

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **3 017 482**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/29 (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61K 35/28 (2015.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.11.2017 PCT/GB2017/053473**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2018 WO18096319**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2017 E 17817018 (9)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025 EP 3544624**

(54) Título: **Tratamientos para la insuficiencia cardíaca y la lesión por reperfusión isquémica cardíaca**

(30) Prioridad:

24.11.2016 GB 201619861

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.05.2025

(73) Titular/es:

**NARODDEN, SALOMON (100.00%)
22 Pinnacle House Battersea Reach Juniper Drive
London SW18 1JE, GB**

(72) Inventor/es:

NARODDEN, SALOMON

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 3 017 482 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

Tratamientos para la insuficiencia cardíaca y la lesión por reperfusión isquémica cardíaca

- 5 La presente invención se refiere al uso de terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas en el tratamiento o profilaxis de enfermedades cardíacas, particularmente insuficiencia cardíaca y lesión por reperfusión isquémica cardíaca. En particular, la invención se refiere a agentes, particularmente a inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 (inhibidores de la DPP-4) y composiciones farmacéuticas comprendiendo dichos agentes, y su uso en combinación con la terapia de ondas de choque para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cardíacos, tales como insuficiencia cardíaca y lesión por reperfusión isquémica cardíaca. Los agentes pueden ser útiles solos o en combinación con otros agentes terapéuticamente activos, tales como agentes movilizadores de células madre, particularmente hormona paratiroides, y células madre, tales como células mononucleares derivadas de médula ósea, particularmente células progenitoras hematopoyéticas.
- 10 15 La insuficiencia cardíaca afecta al 1-2 % de la población en el Reino Unido y es cada vez más frecuente con la edad (1 % de las personas con menos de 65, 6-7 % de las personas con 75-84, 12-22 % de las personas con más de 85 años). La principal causa de insuficiencia cardíaca en el Reino Unido se debe a la enfermedad de las arterias coronarias (aproximadamente el 70 % de los pacientes con insuficiencia cardíaca) con una esperanza de vida promedio de 3 años después del diagnóstico, que es peor que muchas formas de malignidad y aproximadamente el 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730 9735 9740 9745 9750 9755 9760 9765 9770 9775 9780 9785 9790 9795 9800 9805 9810 9815 9820 9825 9830 9835 9840 9845 9850 9855 9860 9865 9870 9875 9880 9885 9890 9895 9900 9905 9910 9915 9920 9925 9930 9935 9940 9945 9950 9955 9960 9965 9970 9975 9980 9985 9990 9995 9999

para reducir la probabilidad de insuficiencia cardíaca y mejorar el pronóstico de los pacientes con, o en riesgo de, insuficiencia cardíaca.

5 Ito y col. (Coronary Artery Disease, 2010, vol. 21(5), pp. 304-311) describe un estudio sobre los efectos de la terapia extracorpórea con ondas de choque cardíacas después de una lesión de I/R miocárdica en cerdos.

10 El documento EE.UU. 2009/297470 describe el uso de movilizadores de células madre, particularmente hormona paratiroidea y G-CSF, para reclutar células madre en tejido que padece isquemia. Indica que los inhibidores de DPP-IV pueden potenciar los efectos de dichos movilizadores de células madre.

15 En el trabajo previo a la presente invención, se determinó sorprendentemente que es posible rescatar cardiomiositos hipóticos de la apoptosis exponiendo las células a ondas de choque de baja energía. En particular, el inventor ha establecido que el tratamiento de cardiomiositos hipóticos con ondas de choque aumenta la fosforilación, es decir, la activación, de la proteína cinasa B (también conocida como Akt). La Akt es un regulador clave de la apoptosis y la Akt activada fosforila e inhibe varias proteínas proapoptóticas, incluidos los miembros de la familia Bcl-2 Bad, Bax, caspasa-9, GSK-3 y FoxO1. Sin embargo, la aplicación de un inhibidor de la vía de PI3K/Akt (LY294002) no afectó el efecto antiapoptótico causado por la aplicación de ondas de choque, es decir, el efecto antiapoptótico del tratamiento con ondas de choque es independiente de la vía de PI3K/Akt (véase el Ejemplo 5). Además, el inventor ha demostrado que la expresión de SDF1, que se sabe que es antiapoptótica, no aumenta en los cardiomiositos expuestos a ondas de choque. Sin embargo, de manera interesante, el tratamiento con ondas de choque de todo el tejido cardíaco da como resultado un aumento de varias proteínas antiapoptóticas, que incluyen SDF1, MCP1, ANG1, VEGF-A, NOS3 y TAC-1. Estos hallazgos han llevado al inventor a proponer nuevas terapias para el tratamiento de diversos trastornos cardíacos utilizando terapias de ondas de choque, particularmente en el tratamiento del daño causado por hipoxia seguida de normoxia, es decir, lesiones por reperfusión isquémica cardíaca.

20 25 Por lo tanto, en esta invención se describen procedimientos y agentes para reducir o minimizar la apoptosis (es decir, la muerte celular) de células en el tejido cardíaco (por ejemplo, cardiomiositos). Más específicamente, en esta invención se describe el uso de terapia de ondas de choque (es decir, terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas) sola o en combinación con otras terapias, particularmente terapias farmacéuticas o farmacológicas (denominadas en esta invención terapias de combinación o terapias combinadas), para inhibir, prevenir o minimizar la apoptosis de células cardíacas, particularmente cardiomiositos. Dichos procedimientos terapéuticos y agentes farmacéuticos se pueden combinar con terapias celulares para reparar y/o restaurar el tejido y la función cardíaca.

30 35 40 Por ejemplo, en esta solicitud se describen procedimientos para tratar sujetos que sufren de infarto agudo de miocardio mediante la administración de terapia extracorpórea de ondas de choque cardíacas, particularmente como un tratamiento adyuvante junto con angioplastia coronaria y colocación de stent. Resulta ventajoso comenzar la terapia extracorpórea con ondas de choque cardíacas tan pronto como sea posible después de un infarto de miocardio. Sin embargo, para los pacientes ingresados en el hospital después de un retraso y que no califican para la revascularización aguda o tienen contraindicaciones para el procedimiento, la terapia con ondas de choque cardíacas extracorpóreas puede usarse sola. Si bien no se desea limitarse a la teoría, se cree que la terapia con ondas de choque cardíacas extracorpóreas puede retrasar la pérdida progresiva de los cardiomiositos restantes a través de la prevención de la apoptosis, lo que puede ser particularmente ventajoso en pacientes con infartos establecidos, es decir, para prevenir, reducir o minimizar la probabilidad de insuficiencia cardíaca.

45 50 Como se señaló anteriormente, se ha descubierto que la terapia con ondas de choque es eficaz como terapia antiapoptótica para cardiomiositos *in vitro*, por ejemplo, para prevenir, reducir o minimizar la apoptosis de cardiomiositos *in vitro*. Por consiguiente, en esta solicitud se describen procedimientos y medios para prevenir, reducir o minimizar la apoptosis de cardiomiositos *in vitro* (por ejemplo, en cultivo, tal como en el cultivo de cardiomiositos para la producción de tejidos artificiales o sintéticos) o *ex vivo* (por ejemplo, en tejido cardíaco extraído de un sujeto, por ejemplo, en un corazón o tejido cardíaco, por ejemplo, válvula, para trasplante).

55 60 65 Como se mencionó anteriormente, el inventor ha establecido que la exposición del tejido cardíaco a las ondas de choque aumenta la secreción de varias quimiocinas, particularmente quimiocinas prosupervivencia tales como SDF-1 (factor derivado de células estromales 1, también conocido como quimiocina de motivo C-X-C 12 (CXCL12), MCP1 (proteína quimioatrayente de monocitos 1, también conocida como CCL2), sustancia P e IGF1 (factor de crecimiento similar a la insulina 1), es decir, las ondas de choque aumentan el "secretoma" prosupervivencia en el tejido cardíaco. En particular, se cree que el secretoma puede tener la forma de uno o más exosomas, por ejemplo, vesículas derivadas de células que contienen una o más quimiocinas. Si bien el aumento del secretoma (o exosomas) prosupervivencia no explica el efecto antiapoptótico de las ondas de choque en los cardiomiositos, se cree que el aumento de estas quimiocinas prosupervivencia puede mejorar la supervivencia de las células cardíacas expuestas a las condiciones de estrés asociadas con la isquemia cardíaca y la reperfusión. Sin embargo, el rápido recambio de quimiocinas significa que el aumento del secretoma prosupervivencia causado por la terapia con ondas de choque puede ser transitorio, lo que significa que podrían ser necesarios tratamientos repetidos con ondas de choque para maximizar los efectos de la terapia con ondas de choque descrita anteriormente. Sin embargo, en algunos casos, la terapia con ondas de choque repetidas puede ser o volverse poco práctica. En general, es preferible evitar la necesidad de visitas repetidas

y regulares a la clínica, ya que esto crea una carga tanto para el paciente como para los profesionales de la salud. Además, los tratamientos repetidos con ondas de choque pueden causar molestias que resulten en tratamientos omitidos, lo que puede reducir la eficacia general del tratamiento.

- 5 La rápida renovación de las quimiocinas es el resultado de su degradación y/o inactivación. Varias enzimas están involucradas en la degradación de quimiocinas *in vivo*, como la dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV o DPP-4), que también se conoce como proteína complejante de adenosina desaminasa 2 o grupo de diferenciación 26 (CD26). DPP-4 es una enzima antigénica expresada en la superficie de la mayoría de los tipos de células. Es una glicoproteína de membrana intrínseca y una serina exopeptidasa que escinde los dipéptidos de X-prolina del extremo N de los polipéptidos. Por lo tanto, DPP-4 tiene una amplia gama de sustratos, que incluyen SDF-1, MCP1, sustancia P e IGF1.

10 Por consiguiente, el inventor ha determinado que la terapia de ondas de choque puede combinarse ventajosamente con uno o más inhibidores de proteasa para reducir, prevenir o minimizar la degradación y/o inactivación de quimiocinas inducidas por la terapia de ondas de choque, es decir, para prolongar la semivida del secretoma prosupervivencia (que puede estar en forma de uno o más exosomas) del tejido cardíaco resultante de la terapia de ondas de choque (denominada en esta solicitud terapia de combinación o terapia combinada). Por ejemplo, los inhibidores de DPP-4 son bien conocidos en la técnica y se pueden combinar fácilmente con los procedimientos y usos de terapia de ondas de choque descritos anteriormente.

- 15 20 Por lo tanto, los inhibidores de DPP-4 pueden potenciar el efecto de la terapia de ondas de choque en los procedimientos y usos descritos anteriormente, es decir, pueden potenciar o mejorar el efecto antiapoptótico de las ondas de choque en el tejido cardíaco, particularmente los cardiomiocitos, mejorando así el tratamiento de la lesión por reperfusión isquémica cardíaca o minimizando o previniendo el daño del tejido cardíaco, particularmente el músculo cardíaco, causado por la isquemia cardíaca y la reperfusión, por ejemplo, mejorando aún más el pronóstico de un sujeto con, o en riesgo de, insuficiencia cardíaca. En particular, la terapia combinada (terapia de combinación) puede funcionar para reducir el tamaño del infarto final y/o prevenir, retrasar o retardar la progresión a insuficiencia cardíaca.

