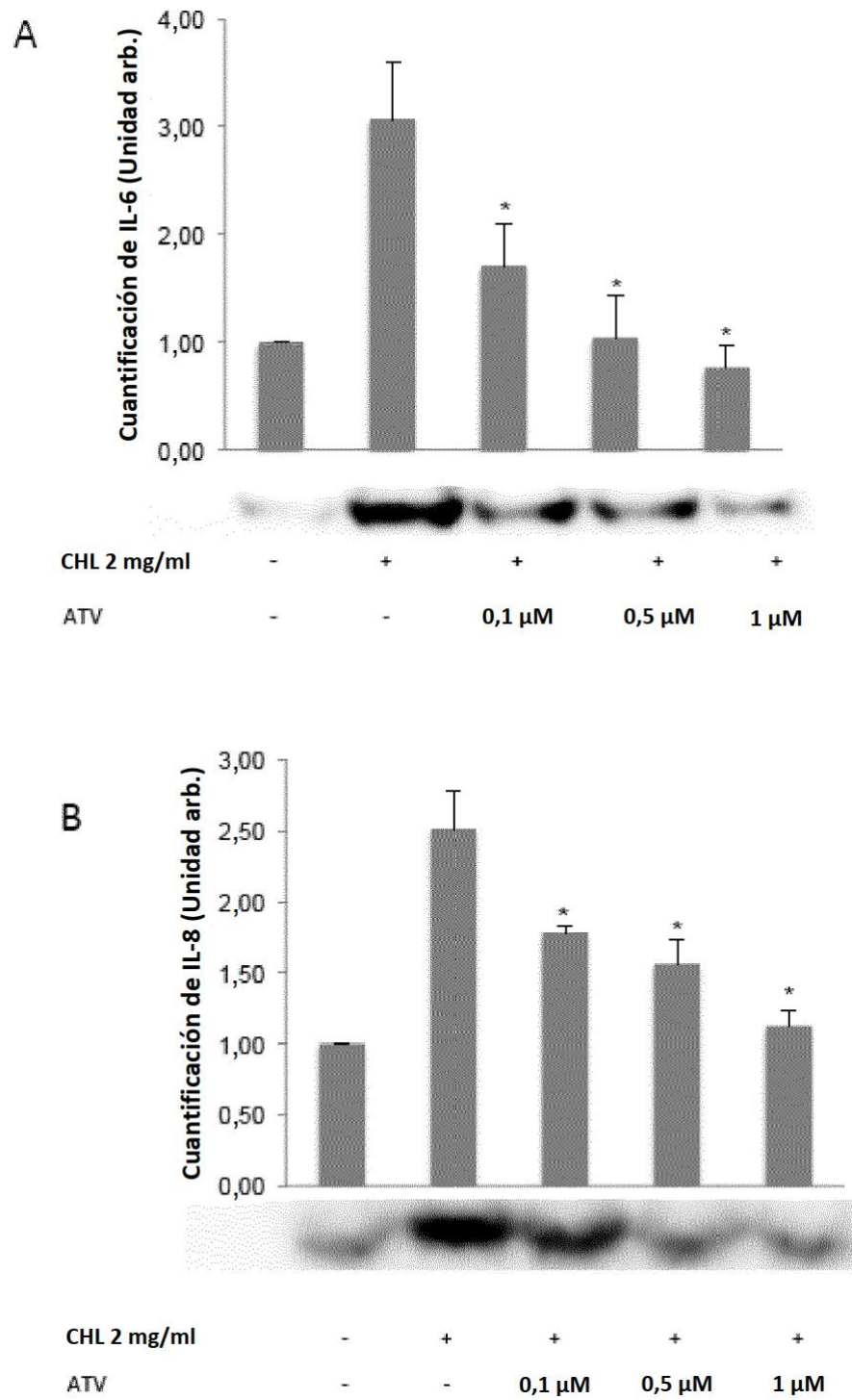


FIG. 7 (cont.)