25 30 Por consiguiente, la invención proporciona un inhibidor de DPP-4, o una composición farmacéutica que contiene dicho inhibidor, para su uso en:

- (a) tratamiento o prevención de la insuficiencia cardíaca; o
- (b) tratamiento de la lesión por reperfusión isquémica cardíaca,

35 35 en un sujeto, donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia extracorpórea de ondas de choque cardíacas y donde dicho inhibidor o composición es para la administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.

40 Por lo tanto, se describe en esta invención un inhibidor de DPP-4, o una composición farmacéutica que contiene dicho inhibidor, para su uso en la mejora del pronóstico de un sujeto con, o en riesgo de, insuficiencia cardíaca, donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas y donde dicho inhibidor o composición es para su administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.

45 45 De manera ventajosa, el inventor también ha determinado que la combinación de tratamiento con ondas de choque y terapia con inhibidor de DPP-4 también funciona para promover la angiogénesis en el tejido cardíaco, lo que puede ser particularmente beneficioso en el tratamiento de sujetos con insuficiencia cardíaca (por ejemplo, cardiopatía isquémica crónica o isquemia miocárdica crónica) o lesión por reperfusión isquémica cardíaca.

50 50 Por lo tanto, se describe en esta invención un inhibidor de DPP-4, o una composición farmacéutica que contiene dicho inhibidor, para su uso en la inducción de la angiogénesis en el tejido cardíaco de un sujeto (por ejemplo, un sujeto con insuficiencia cardíaca (por ejemplo, enfermedad cardíaca isquémica crónica o isquemia miocárdica crónica) o lesión por reperfusión isquémica cardíaca), donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas y donde dicho inhibidor o composición es para su administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque. Por lo tanto, la invención proporciona un inhibidor de DPP-4, o una composición farmacéutica que contiene dicho inhibidor, para su uso en el tratamiento o la prevención de la insuficiencia cardíaca (por ejemplo, cardiopatía isquémica crónica o isquemia miocárdica crónica) o el tratamiento de una lesión por reperfusión isquémica cardíaca en un sujeto induciendo la angiogénesis en el tejido cardíaco de dicho sujeto, donde a dicho sujeto se le ha administrado una terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas y donde dicho inhibidor o composición es para su administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.

60 Será evidente que los usos descritos anteriormente para inducir la angiogénesis en el tejido cardíaco de un sujeto también se pueden usar para mejorar el pronóstico de un sujeto con, o en riesgo de, insuficiencia cardíaca.

También se sabe que las células madre secretan factores paracrinos que tienen efectos antiapoptóticos que podrían ser beneficiosos en pacientes que padecen ataques cardíacos y/o insuficiencia cardíaca, particularmente insuficiencia cardíaca causada por una lesión por reperfusión isquémica. Sin embargo, como se ha analizado anteriormente, la administración de células madre al corazón es muy invasiva, costosa y está asociada con una retención celular deficiente. Además, si bien las terapias de ondas de choque descritas anteriormente (incluida la terapia combinada) pueden minimizar el daño al tejido cardíaco causado por un infarto de miocardio, por ejemplo, una lesión por reperfusión isquémica cardíaca, no proporcionan ningún beneficio funcional para el corazón en términos de la mejora de la fracción de eyección, es decir, las terapias de ondas de choque descritas anteriormente no restauran la función del corazón ni reparan el daño causado por un infarto de miocardio, por ejemplo, una lesión por reperfusión isquémica cardíaca.

Por lo tanto, el inventor ha determinado además que los usos descritos anteriormente pueden mejorarse adicionalmente proporcionando a los sujetos células madre o células progenitoras que pueden reemplazar las células cardíacas, particularmente los cardiomiositos, que murieron como consecuencia de las afecciones de estrés asociadas con el infarto de miocardio, por ejemplo, lesión por reperfusión isquémica. A este respecto, se cree que el secretoma a favor de la supervivencia (que puede estar en forma de uno o más exosomas) inducido en el tejido cardíaco tras la exposición a ondas de choque puede funcionar para atraer o reclutar células madre al tejido dañado, mejorando así la retención de las células dentro del corazón y permitiendo la reparación efectiva del tejido dañado (es decir, restaurando, al menos parte, de la función cardíaca perdida). En otras palabras, se puede ver que la terapia de ondas de choque proporciona un entorno que facilita o potencia la retención de células madre dentro del tejido cardíaco y el posterior injerto de dichas células dentro del tejido cardíaco. Si bien las células madre pueden administrarse al tejido cardíaco directamente, por ejemplo, mediante inyección intravenosa, intracoronaria, transendocárdica y/o intramiocárdica como se describió anteriormente, será evidente a partir de la discusión a continuación que la presente invención elimina la necesidad de administración invasiva de células madre.

A este respecto, además de proporcionar un entorno que facilita o potencia la retención de células madre dentro del tejido cardíaco, el secretoma del tejido cardíaco (que puede estar en forma de uno o más exosomas) inducido por la terapia de ondas de choque puede funcionar para atraer o reclutar células madre de sitios distintos del corazón, por ejemplo, células madre que están presentes en la sangre. En otras palabras, la terapia descrita en esta solicitud puede facilitar la migración de células madre al corazón. Esto puede permitir que las células madre se administren de forma no invasiva, es decir, mediante inyección en un sitio que no sea el corazón, por ejemplo, inyección en la circulación sanguínea periférica. Por lo tanto, la presente invención obvia la necesidad de cirugía a corazón abierto y la inyección directa de células madre al tejido cardíaco, por ejemplo, usando catéteres en el suministro de sangre coronaria, no es necesaria.

De manera ventajosa, la presente invención apoya el uso de células madre endógenas, por ejemplo, células madre que están presentes en la sangre del sujeto a tratar. Por lo tanto, la terapia de ondas de choque puede dar como resultado la orientación no invasiva (es decir, reclutamiento y posterior injerto) de células madre en la circulación periférica al tejido cardíaco. A este respecto, puede ser útil aumentar la cantidad de células madre presentes en la sangre, por ejemplo, utilizando un movilizador farmacológico de células madre, como la hormona paratiroidea, como se analiza con más detalle a continuación.

Así, en algunas realizaciones, el inhibidor de DPP-4 o la composición farmacéutica comprendiendo dicho inhibidor se proporciona como una preparación combinada con un movilizador farmacológico de células madre, por ejemplo, hormona paratiroidea o un fragmento de la misma, para uso o administración separada, simultánea o secuencial al sujeto (una llamada terapia de combinación).

En algunos sujetos (es decir, pacientes), puede ser beneficioso recoger células madre del sujeto (por ejemplo, antes del inicio del tratamiento) y administrar dichas células al sujeto (por ejemplo, mediante inyección en la circulación periférica) en el momento más apropiado, por ejemplo, antes de la terapia con ondas de choque como se analiza con más detalle a continuación. Por ejemplo, puede ser necesario recoger u obtener células madre de un sujeto si el sujeto no responde a los agentes utilizados para movilizar las células madre, por ejemplo, la hormona paratiroidea, o si dichos agentes están contraindicados. Puede ser útil expandir la población de células madre *in vitro* (es decir, para cultivar las células madre endógenas del sujeto *in vitro*) antes de la administración. Dichos procedimientos de expansión son bien conocidos en la técnica.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, el inhibidor de DPP-4 o la composición farmacéutica comprendiendo dicho inhibidor se proporciona como una preparación combinada con células madre para su uso o administración separada, simultánea o secuencial a un sujeto (una denominada terapia de combinación).

Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células madre se obtienen de dicho sujeto y opcionalmente se expanden *in vitro* antes de la administración. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células madre son células madre exógenas, por ejemplo, células madre autogénicas.

En otras realizaciones, las células madre se pueden usar en combinación con agentes farmacológicos adecuados

para movilizar las células madre, como la hormona paratiroidea o un fragmento de la misma (la llamada terapia de combinación).

5 En algunos casos, puede ser deseable o necesario usar células madre de un sujeto donante. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células madre son células madre de donantes exógenos, es decir, células madre alogénicas.

10 Será evidente que las células madre obtenidas o recogidas de un sujeto pueden no ser adecuadas para la administración inmediata, es decir, puede ser necesario o ventajoso modificar las células madre antes de la administración. Por ejemplo, como se mencionó anteriormente, puede ser útil expandir o cultivar las células madre *in vitro* para aumentar la cantidad de células madre para la administración. De manera adicional o alternativa, puede ser útil aislar o separar diferentes tipos de células madre antes de la administración. Además, en algunas realizaciones, las células madre pueden tratarse para diferenciar las células para hacerlas más adecuadas para su uso, por ejemplo, para diferenciar las células en tipos de células que pueden ser particularmente ventajosas en las terapias de la invención, por ejemplo, células de macrófagos M2c como se analiza a continuación. Por ejemplo, la recogida u obtención de células madre puede implicar el aislamiento de células progenitoras sanguíneas de un sujeto (por ejemplo, el sujeto a tratar o un sujeto donante), tales como células mononucleares derivadas de médula ósea, y el cultivo de dichas células *in vitro* en condiciones adecuadas para las células madre o poblaciones de células madre preferidas descritas con más detalle a continuación. Sin embargo, en algunas realizaciones, las células progenitoras sanguíneas no experimentan diferenciación *in vitro*, es decir, en algunas realizaciones las células madre para la administración son células progenitoras sanguíneas, por ejemplo, células mononucleares derivadas de médula ósea.

15 Como se analiza con más detalle en los Ejemplos a continuación, el inventor ha determinado que la exposición de las células endoteliales vasculares a las ondas de choque da como resultado el aumento rápido y transitorio de la expresión génica de SDF-1. La expresión máxima de SDF-1 se observa entre 2-6 horas, es decir, aproximadamente 4 horas, después de la exposición a ondas de choque, volviendo a los niveles iniciales en el punto de tiempo de 24 horas. Se observó un patrón de expresión similar para VEGFA y MCP1 en fibroblastos cardíacos, donde la expresión máxima se observa alrededor de 3 horas después de la exposición a ondas de choque. Sin embargo, si bien la exposición a ondas de choque aumenta la expresión de SDF-1 en fibroblastos, existe un retraso en la expresión de modo que la expresión máxima no se observa hasta al menos aproximadamente 24 horas después de la exposición a ondas de choque.

20 Como se discutió anteriormente, se cree que el secretoma (que puede estar en forma de uno o más exosomas) inducido por la terapia con ondas de choque puede actuar para reclutar células madre al tejido cardíaco y potenciar su retención en dicho tejido. Por consiguiente, en algunas realizaciones puede ser ventajoso administrar células madre y/o un movilizador farmacológico de células madre antes de la terapia con ondas de choque. Por ejemplo, las células madre y/o un movilizador farmacológico de células madre pueden administrarse (es decir, para administración) al menos 8 horas antes de la terapia con ondas de choque, por ejemplo, al menos 12, 16, 20, 24 horas antes de la terapia con ondas de choque. En algunas realizaciones, las células madre y/o un movilizador farmacológico de células madre pueden administrarse (es decir, para la administración) al menos 24, 30, 36, 42 o 48 horas antes de la terapia con ondas de choque.

25 En algunas realizaciones puede ser útil administrar células madre y/o un movilizador farmacológico de células madre inmediatamente después de la terapia con ondas de choque, es decir, tan pronto como sea posible después de la terapia con ondas de choque. Esto puede ser además de la administración previa descrita anteriormente o como una realización alternativa, es decir, en algunas realizaciones, las células madre y/o un movilizador farmacológico de células madre no se administran antes de la terapia con ondas de choque. La administración inmediatamente o tan pronto como sea posible después de la terapia con ondas de choque significa dentro de los minutos u horas posteriores a que se haya completado la terapia con ondas de choque, por ejemplo, dentro de los 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 o 120 minutos posteriores a la finalización de la terapia con ondas de choque, es decir, la finalización de una dosis de terapia con ondas de choque, por ejemplo, 500-2000 pulsos. Por ejemplo, la administración puede ser dentro de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 horas de la finalización de la terapia con ondas de choque. Como se analiza más adelante, en algunas realizaciones, la dosis de terapia de ondas de choque (por ejemplo, 500-2000 pulsos) puede administrarse durante más de una sesión, es decir, la administración de la dosis puede interrumpirse. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células madre y/o un movilizador farmacológico de células madre se pueden administrar durante la terapia de ondas de choque, por ejemplo, durante una interrupción en la administración de una dosis de ondas de choque.

30 Los términos "terapia de ondas de choque" y "terapia de ondas de choque extracorpóreas" (ESWT - *Extracorporeal Shockwave Therapy*) se usan indistintamente en esta invención y se refieren a la administración de pulsos de alta amplitud de energía mecánica (ondas de presión acústica), similares a las ondas sonoras, típicamente generadas por una bobina electromagnética. En particular, la ESWT se refiere al uso de ondas de choque de "baja energía". A este respecto, las ondas de choque de "alta energía" pueden definirse como las utilizadas en la "litotricia por ondas de choque extracorpóreas" (ESWL - *Extracorporeal Shockwave Lithotripsy*), que es un tratamiento no invasivo de los cálculos renales. Por lo tanto, las ondas de choque de "baja energía" para su uso en la presente invención son distintas de las ondas de choque utilizadas en ESWL.

- Por lo tanto, las ondas de choque de baja energía se pueden definir como ondas de choque que tienen una energía de aproximadamente 0,01-0,50 mJ/mm² (aproximadamente 0,1-5 Bar). Por el contrario, las ondas de choque de alta energía pueden definirse como ondas de choque que tienen una energía de al menos 0,85 mJ/mm² (aproximadamente 8,5 Bar). Por lo tanto, en una realización preferida de la invención, las ondas de choque de baja energía para su uso en la presente invención tienen una energía de aproximadamente 0,01-0,45 mJ/mm², por ejemplo, 0,02-0,40, 0,03-0,35, 0,04-0,30 o 0,05-0,25 mJ/mm² (aproximadamente 0,1-4,5 Bar, por ejemplo, 0,2-4, 0,3-3,5, 0,4-3,0 o 0,5-2,5 Bar). Por ejemplo, las ondas de choque de baja energía para su uso en la presente invención tienen una energía de alrededor de 0,05, 0,10, 0,15, 0,2 o 0,25mJ/mm² (aproximadamente 0,5, 1, 1,5, 2 o 2,5 Bar).
- Las ondas de choque de baja energía pueden administrarse usando cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la terapia de ondas de choque puede administrarse usando un litotriptor de ondas de choque extracorpóreo electrohidráulico, tal como un litotriptor DUOLITH® SD1.
- Los Ejemplos describen la administración de ondas de choque *in vitro* utilizando un aparato que genera ondas de choque radiales. Las ondas de choque radiales se extienden sobre una gran área de superficie y, por lo tanto, no penetran en el tejido profundo. Como tal, las ondas de choque radiales generalmente encuentran utilidad en el tratamiento de patologías cercanas a la superficie, como los síndromes de dolor miofascial. En consecuencia, las ondas de choque radiales son particularmente adecuadas para experimentos *in vitro*, donde no se requiere una penetración profunda. Por el contrario, los usos de la invención típicamente usan aparatos capaces de generar ondas de choque enfocadas, que son capaces de penetrar en el tejido profundo, tal como el corazón. Las ondas de choque enfocadas tienen un pequeño punto focal que permite dirigirse a un área específica del tejido. Tanto las ondas de choque radiales como las focalizadas son "ondas de presión" que generan respuestas biológicas similares, es decir, respuestas similares en células y tejidos. Por lo tanto, la diferencia principal entre las ondas de choque radiales y enfocadas en el contexto de la presente invención se refiere a la profundidad de penetración en el tejido. Por consiguiente, en un aspecto preferido de la invención, las ondas de choque utilizadas en los usos de la invención son ondas de choque enfocadas.
- El término "extracorpóreo" significa que las ondas de choque se generan externamente al cuerpo y se transmiten, por ejemplo, desde una almohadilla, a través de la piel.
- La terapia de ondas de choque implica la administración de múltiples pulsos de ondas de choque de baja energía. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la terapia de ondas de choque (es decir, una dosis de ondas de choque de baja energía) comprende la administración de al menos aproximadamente 500 pulsos de ondas de choque, tales como al menos 750, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900 o 2000 pulsos de ondas de choque. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la terapia con ondas de choque comprende la administración de aproximadamente 500-2000 pulsos, por ejemplo, 600-1900, 700-1800, 800-1700, 900-1600 o 1000-1500 pulsos.
- La terapia de ondas de choque para su uso en la presente invención es terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas, lo que significa que las ondas de choque se centran en el tejido cardíaco, como se describe con más detalle a continuación. En particular, los pulsos de onda de choque se suministran (es decir, se administran) durante los períodos de contracción isovolúmica y/o relajación isovolúmica del ciclo cardíaco. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la terapia con ondas de choque comprende la administración de pulsos de ondas de choque (es decir, uno o más pulsos) durante la contracción isovolúmica y/o el período de relajación isovolúmica del corazón.
- El período de contracción isovolumétrica (isovolumétrica) es el tiempo en la sístole temprana durante el cual los ventrículos se contraen sin cambio de volumen (isovolumétricamente). Esta parte de corta duración de su contracción tiene lugar durante un momento en que las válvulas cardíacas están todas cerradas.
- El período de tiempo de relajación isovolúmica (IVRT - *Isovolumic Relaxation Time*) se refiere a un intervalo en el ciclo cardíaco desde el cierre de la válvula aórtica hasta el inicio del llenado mediante la apertura de la válvula mitral.
- Será evidente que, dependiendo de la frecuencia cardíaca, se puede administrar más de un pulso de onda de choque durante cada contracción isovolúmica y/o período de relajación isovolúmica. En consecuencia, la duración del tratamiento (es decir, la cantidad de tiempo requerido para administrar (administrar) como dosis de ondas de choque, por ejemplo, 500-2000 pulsos) dependerá de la frecuencia cardíaca del sujeto a tratar. Sin embargo, en algunas realizaciones, se prefiere que todos los pulsos de onda de choque (por ejemplo, 500-2000 pulsos) se administren dentro de un período de 4 horas, preferentemente dentro de un período de 3 horas o un período de 2 horas, por ejemplo, dentro de 1 hora. En algunos casos, puede no ser posible administrar todos los pulsos de onda de choque (es decir, una dosis de pulsos de onda de choque) en una sola sesión, por ejemplo, debido a la incomodidad del paciente. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los pulsos de onda de choque se administran en más de una sesión, es decir, los 500-2000 pulsos se administran en múltiples sesiones. Preferentemente, todas las sesiones se encuentran dentro del período de tiempo mencionado anteriormente, es decir, dentro de un período de 4 horas.
- Los pulsos de onda de choque se suministran (es decir, se administran) a los segmentos o áreas enfermas del corazón

(por ejemplo, el tejido infartado) y su tejido cardíaco circundante. En algunas realizaciones, el punto focal de los pulsos de onda de choque puede dirigirse a una región específica del tejido cardíaco, es decir, los segmentos enfermos.

En algunas circunstancias, por ejemplo, en el caso de una situación aguda, como un sujeto que experimenta un infarto de miocardio, puede no haber tiempo suficiente para determinar la ubicación precisa de los segmentos enfermos (infartados), es decir, para mapear los segmentos enfermos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la ubicación de los segmentos enfermos o afectados (por ejemplo, infartados) puede determinarse generalmente utilizando reconocimiento de patrones de electrocardiograma (ECG) y/o visualización de ecocardiografía (eco) (es decir, un eco cardíaco, que es un sonograma del corazón). Por lo tanto, en algunas realizaciones, la región del corazón (es decir, tejido cardíaco) a la que se dirige la terapia con ondas de choque (es decir, la región donde se dirige el punto focal de los pulsos de ondas de choque) se determina mediante visualización por ecocardiografía (eco) y/o reconocimiento de patrones de ECG.

En algunos casos, por ejemplo, en el caso de una situación crónica (por ejemplo, el tratamiento de un sujeto con insuficiencia cardíaca) o después de que la condición de un paciente se haya estabilizado después del infarto de miocardio, la ubicación de los segmentos enfermos del corazón (por ejemplo, tejido infartado y/o cicatricial) se puede determinar con precisión utilizando imágenes de resonancia magnética cardíaca (MRI). En particular, la resonancia magnética cardíaca se puede usar para determinar el área en riesgo, el índice de rescate y para medir otros índices funcionales. Lo ideal es realizar una resonancia magnética cardíaca tan pronto como sea posible después del infarto de miocardio, por ejemplo, dentro de una semana del infarto de miocardio.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la región del corazón (es decir, el tejido cardíaco) a la que se dirige la terapia de ondas de choque (es decir, la región donde se dirige el punto focal de los pulsos de ondas de choque) se determina mediante MRI. En otras palabras, se puede requerir una etapa de determinar el tamaño del segmento enfermo del tejido cardíaco, es decir, determinar o evaluar el área y/o el volumen del tejido infartado, por ejemplo, tejido cicatricial.

La resonancia magnética cardíaca se puede utilizar para evaluar la eficacia de los usos terapéuticos de la invención. Por lo tanto, una etapa de MRI en el corazón de un sujeto después del tratamiento según la invención se puede usar para determinar la eficacia del tratamiento y/o para determinar el pronóstico del sujeto. Dichas etapas pueden realizarse a intervalos de tiempo apropiados, por ejemplo, diariamente, semanalmente, mensualmente y/o anualmente.

Como se analiza con más detalle a continuación, la insuficiencia cardíaca es una enfermedad progresiva. Por lo tanto, algunos sujetos (por ejemplo, sujetos con insuficiencia cardíaca crónica) pueden beneficiarse de sesiones de tratamiento con ondas de choque repetidas en combinación con los tratamientos farmacológicos descritos en esta solicitud. Por ejemplo, el tratamiento con ondas de choque (es decir, dosis de pulsos de ondas de choque) se puede proporcionar más de una vez a la semana, por ejemplo, dos o tres veces a la semana. Además, las sesiones de tratamiento semanales pueden repetirse o ciclarse, por ejemplo, cada semana, cada dos semanas, cada mes o cada dos meses durante un máximo de 6 meses. Además, estos ciclos se pueden repetir, por ejemplo, trimestralmente, bianualmente, anualmente, etc., por ejemplo, para mantener los efectos beneficiosos, especialmente en pacientes con un infarto establecido donde la viabilidad de los cardiomiocitos restantes está en riesgo. Como se mencionó anteriormente, la eficacia del tratamiento se puede controlar mediante resonancia magnética cardíaca y un programa de tratamiento adecuado dependerá del sujeto a tratar y está dentro del alcance de un experto en la materia.

El inhibidor de DPP-4 para su uso en la terapia combinada de la invención puede administrarse antes, simultáneamente y/o después de la administración de la terapia de ondas de choque. En realizaciones particularmente preferidas de la invención, la administración del inhibidor de DPP-4 comienza antes de la terapia de ondas de choque y se administra a lo largo del transcurso de la terapia de ondas de choque. Por lo tanto, por ejemplo, cuando la terapia con ondas de choque se administra durante un transcurso de semanas o meses, el inhibidor de DPP-4 se administra al sujeto continuamente durante ese periodo, por ejemplo, se administran dosis diarias o semanales del inhibidor de DPP-4 al sujeto durante el periodo de tratamiento con ondas de choque. Preferentemente, el inhibidor de DPP-4 se administrará antes del inicio de la terapia con ondas de choque y se puede continuar después de la terapia con ondas de choque para maximizar los efectos. Por ejemplo, la administración del inhibidor de DPP-4 puede comenzar semanas, por ejemplo, 1-4, 1-3 o 1-2 semanas, antes de la primera dosis de pulsos de onda de choque y puede continuar durante semanas o meses después de la última dosis de pulsos de onda de choque, por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 semanas, tal como 1, 2, 3, 4, 5 o 6 meses después de que se administre la última dosis de pulsos de onda de choque.

Los términos "inhibidor de DPP-4" o "antagonista de DPP-4" se refieren a agentes capaces de inhibir, reducir o bloquear directa o indirectamente la actividad o función de DPP-4. Por ejemplo, los inhibidores directos incluyen agentes que interactúan directamente con DPP-4 para inhibir, reducir o bloquear la actividad o función de DPP-4. Dichos agentes pueden funcionar a través de la inhibición competitiva, la inhibición no competitiva, la inhibición sobre-competitiva o la inhibición mixta. Inhibidores indirectos no interactúan directamente con DPP-4. Por lo tanto, por ejemplo, los inhibidores indirectos pueden inhibir, reducir o bloquear la actividad o función de DPP-4 al reducir la expresión del gen que codifica la enzima DPP-4. En una realización preferida de la invención, el inhibidor de DPP-4 inhibe, reduce o bloquea directamente la actividad o función de DPP-4.

En algunas realizaciones preferidas de la invención, el término inhibidor de DPP-4 se refiere a una clase de fármacos hipoglucémicos orales que bloquean la actividad de DPP-4 directamente. Inhibidores de DPP-4 generalmente se utilizan para bloquear la degradación del péptido similar al glucagón 1 (GLP1) y encontrar utilidad en el tratamiento de la diabetes. Ejemplos de inhibidores de DPP-4 incluyen sitagliptina, linagliptina, vildagliptina, saxagliptina, gemigliptina, anagliptina, teneligliptina, alogliptina, trelagliptina, dutogliptina, omarigliptina y lupeol. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el inhibidor de DPP-4 para su uso en la invención puede ser sitagliptina, linagliptina, vildagliptina, gemigliptina, anagliptina, teneligliptina, trelagliptina, dutogliptina, omarigliptina, lupeol o una combinación de los mismos. En una realización particularmente preferida de la invención, el inhibidor de DPP-4 para su uso en la invención puede ser sitagliptina, linagliptina o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones particularmente preferidas de la invención, el inhibidor de DPP-4 para su uso en la invención no es alogliptina o saxagliptina.

También se incluyen las sales de dichos compuestos, incluidas las sales orgánicas e inorgánicas (por ejemplo, con contraiones de metales alcalinos y alcalinotérreos, amonio, etanolamina, dietanolamina y meglumina, cloruro, carbonato de hidrógeno, fosfato, sulfato y acetato). Sales farmacéuticamente y/o fisiológicamente aceptables apropiadas están bien descritas en la bibliografía farmacéutica. Además, algunas de estas sales pueden formar solvatos con agua o disolventes orgánicos tales como etanol. Dichos solvatos también están incluidos dentro del alcance de esta invención.

Los términos "célula madre" y "célula progenitora", como se usan en esta invención, se refieren a células biológicas indiferenciadas que pueden diferenciarse en células especializadas, es decir, células totipotentes, pluripotentes o multipotentes. Las células madre son células madre no embrionarias. En particular, las células madre o células progenitoras para su uso en la presente invención son capaces de diferenciarse en células madre cardíacas y/o cardiomiositos. En realizaciones donde a los sujetos se les administra un agente que moviliza células madre, las células madre o células progenitoras pueden derivar o reclutarse de la circulación periférica, es decir, sangre. De manera similar, en realizaciones donde las células madre o células progenitoras se recogen u obtienen de un sujeto antes de la administración, las células madre o células progenitoras típicamente se pueden recoger u obtener de la circulación periférica, es decir, sangre, del sujeto a tratar o un sujeto donante. Sin embargo, será evidente que las células madre o células progenitoras se pueden cosechar u obtener de otros tejidos apropiados, tales como la médula ósea. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células madre o células progenitoras se derivan de o comprenden células mononucleares derivadas de médula ósea.

El término "células mononucleares derivadas de la médula ósea" (BM-MNC) se refiere a una población de células que incluye células progenitoras hematopoyéticas, células linfoides (linfocitos (por ejemplo, células T) y células plasmáticas), monocitos y macrófagos. Si bien no se desea limitarse a la teoría, se cree que los macrófagos M2 y las células progenitoras hematopoyéticas pueden actuar en combinación en el rescate, reparación o facilitar el reemplazo de cardiomiositos dañados o muertos, por ejemplo, como resultado de una lesión por reperfusión isquémica. También se postula que las células T son atraídas (reclutadas) al tejido cardíaco después de la terapia de ondas de choque (incluida la terapia combinada), lo que crearía un entorno propicio para la supervivencia celular.

Por lo tanto, en realizaciones preferidas de la invención, puede ser útil usar una población o combinación de células madre, es decir, las células madre o células progenitoras comprendiendo una población de células comprendiendo células progenitoras hematopoyéticas y opcionalmente uno o más tipos de células seleccionadas de células linfoides (linfocitos, por ejemplo, células T), monocitos y macrófagos. En algunos casos, puede ser útil usar un subconjunto de BM-MNC. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las células madre o células progenitoras son o comprenden células progenitoras hematopoyéticas y opcionalmente macrófagos, particularmente macrófagos M2.

El término "macrófagos M2" (también denominados macrófagos activados alternativamente) se refiere ampliamente a macrófagos que funcionan en procedimientos constructivos como la cicatrización de heridas y la reparación de tejidos. Los macrófagos M2 también pueden desactivar la activación dañina del sistema inmunitario al producir citocinas antiinflamatorias como la IL-10. Los macrófagos M2 producen altos niveles de IL-10, TGF-beta y bajos niveles de IL-12. En particular, los macrófagos M2 no constituyen una población uniforme y, a menudo, se subdividen en las categorías M2a, M2b y M2c. Los macrófagos M2a están involucrados en la respuesta inmune de tipo Th2, por ejemplo, contra los parásitos. Los macrófagos M2b se consideran reguladores de la inmunidad y son inducidos por IL-1, LPS y complejos inmunes. Los macrófagos M2c se inducen en presencia de IL-10 y TGF-B. A menudo se les conoce como desactivados o antiinflamatorios y se sabe que están involucrados en la reparación y remodelación de tejidos. Producen grandes cantidades de IL-10 y TGF-beta y expresan múltiples receptores, tales como: CD163, CD206, RAGE y otros receptores depuradores. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los macrófagos M2 son macrófagos M2c.

El término "movilizador farmacológico de células madre" se refiere a agentes capaces de inducir, mejorar o aumentar directa o indirectamente el número de células madre en la circulación periférica de un sujeto. En particular, el movilizador de células madre farmacológico puede ser un movilizador de células madre hematopoyéticas. En la técnica se conocen diversos agentes, tales como hormona paratiroides, G-CSF, ancestim, mozobil, plerixafor y stemgen y cualquier agente de este tipo se puede usar en los usos de la invención. En una realización preferida de la invención,

el movilizador farmacológico de células madre es hormona paratiroidea o un fragmento de la misma.

La hormona paratiroidea (PTH), también llamada parathormona o paratirina, es una hormona secretada por las glándulas paratiroides. La PTH es secretada por las células principales de las glándulas paratiroides como un polipéptido que contiene 84 aminoácidos, que es una prohormona. En particular, la interacción hormona-receptor efectiva requiere únicamente los aminoácidos 34-N-extremos de la prohormona. Por lo tanto, el fragmento de PTH para su uso en la invención comprende al menos los 34 aminoácidos del extremo N de la PTH. En algunas realizaciones, el fragmento comprende o consiste en teriparatida. La teriparatida es una forma recombinante de PTH que consiste en los aminoácidos 34-N-extremos de PTH.

El término "injerto" se refiere a la incorporación de tejido injertado en el cuerpo del huésped. Por lo tanto, en el contexto de la presente invención, el injerto se refiere a la incorporación de células madre en el tejido cardíaco del sujeto a tratar. Las células madre pueden ser endógenas al sujeto a tratar, por ejemplo, movilizadas como resultado de la administración de un movilizador de células madre, tal como la hormona paratiroidea. De manera alternativa, las células madre pueden ser exógenas, es decir, administradas por separado, por ejemplo, obtenidas o recogidas del sujeto que se va a tratar o de un sujeto donante, opcionalmente modificadas *in vitro*, y posteriormente administradas al sujeto que se va a tratar.

El término "insuficiencia cardíaca", como se usa en esta invención, incluye cualquier afección caracterizada por una función cardíaca alterada, específicamente una función ventricular alterada (disfunción ventricular), ya sea debido a una acción de bombeo reducida (disfunción sistólica) o un llenado reducido (disfunción diastólica). La disfunción sistólica puede describirse como una afección de disfunción contráctil ventricular. Se observa un vaciado ventricular inadecuado. La disfunción diastólica puede describirse como resistencia al llenado ventricular. Por lo tanto, la insuficiencia cardíaca puede considerarse una afección ventricular o una afección de insuficiencia ventricular.

La insuficiencia cardíaca puede ser del lado izquierdo (afección o disfunción ventricular izquierda) o del lado derecho (afección o disfunción ventricular derecha) o puede afectar ambos lados del corazón (ventrículos derecho e izquierdo). La insuficiencia cardíaca implica una función alterada del miocardio del corazón. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los usos terapéuticos descritos en esta solicitud pueden mejorar la función del miocardio del corazón. Sin embargo, en algunos pacientes, especialmente en la fase temprana de la insuficiencia cardíaca, la fracción de eyección (discutida a continuación) podría estar dentro de los parámetros normales, por ejemplo, 50 % o más, es decir, 50-70 %. Por ejemplo, varios mecanismos compensatorios pueden aumentar el volumen sistólico de modo que la fracción de eyección no se reduzca inmediatamente (por ejemplo, mediante la alteración de la precarga, la poscarga, la resistencia vascular sistémica u otro mecanismo compensatorio). Por lo tanto, en algunas realizaciones, los usos terapéuticos descritos en esta solicitud pueden mantener la función del miocardio del corazón.

En particular, se refieren a las formas crónicas de insuficiencia cardíaca (es decir, insuficiencia cardíaca crónica).

Por lo tanto, la insuficiencia cardíaca puede definirse como un trastorno que puede resultar de cualquier afección que reduzca la capacidad del corazón para bombear sangre. A menudo, la causa es la disminución de la contractilidad del miocardio como resultado de la disminución del flujo sanguíneo coronario (por ejemplo, insuficiencia cardíaca causada por enfermedad de las arterias coronarias (CAD - Coronary Artery Disease) o enfermedad isquémica coronaria), pero la falta de bombeo de cantidades adecuadas de sangre también puede ser causada por daño a las válvulas cardíacas, presión externa alrededor del corazón, enfermedades musculares cardíacas primarias (por ejemplo, miocardiopatía dilatada idiopática) o cualquier otra anomalía que haga que el corazón sea una bomba hipoeficaz. Como se mencionó anteriormente, la insuficiencia cardíaca crónica es particularmente preocupante.

Por lo tanto, se incluye la insuficiencia cardíaca causada por o resultante de una cardiopatía isquémica (miocardiopatía isquémica), particularmente la cardiopatía isquémica crónica (por ejemplo, isquemia miocárdica crónica). Por lo tanto, la insuficiencia cardíaca a tratar mediante los usos de la invención es insuficiencia cardíaca crónica o isquémica. En realizaciones particularmente preferidas de la invención, la insuficiencia cardíaca que se va a tratar con los usos de la presente invención es el resultado de una lesión por reperfusión isquémica cardíaca, por ejemplo, causada por un infarto de miocardio.

Como se describió anteriormente, la lesión por reperfusión isquémica cardíaca se refiere al daño al tejido cardíaco causado cuando el suministro de sangre regresa al tejido cardíaco después de un período de isquemia o falta de oxígeno (anoxia, hipoxia). La ausencia de oxígeno y nutrientes de la sangre durante el período isquémico crea una condición donde la restauración de la circulación y la rápida elevación de los niveles de oxígeno (es decir, normoxia o hiperoxia) produce inflamación y daño oxidativo a través de la inducción de estrés oxidativo en lugar de la restauración de la función normal. Esto, a su vez, puede dar lugar a la apoptosis de los miocitos y un posterior deterioro del miocardio del corazón.

"Hipoxia" se refiere a una condición de baja tensión de oxígeno, típicamente en el intervalo de 1-5 % O₂, y a menudo se encuentra en la región central de los tumores debido a una mala vascularización. "Anoxia" se refiere a una ausencia sustancial de oxígeno, por ejemplo, tensiones de oxígeno de menos de 0,5 % de O₂, tal como menos de 0,1 % de O₂.

"Normoxia" se refiere a tensiones de oxígeno entre 10-21 %. "Hiperoxia" se refiere a tensiones de oxígeno superiores al 21 %.

- 5 La insuficiencia cardíaca puede manifestarse de dos maneras: (1) por una disminución del gasto cardíaco o (2) por un bloqueo de la sangre en las venas detrás del corazón izquierdo o derecho. El corazón puede fallar como una unidad completa o el lado izquierdo o el lado derecho pueden fallar independientemente el uno del otro. De cualquier manera, la insuficiencia cardíaca puede provocar congestión circulatoria y esto en el pasado se ha denominado insuficiencia cardíaca congestiva.
- 10 La insuficiencia cardíaca se puede dividir en dos fases, insuficiencia cardíaca aguda (a corto plazo e inestable) e insuficiencia cardíaca crónica (a largo plazo y relativamente estable). La división entre las dos es difícil de definir con precisión, pero en general la insuficiencia cardíaca aguda es la etapa de la insuficiencia que se produce inmediatamente después del daño cardíaco (es decir, tiene un inicio rápido y un curso corto) y se asocia con inestabilidad en la función cardíaca y la circulación, por ejemplo, una caída repentina del gasto cardíaco. Siempre que la fase aguda no sea tan grave como para provocar la muerte, los reflejos simpáticos del cuerpo se activan inmediatamente y pueden compensar la pérdida repentina de la función cardíaca. Dicha compensación a menudo puede ser tan efectiva y rápida que es posible que no se sienta un efecto notable en el sujeto si un sujeto permanece tranquilo.
- 15 20 Después de los primeros minutos de un ataque cardíaco agudo, comienza un estado secundario prolongado. Esto se caracteriza por una retención de líquido por los riñones y por la recuperación progresiva del corazón durante un período de varias semanas a meses hasta el punto en que la afección cardíaca se estabiliza. Esta fase de estabilidad se conoce como insuficiencia cardíaca crónica. Aunque el corazón se ha compensado y estabilizado, todavía está débil y puede debilitarse progresivamente.
- 25 30 Por lo tanto, si bien la fase aguda de la insuficiencia cardíaca finaliza con relativa rapidez, la estabilidad asociada con la fase crónica de la insuficiencia cardíaca puede tardar meses en desarrollarse. En general, se puede considerar que un paciente que presenta síntomas de insuficiencia cardíaca durante más de 3 meses o más preferentemente más de 6 meses tiene insuficiencia cardíaca crónica, siempre que no se hayan producido más síntomas de insuficiencia cardíaca aguda durante este período de 3 meses o 6 meses.
- 35 40 Por lo tanto, esto significa que, aunque los síntomas varían en gran medida entre los sujetos, los sujetos con insuficiencia cardíaca, y particularmente insuficiencia cardíaca crónica, característicamente tienen una función cardíaca reducida y, en particular, una función ventricular reducida. La manifestación más común de la reducción del rendimiento cardíaco es la disfunción sistólica. Por lo tanto, la insuficiencia cardíaca puede ser insuficiencia cardíaca sistólica. Por ejemplo, dichos sujetos muestran una fracción de eyección ventricular reducida, particularmente una fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) reducida en comparación con un sujeto "normal" que no ha sufrido insuficiencia cardíaca. En personas normales, la fracción de eyección del ventrículo izquierdo suele ser superior al 60 % (normalmente entre el 55 % y el 70 %), mientras que una fracción de eyección inferior al 45 %, en particular inferior al 40 %, se caracteriza como disfunción sistólica. Por lo tanto, una FEVI de menos del 45 %, en particular menos del 40 %, es característica de la función cardíaca reducida en sujetos con insuficiencia cardíaca, en particular insuficiencia cardíaca crónica. Típicamente, una fracción de eyección de 35 %-45 % puede caracterizarse como una función cardíaca levemente alterada. Una fracción de eyección del 25 %-35 % puede caracterizarse como una función cardíaca moderadamente deteriorada. Una fracción de eyección de menos del 25 % puede caracterizarse como una función cardíaca gravemente alterada. Sujetos con una fracción de eyección de menos del 15 % pueden caracterizarse por tener insuficiencia cardíaca en etapa terminal y pueden ser candidatos para un trasplante de corazón. No se espera que sujetos con una fracción de eyección de menos del 5 % sobrevivan a largo plazo.
- 45 50 Menos común que la disfunción sistólica es la disfunción diastólica donde la fracción de eyección está relativamente conservada (por ejemplo, EF ventricular izquierda >40 %) o normal, pero donde el llenado ventricular, por ejemplo, el llenado ventricular izquierdo, se reduce.
- 55 60 Sujetos preferidos para tratamiento según la presente invención incluyen aquellos con una FEVI inferior al 40 % (FEVI <0,40). En algunas realizaciones, los sujetos pueden definirse como aquellos con una FEVI de menos del 35 % (FEVI <0,35). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, algunos sujetos en la fase temprana de la insuficiencia cardíaca pueden tener una FEVI normal, por ejemplo, 45 % o más. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los sujetos para el tratamiento según la presente invención incluyen aquellos con una FEVI de menos del 60 % (FEVI <0,60), preferentemente menos del 55 % (FEVI <0,55), tal como menos del 50 % (FEVI <0,50) o menos del 45 % (FEVI <0,45).
- 65 Otras características de la función cardíaca reducida que se pueden observar en la insuficiencia cardíaca incluyen una fracción de eyección del ventrículo derecho reducida, una capacidad de ejercicio reducida y variables hemodinámicas deterioradas, como una disminución del gasto cardíaco, un aumento de la presión arterial pulmonar y un aumento de la frecuencia cardíaca y la presión arterial baja.
- 65 El sistema de clasificación de la New York Heart Association (NYHA) divide la enfermedad cardíaca en cuatro clases,

dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Clase NYHA I: Pacientes con enfermedad cardíaca pero sin limitaciones resultantes de la actividad física, por ejemplo, sin dificultad para respirar, fatiga o palpitaciones cardíacas con actividad física ordinaria; Clase II: Pacientes con enfermedad cardíaca que resulta en una ligera limitación de la actividad física, por ejemplo, dificultad para respirar, fatiga o palpitaciones del corazón con la actividad física ordinaria, pero los pacientes se sienten cómodos en reposo. Clase III: Pacientes con enfermedad cardíaca que resulta en una marcada limitación del rendimiento físico, por ejemplo, dificultad para respirar, fatiga o palpitaciones del corazón con menos de la actividad física ordinaria, pero los pacientes se sienten cómodos en reposo. Clase IV: Pacientes con enfermedad cardíaca que resultan en incapacidad para realizar cualquier actividad física sin molestias, por ejemplo, dificultad para respirar, fatiga o palpitaciones del corazón con cualquier esfuerzo físico y los síntomas pueden estar presentes incluso en reposo.

La invención se puede usar para el tratamiento o la profilaxis de todas las clases de insuficiencia cardíaca, pero particularmente las clases II-IV o los sujetos en las clases III-IV. Por lo tanto, el paciente o sujeto puede estar en una o más de las clases I a IV, pero preferentemente están en las clases II-IV o III-IV.

Por lo tanto, la presente invención puede usarse para el tratamiento o la prevención (profilaxis) de cualquier tipo de insuficiencia cardíaca, independientemente de la causa o la etiología. La resistencia del corazón a la insuficiencia cardíaca puede aumentar. Por lo tanto, la presente invención puede usarse para tratar la insuficiencia cardíaca establecida o sintomática o manifiesta, particularmente la insuficiencia cardíaca crónica, pero que incluye también la insuficiencia cardíaca aguda o la insuficiencia cardíaca que está evolucionando o desarrollándose, incluida la insuficiencia cardíaca incipiente o la insuficiencia cardíaca que es asintomática. También se puede usar para prevenir o retrasar la aparición de insuficiencia cardíaca o para prevenir, limitar o reducir el desarrollo de insuficiencia cardíaca, por ejemplo, para reducir o limitar el grado en que se desarrolla la insuficiencia cardíaca o para reducir la susceptibilidad del corazón a la insuficiencia cardíaca. Por lo tanto, por ejemplo, el desarrollo de insuficiencia cardíaca terminal puede retrasarse. Por lo tanto, visto alternativamente, la invención puede usarse para mejorar el pronóstico de un sujeto con, o en riesgo de, insuficiencia cardíaca.

Como se mencionó anteriormente, la insuficiencia cardíaca, particularmente la insuficiencia cardíaca crónica, a tratar según la presente invención puede ser el resultado de cualquier causa, por ejemplo, puede ser el resultado de una enfermedad primaria o puede ser secundaria a otra enfermedad. En una realización de la invención, la insuficiencia cardíaca a tratar es insuficiencia cardíaca crónica secundaria a cardiomiopatía dilatada idiopática (IDCM - *Idiopathic Dilated Cardiomyopathy*) y/o enfermedad isquémica coronaria (enfermedad de la arteria coronaria - CAD - *Coronary Artery Disease*).

Particularmente, en una realización preferida adicional de la invención, la insuficiencia cardíaca a tratar según la invención es insuficiencia cardíaca posterior al infarto o insuficiencia cardíaca isquémica.

Otros tipos de insuficiencia cardíaca que pueden tratarse según la invención incluyen insuficiencia cardíaca inducida por un aumento constante después de la carga, tal como insuficiencia cardíaca hipertensiva. Dentro del alcance de esta invención se incluye la insuficiencia cardíaca que surge de cualquier otra causa, por ejemplo, como se mencionó anteriormente.

Como se señaló anteriormente, los sujetos a tratar según la presente invención pueden presentar insuficiencia cardíaca sintomática. Los síntomas de insuficiencia cardíaca se enumeran anteriormente y pueden incluir aumento de peso, hinchazón de pies y tobillos o abdomen, venas del cuello pronunciadas, pérdida de apetito, indigestión, náuseas y vómitos, dificultad para respirar con la actividad o después de acostarse, dificultad para dormir, fatiga, debilidad o desmayo, palpitaciones, pulso irregular o rápido, disminución del estado de alerta o la concentración, tos, disminución de la producción de orina y necesidad de orinar por la noche, aunque no todos o ninguno de estos síntomas pueden estar presentes con insuficiencia cardíaca.

Otras características de la insuficiencia cardíaca que pueden manifestarse incluyen fracciones de eyección reducidas (LV y/o RV), capacidad de ejercicio reducida y variables hemodinámicas alteradas como las enumeradas anteriormente.

Los sujetos pueden estar recibiendo tratamientos estándar) para la insuficiencia cardíaca, incluidos tratamientos farmacológicos estándar tales como uno o más de betabloqueantes, inhibidores de ECA, ARB, antagonistas de la aldosterona, diuréticos, antihipertensivos, glucósidos cardíacos, terapia de combinación de receptor de angiotensina-inhibidor de neprilisina (ARNI) (por ejemplo, valsartán/sacubitril), etc. En particular, los sujetos pueden o no estar recibiendo betabloqueantes. Por ejemplo, el sujeto puede estar recibiendo tratamiento con un agonista de NPR-A, tal como BNP, por ejemplo, BNP recombinante o un análogo o derivado del mismo, u otro péptido natriurético o un análogo o derivado del mismo.

El desarrollo o la progresión de la insuficiencia cardíaca puede estar asociado con la remodelación ventricular, particularmente la remodelación ventricular izquierda, que se manifiesta como aumentos graduales en los volúmenes diastólicos finales y sistólicos finales del ventrículo izquierdo, adelgazamiento de la pared y un cambio en la geometría

de la cámara a una forma más esférica y menos alargada. Este procedimiento generalmente se asocia con una disminución continua de la fracción de eyección. En una realización de la invención, la remodelación, y particularmente la remodelación ventricular, preferentemente ventricular izquierda, puede reducirse o evitarse.

5 La remodelación puede conducir a disfunción ventricular, particularmente disfunción ventricular izquierda. En otra realización de la invención, se trata o previene la disfunción ventricular.

10 Como se usa en esta invención, "tratamiento" se refiere a reducir, aliviar, mejorar o eliminar la enfermedad (término que incluye cualquier enfermedad, afección o trastorno), o uno o más síntomas de la misma, que se está tratando (por ejemplo, la insuficiencia cardíaca o un síntoma de la misma), en relación con la enfermedad o síntoma antes del tratamiento. El tratamiento puede incluir una mejora o aumento en la función o el rendimiento cardíaco, y en particular la función o el rendimiento ventricular, más particularmente la función o el rendimiento ventricular izquierdo.

15 "Profilaxis" o "prevención", como se usa en esta invención, se refiere a retrasar, limitar o reducir la enfermedad o el inicio de la enfermedad, o uno o más síntomas de la misma, por ejemplo, en relación con la enfermedad o síntoma antes del tratamiento profiláctico o preventivo. Por lo tanto, la profilaxis incluye explícitamente tanto la prevención absoluta de la aparición o desarrollo de la enfermedad o síntoma, como la reducción o limitación del desarrollo o progresión de la enfermedad o síntoma.

20 20 El sujeto o paciente de tratamiento o profilaxis puede ser cualquier sujeto animal humano o no humano, pero preferentemente será un mamífero, por ejemplo, un ser humano o cualquier ganado o animal doméstico, por ejemplo, ratones, ratas, cerdos, gatos, perros, ovejas, conejos, caballos, vacas o monos. Más preferentemente, el sujeto será un sujeto humano.

25 25 Dada la naturaleza de la mayoría de las formas de enfermedad cardíaca, no es de esperar que el "tratamiento" según la presente invención dé como resultado una cura completa de la insuficiencia cardíaca en cuestión. Más bien, el "tratamiento" según la presente invención incluye una mejora o alivio de cualquiera de los síntomas asociados con la insuficiencia cardíaca y también una mejor calidad de vida para un paciente y, en última instancia, una vida útil prolongada y una mejor supervivencia, es decir, un mejor pronóstico.

30 30 "Tratamiento" según la presente invención también incluye una mejora o aumento de la funcionalidad del corazón o, en otras palabras, una mejora o aumento a largo plazo en la función o el rendimiento cardíaco. En particular, el tratamiento según la presente invención puede dar como resultado una mejora o aumento en uno o más de los síntomas y parámetros funcionales asociados con la insuficiencia cardíaca y, en particular, los síntomas y parámetros relacionados con la función ventricular y, en particular, con la función ventricular izquierda.

35 Un síntoma y parámetro importante asociado con la mejora de la función cardíaca en la insuficiencia cardíaca es un aumento en la fracción de eyección ventricular y, en particular, en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI). Esto se puede evaluar mediante procedimientos estándar bien conocidos y documentados en la técnica, por ejemplo, mediante ecocardiografía ("eco", es decir, un eco cardíaco, que es un sonograma del corazón), electrocardiograma (ECG), ventriculografía de radionucleidos sincronizados con ECG (escaneo MUGA), angiografía o imágenes de resonancia magnética (MRI), y normalmente se lleva a cabo cuando el sujeto está en reposo. Se ha descubierto que una mejora en la FEVI está asociada con una mejor supervivencia entre los pacientes con insuficiencia cardíaca. Por lo tanto, este es un parámetro importante y ventajoso para mejorar en sujetos tratados según la presente invención. RVEF también puede incrementarse.

40 45 Si bien una mejora de la FEVI es particularmente importante para la mejora general de la función cardíaca, se puede mejorar una serie de otros parámetros asociados con el rendimiento cardíaco según la presente invención. Uno de ellos es una mejora significativa en el estado clínico general y, por lo tanto, en el rendimiento clínico según lo evaluado por la clase funcional NYHA. En otras palabras, la clase funcional NYHA de un paciente puede reducirse después del tratamiento según la presente invención. Dicha evaluación clínica normalmente puede ser realizada por un cardiólogo capacitado.

50 55 Otros parámetros incluyen la capacidad de ejercicio, por ejemplo, medida por el consumo máximo de oxígeno y la carga máxima de trabajo. Como se indicó anteriormente, una disminución de la capacidad de ejercicio es un síntoma inconveniente y potencialmente debilitante de muchos pacientes con insuficiencia cardíaca. En la técnica se conocen bien y están documentados procedimientos para medir la capacidad de ejercicio. Por ejemplo, las pruebas de ejercicio se pueden llevar a cabo utilizando un ergómetro de bicicleta con freno eléctrico. Un protocolo ejemplar podría consistir en una velocidad de trabajo inicial de 20 W que aumenta en 20 W cada segundo minuto hasta el agotamiento (definido como la incapacidad de mantener la velocidad de pedaleo constante a 60 rpm). La absorción de oxígeno (VO₂) se puede medir utilizando, por ejemplo, el sistema EOS- SPRINT. La VO₂ máxima se toma como la VO₂ más alta observada. Otro ejemplo de prueba de esfuerzo es la prueba de caminata de 6 minutos, donde se pide al paciente que camine el mayor tiempo posible durante 6 minutos en condiciones estandarizadas, y la distancia caminada representa una medida de la capacidad de ejercicio.

- Los parámetros y variables ecocardiográficos hemodinámicos también se pueden evaluar para indicar una función cardíaca mejorada. Por ejemplo, la función cardíaca mejorada puede estar indicada por una disminución en la presión de cuña capilar pulmonar y/o en la presión de la arteria pulmonar, y/o un aumento en la frecuencia cardíaca máxima, la presión arterial sistólica máxima y el tiempo de desaceleración de la velocidad mitral. Las variables ecocardiográficas pueden medirse convenientemente mediante ecocardiografía realizada por un cardiólogo capacitado y las variables hemodinámicas pueden evaluarse convenientemente mediante cateterismo cardíaco del lado derecho según técnicas estándar.
- Otra variable importante que se puede evaluar es el nivel plasmático de Nt-proANP o Nt-proBNP. Se han reconocido niveles aumentados o generalmente altos de Nt-proANP o Nt-proBNP como marcadores de disfunción cardíaca. Además, se ha demostrado en el pasado que los niveles de Nt-proANP se correlacionan con las presiones de la arteria pulmonar en la insuficiencia cardíaca y proporcionan información pronóstica importante en pacientes con insuficiencia cardíaca. Los niveles de Nt-proANP o Nt-proBNP en una muestra de sangre se pueden medir de varias maneras bien conocidas y documentadas en la técnica, por ejemplo, mediante radioinmunoensayo. Antes del inmunoensayo, el plasma se separa de una muestra de sangre tomada del paciente nuevamente mediante procedimientos bien conocidos y documentados en la técnica.
- La "mejora" o "aumento" descrito anteriormente en los síntomas, parámetros y/o pronóstico del sujeto incluye cualquier mejora o aumento medible cuando el parámetro en cuestión se compara con el parámetro equivalente en un individuo no tratado o cuando el parámetro en cuestión se compara con el parámetro equivalente en el mismo individuo tomado en un punto de tiempo anterior (por ejemplo, comparación con un nivel de "línea base"). Preferentemente, la mejora o el aumento serán estadísticamente significativos. Especialmente preferentemente, la mejora o el aumento de los síntomas, los parámetros y/o el pronóstico se asociarán con la mejora de la salud del paciente en cuestión y, más preferentemente, con una supervivencia prolongada.
- Los procedimientos para determinar la significación estadística de las diferencias en los parámetros son bien conocidos y están documentados en la técnica. Por ejemplo, en esta solicitud un parámetro generalmente se considera significativo si una comparación estadística usando una prueba de significancia de dos colas tal como una prueba t de Student o una prueba de suma de rangos U de Mann-Whitney muestra un valor de probabilidad de <0,05.
- Por lo tanto, la presente invención puede usarse en la mejora de la función cardíaca, particularmente la función cardíaca en la insuficiencia cardíaca. Más específicamente, a largo plazo, la presente invención puede usarse para aumentar la función ventricular, particularmente la función ventricular izquierda (por ejemplo, FEVI), más particularmente en la insuficiencia cardíaca.
- La presente invención puede dar como resultado la reducción de los niveles plasmáticos de Nt-proANP o Nt-proBNP. Como se mencionó anteriormente, una reducción en los niveles plasmáticos de Nt-proANP o Nt-proBNP es un indicador de una mejor función y rendimiento cardíaco. "Reducción", como se usa en esta invención, incluye cualquier reducción medible cuando el parámetro en cuestión se compara con el parámetro equivalente en un individuo no tratado o cuando el parámetro en cuestión se compara con el parámetro equivalente en el mismo individuo tomado en un punto de tiempo anterior (por ejemplo, comparación con un nivel de "línea base"). Preferentemente, la reducción es estadísticamente significativa como se ha analizado anteriormente. Especialmente preferentemente, la reducción en los niveles de Nt-proANP o Nt-proBNP se asociará con una mejor sensación de salud en el paciente en cuestión y, más preferentemente, una supervivencia prolongada.
- En un aspecto, se puede identificar que el paciente o sujeto necesita tratamiento o profilaxis de la insuficiencia cardíaca (por ejemplo, como que sufre de insuficiencia cardíaca, o como que está en riesgo de desarrollar, o es susceptible a, insuficiencia cardíaca), antes de que se administre la terapia combinada de la invención.
- Dicha identificación puede basarse en síntomas y/o parámetros que son indicativos de insuficiencia cardíaca o riesgo de insuficiencia cardíaca, como se ha analizado anteriormente.
- Como se analizó anteriormente, el rendimiento cardíaco puede aumentar después de la administración de la terapia combinada de la invención. Por consiguiente, los diversos aspectos de la presente invención como se presentaron y discutieron anteriormente pueden incluir además evaluar al sujeto que se está tratando para una mejora en el rendimiento cardíaco, o en la insuficiencia cardíaca o sus síntomas después de la administración de la terapia combinada de la invención. Como se ha analizado anteriormente, esta evaluación puede ser una evaluación de una mejora en el rendimiento o la función cardíaca, particularmente en el rendimiento o la función ventricular y especialmente en el ventrículo izquierdo, o de una mejora en cualquier síntoma o parámetro de insuficiencia cardíaca, como se ha analizado anteriormente.
- Cuando el sujeto está en riesgo de desarrollar una insuficiencia cardíaca o es susceptible a la insuficiencia cardíaca, se puede evaluar al sujeto para determinar uno o más factores que son factores de riesgo de insuficiencia cardíaca. Por ejemplo, estas pueden ser enfermedades o afecciones isquémicas, por ejemplo, enfermedad de las arterias coronarias, cardiomiopatía, hipertensión, enfermedad valvular, defectos cardíacos congénitos o cualquier otra afección

o factor predisponente conocido en la técnica o descrito o mencionado anteriormente.

Después de la administración de la terapia combinada de la invención, se puede evaluar al sujeto para el desarrollo de insuficiencia cardíaca o para uno o más factores de riesgo de insuficiencia cardíaca.

- 5 La terapia de ondas de choque se usa en combinación con un agente farmacológico, es decir, un inhibidor de DPP-4 y opcionalmente un movilizador de células madre (por ejemplo, hormona paratiroidea), donde el agente farmacológico puede formularse convenientemente en una composición farmacéutica para su uso según la presente invención. Una composición farmacéutica se refiere a una composición comprendiendo un agente farmacológico (es decir, un agente o ingrediente farmacológicamente activo), por ejemplo, un inhibidor de DPP-4 y/o movilizador de células madre (por ejemplo, hormona paratiroidea) con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Por lo tanto, por ejemplo, se puede considerar que la presente invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención (profilaxis) de la insuficiencia cardíaca, o en el tratamiento de la lesión por reperfusión isquémica cardíaca, en un sujeto, donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas y donde dicha composición comprende un inhibidor de DPP-4 junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, y es para su administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- El contenido apropiado de ingrediente activo (un agente farmacológico, es decir, un agente o ingrediente farmacológicamente activo) en dichas composiciones puede determinarse según los principios y procedimientos rutinarios en la técnica y puede determinarse fácilmente por el médico experto. Por lo tanto, por ejemplo, el ingrediente activo en tales composiciones puede comprender de 0,05 % a 99 % en peso de la formulación, por ejemplo de 0,1 % a 1,0 % o alrededor de 0,5 %. La concentración de ingrediente activo en la formulación dependerá del tipo de formulación. Por ejemplo, los productos enterales (por ejemplo, comprimidos y cápsulas) pueden tener típicamente de un 5 % a un 50 % de ingredientes activos en peso, mientras que las formulaciones parenterales suelen tener una menor concentración de compuesto activo, por ejemplo, de un 0,1 % a un 3 % de ingrediente activo en peso, por ejemplo, en una solución inyectable.
- Por "farmacéuticamente aceptable" se entiende que los ingredientes deben ser compatibles con otros ingredientes de la composición, así como fisiológicamente aceptables para el receptor.
- Una composición farmacéutica puede formularse según cualquiera de los procedimientos convencionales conocidos en la técnica y ampliamente descritos en la bibliografía. Por lo tanto, el ingrediente activo (por ejemplo, un inhibidor de DPP-4) se puede incorporar, opcionalmente junto con otras sustancias activas, con uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes convencionales, para producir preparaciones galénicas convencionales que son adecuadas o se pueden hacer adecuadas para administración por vía oral, subcutánea, intramuscular, intravenosa o cualquier otra administración tal como polvos, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, ungüentos, soluciones inyectables estériles, polvos envasados estériles y productos similares. Una composición farmacéutica comprendiendo un ingrediente activo (por ejemplo, hormona paratiroidea) se puede preparar en una forma apropiada para infusión o inyección en un paciente. Dicha infusión o inyección es preferentemente intramuscular (i.m.), pero también se puede administrar por vía subcutánea (s.c.) o intravenosa (i.v.).
- Preferentemente, las composiciones comprendiendo el inhibidor de DPP-4 pueden proporcionarse en una forma adaptada para la administración por vía oral. Por ejemplo, las formas farmacéuticas pueden incluir comprimidos, cápsulas, suspensiones y soluciones simples o recubiertas que contienen el componente activo (por ejemplo, inhibidor de DPP-4) opcionalmente junto con uno o más portadores y/o diluyentes convencionales inertes.
- Preferentemente, las composiciones comprendiendo el agente farmacológico para movilizar células madre (por ejemplo, hormona paratiroidea) pueden proporcionarse en una forma adaptada para la administración parenteral, particularmente la administración intramuscular o intraabdominal. Por ejemplo, las formas farmacéuticas pueden incluir soluciones o suspensiones inyectables estériles opcionalmente junto con uno o más portadores y/o diluyentes convencionales inertes.
- Ejemplos de vehículos, excipientes y diluyentes adecuados son lactosa, dextrosa, sacarosa, maltosa, glucosa, sorbitol, manitol, amidones, goma acacia, fosfato de calcio, aglinatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, jarabe de agua, agua, agua/etanol, agua/glicol, agua/polietileno, glicol, propilenglicol, metilcelulosa, metilhidroxibenzoatos, propilhidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio, aceite mineral o sustancias grasas tales como grasa dura o mezclas adecuadas de los mismos. Las composiciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes y similares. Las composiciones pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.
- También se pueden usar agentes solubilizantes y/o estabilizantes, por ejemplo, ciclodextrinas (CD) α, β, γ y ciclodextrina HP-β.

Dosis adecuadas variarán de un paciente a otro y pueden ser determinadas por el médico según el peso, la edad y el sexo del paciente, el modo de administración y la gravedad de la afección y también el ingrediente activo particular utilizado para el tratamiento. Las dosis unitarias ejemplares para administración por vía oral (por ejemplo, el inhibidor de DPP-4) pueden contener de 1 a 250 mg del ingrediente activo, aunque se entenderá que esto puede variar, por supuesto, dependiendo del antagonista particular utilizado, etc. Por ejemplo, una dosis unitaria de sitagliptina puede estar en el intervalo de 100 mg, por ejemplo, 75-125 mg, mientras que una dosis unitaria de linagliptina puede estar en el intervalo de 5 mg, por ejemplo, 1-10 mg. La dosis diaria para administración por vía oral puede estar, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 0,01 a 10 mg/kg/día, por ejemplo, de 0,1 a 5 mg/kg/día, por ejemplo, de 0,1 a 2 mg/kg/día. Por ejemplo, un adulto de 70 kg recibiría una dosis diaria de 1 a 700 mg o de 0,7 a 700 mg, más generalmente de 1 a 350 mg o de 7 a 350 mg, por ejemplo, de 7 a 140 mg. Para la administración parenteral (por ejemplo, intravenosa o intramuscular) (por ejemplo, hormona paratiroidea), las dosis unitarias ejemplares pueden estar entre 0,1 µg y 100 µg, por ejemplo, entre 0,1 µg y 50 µg, tal como 1-40, 2-35, 3-40, 4-35 o 5-25 µg, por ejemplo, 20 µg. La dosis diaria para administración parenteral puede estar, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a 1 µg/kg/día, por ejemplo, 0,001 a 0,5 µg/kg/día, por ejemplo, 0,001 a 0,3 µg/kg/día. Por ejemplo, un adulto de 70 kg recibiría una dosis diaria de 0,01 a 70 µg o de 0,07 a 70 µg, más generalmente de 0,07 a 35 µg o de 0,7 a 35 µg, por ejemplo, de 0,7 a 21 µg.

Las mejoras observadas en pacientes tratados según la presente invención se pueden observar después de unos pocos días, semanas o meses dependiendo del paciente individual. Una vez que se observa la mejora inicial, también puede ocurrir una mejora continua durante las semanas y meses posteriores. Como se indicó antes, el tratamiento puede continuarse durante el tiempo que se desee o sea necesario.

La terapia de combinación de la presente invención puede ser en lugar de, o además de (es decir, en combinación con) el uso de otros fármacos para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. Por lo tanto, otros fármacos conocidos para tratar la insuficiencia cardíaca podrían incluirse en las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente o pueden administrarse por separado, de una manera apropiada para el fármaco en cuestión.

Los fármacos o agentes adicionales o complementarios adecuados para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca son bien conocidos y están documentados en la técnica e incluyen fármacos conocidos para su uso en el tratamiento de trastornos cardíacos. Por ejemplo, se pueden usar diuréticos, vasodilatadores, fármacos inotrópicos tales como digoxina o digitoxina, u otros compuestos tales como anticoagulantes, bloqueadores p, bloqueadores de angiotensina II, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, terapias de combinación de inhibidor de receptor de angiotensina-neprilisina (ARNI - Angiotensin Receptor-Neprilysin Inhibitor) (por ejemplo, valsartán/sacubitril) o antagonistas de aldosterona.

En algunas realizaciones, puede ser útil administrar azúcar, por ejemplo, glucosa, a los sujetos a tratar. En particular, las terapias de combinación de la invención utilizan inhibidores de DPP-4, que bloquean la degradación del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1). El GLP-1 aumenta la secreción de insulina al tiempo que inhibe la liberación de glucagón, lo que reduce los niveles de glucosa en plasma. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el agente complementario o adicional para la administración al sujeto que se va a tratar es glucosa.

Los fármacos o agentes adicionales o complementarios pueden formularse por separado, para su administración junto con, por ejemplo, al mismo tiempo o secuencialmente con, o a intervalos separados de, los agentes activos para su uso en la terapia de ondas de choque combinada de la invención (por ejemplo, inhibidor de DPP-4 y/o movilizador farmacológico de células madre, por ejemplo, hormona paratiroidea).

Por lo tanto, los fármacos o agentes adicionales o complementarios pueden proporcionarse con los agentes activos para su uso en la terapia de ondas de choque combinada de la invención en forma de un kit. Dicho kit puede comprender, por ejemplo, recipientes separados para (por ejemplo, comprendiendo o que contienen) los agentes activos para su uso en la terapia combinada de ondas de choque de la invención y fármacos o agentes adicionales o complementarios, respectivamente, opcionalmente junto con instrucciones de uso.

Por ejemplo, se puede ver que la presente invención proporciona un kit o producto que contiene:

- (i) un inhibidor o composición farmacéutica de DPP-4 comprendiendo dicho inhibidor y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable; y
- (ii) un agente farmacológico para movilizar células madre, tal como hormona paratiroidea o fragmento de la misma, o una composición farmacéutica comprendiendo dicho agente farmacológico y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable; y opcionalmente
- (iii) un agente adicional, por ejemplo, un agente para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca o glucosa, o una composición farmacéutica comprendiendo dicho agente adicional y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

donde (i), (ii) y opcionalmente (iii) del kit o producto descrito anteriormente se proporcionan como una preparación

combinada para uso simultáneo, secuencial o separado en:

- (a) tratamiento o prevención de la insuficiencia cardíaca; o
- (b) tratamiento de la lesión por reperfusión isquémica cardíaca,

- 5 en un sujeto, donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas y donde (i) y/o (ii) son para la administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.
- 10 La invención se describirá adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes con referencia a los siguientes dibujos donde:
- 15 La Figura 1 muestra un gráfico de barras que muestra el porcentaje de cardiomocitos de rata viables en diversas condiciones de tratamiento (las barras de error representan la desviación estándar, **** p≤0,001, "ns" no significativo).
- 20 La Figura 2 muestra gráficos de barras de la cantidad relativa (cambio en número de veces) de (A) expresión génica de SDF-1 y (B) expresión génica de MCP-1 en tejido ventricular humano cuatro horas después de diversos tratamientos con ondas de choque (* p >0,05, ** p≤0,05, *** p≤0,001 y **** p ≤0,0001).
- 25 La Figura 3 muestra gráficos de barras de la cantidad relativa (cambio en número de veces) de (A) expresión génica de ANGP-1 (angiopoyetina) y (B) expresión génica de VEGFA (factor de crecimiento endotelial vascular A) en tejido ventricular humano cuatro horas después de varios tratamientos con ondas de choque (* p >0,05, ** p≤0,05, *** p≤0,001 y **** p ≤0,0001).
- 30 La Figura 4 muestra gráficos de barras de la cantidad relativa (cambio en número de veces) de expresión génica de (A) NOS-3 (óxido nítrico sintasa 3) y (B) expresión génica de TAC-1 (precursor de taquicinina 1) en tejido ventricular humano cuatro horas después de diversos tratamientos con ondas de choque (* p >0,05, ** p≤0,05, *** p≤0,001 y **** p ≤0,0001).
- 35 La Figura 5 muestra gráficas de la cantidad relativa (cambio en número de veces) de la expresión génica de SDF-1 a lo largo del tiempo en (A) células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) y (B) fibroblastos cardíacos humanos después de varios tratamientos con ondas de choque (* p >0,05, ** p≤0,05, *** p≤0,001 y **** p ≤0,0001).
- 40 La Figura 6 muestra gráficas de la cantidad relativa (cambio en número de veces) de (A) expresión génica de VEGFA y (B) expresión génica de MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocitos 1) a lo largo del tiempo en fibroblastos cardíacos humanos después de diversos tratamientos con ondas de choque (* p >0,05, ** p≤0,05, *** p≤0,001 y **** p ≤0,0001).
- 45 La Figura 7 muestra gráficos de barras de la cantidad relativa (cambio en número de veces) en la fosforilación de AKT en cardiomocitos de rata en diversas condiciones, donde (A) muestra el cambio relativo de p-AKT308 normalizado y (B) muestra el cambio relativo de la relación de p-AKT308 y AKT no fosforilado.
- 50 La Figura 8 muestra gráficos de barras de la cantidad relativa (cambio en número de veces) de (A) expresión génica de SDF-1 y (B) expresión génica de VEGFA en cardiomocitos de rata cuatro horas después de varios tratamientos con ondas de choque.
- Las barras de error en las Figuras 2-6 y 8 representan el intervalo de confianza (IC) del 95 %.

Ejemplos

Ejemplo 1: Efecto del tratamiento con ondas de choque sobre la apoptosis inducida por hipoxia en cardiomocitos de rata

Los cardiomocitos primarios de rata se aislaron utilizando el procedimiento de Langendorff, donde los corazones explantados se perfundieron retrógradamente a través de la aorta con soluciones oxigenadas bajas en calcio y soluciones de colagenasa. A continuación, los corazones se cortaron en cubitos y se agitaron en soluciones de colagenasa para liberar las células. Las células se lavaron y los cardiomocitos se seleccionaron a continuación positivamente utilizando centrifugación a baja velocidad y mediante adherencia a placas de cultivo recubiertas con laminina (placas de Petri).

Los cardiomocitos de rata se expusieron a hipoxia severa durante 30 minutos (0 % O₂, 100 % N₂). Los grupos que recibieron tratamientos con ondas de choque (1000 pulsos de 1 Bar o 2 Bar) se trataron inmediatamente después de

regresar a la normoxia. Las ondas de choque se administraron desde la parte inferior de las placas de Petri a través del contacto directo entre el aplicador de ondas de choque, en la pieza de mano del sistema de ondas de choque Swiss Dolarclast (EMS), junto con el gel de ultrasonido. En particular, el grupo que recibió SDF exógeno no recibió tratamiento con ondas de choque al regresar a la normoxia. La viabilidad de las células se evaluó contando el número de células en forma de varilla y en forma redonda (donde las células en forma de varilla son viables) por triplicado 24 horas después del tratamiento con ondas de choque o SDF. Los resultados se muestran en la Figura 1 y demuestran que el posacondicionamiento con terapia de ondas de choque inmediatamente después de la hipoxia aumenta la viabilidad de los cardiomiositos en relación con los controles no tratados, lo que sugiere que la terapia de ondas de choque puede atenuar la lesión por reperfusión isquémica.

Ejemplo 2: Efecto del tratamiento con ondas de choque sobre la expresión génica en el tejido ventricular humano

El tejido ventricular cardíaco humano explantado se cortó en trozos pequeños y se cultivó individualmente en placas de 24 pocillos en medio M199. La exposición a diversas condiciones de onda de choque se realizó colocando temporalmente las piezas de tejido en tubos Eppendorf de 1,5 ml en medio M199. El aplicador de ondas de choque descrito en el Ejemplo 1 se acopló directamente a los tubos usando gel de ultrasonido. Los trozos de tejido se devolvieron a continuación a sus respectivos medios de cultivo en la incubadora (37 °C y CO₂ al 5 %) durante los puntos de tiempo de 4 horas y a continuación se almacenaron en ARN- Más tarde a -80 °C. En lotes, las muestras se homogeneizaron completamente en Trizol utilizando un homogeneizador de energía. El ARN se purificó utilizando cloroformo y columnas de centrifugación comerciales. La calidad del ARN se inspeccionó utilizando un espectrofotómetro Nanodrop y se realizaron reacciones de transcripción inversa. La expresión génica de SDF1 (factor derivado del estroma 1), VEGFA (factor de crecimiento endotelial vascular A), MCP1 (proteína quimiotáctica de monocitos 1), ANGP1 (angiopoyetina), TAC1 (precursor de taquicinina 1) y NOS3 (óxido nítrico sintasa 3) se evaluó utilizando sondas Taqman en la mezcla maestra de expresión génica TaqMan normalizada utilizando GAPDH, en el sistema de PCR rápida en tiempo real Applied Biosystems™ 7900HT. Los cambios en el número de veces se calcularon utilizando el procedimiento $\Delta\Delta CT$. Los resultados se muestran en las Figuras 2-4 y demuestran que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los controles no tratados y los puntos de tiempo de 4 horas para todos los genes medidos.

Ejemplo 3: Efecto del tratamiento con ondas de choque sobre la expresión del gen SDF-1 en fibroblastos endoteliales y cardíacos humanos

Los tejidos ventriculares cardíacos humanos se disociaron usando colagenasa y las suspensiones de células individuales se lavaron, se colocaron en placas y se cultivaron en DMEM complementado con FCS al 10 %. HLIVEC se cosecharon de los cordones umbilicales humanos y se cultivaron en EGM2. Pases de células 3-5 se utilizaron en los experimentos.

Los fibroblastos cardíacos humanos y HUVEC se sometieron a tratamiento con ondas de choque como se describe en el Ejemplo 1 y, al alcanzar los puntos de tiempo, se retiró el medio y se lisaron las células con Trizol. La expresión génica de SDF1 se midió en diversos puntos temporales después del tratamiento con ondas de choque según el procedimiento descrito en el Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la Figura 5.

En fibroblastos cardíacos humanos, la expresión del gen SDF1 continuó aumentando en el punto de tiempo de 24 horas, mientras que la expresión del gen SDF1 alcanzó la expresión máxima entre 2-6 horas en HUVEC y regresó a los niveles iniciales dentro de las 24 horas del tratamiento con ondas de choque. Estos resultados demuestran que el tratamiento con ondas de choque indujo la expresión sostenida del gen SDF1 específicamente en fibroblastos cardíacos.

Ejemplo 4: Efecto del tratamiento con ondas de choque sobre la expresión génica en fibroblastos cardíacos humanos

Fibroblastos cardíacos humanos se obtuvieron según el procedimiento descrito en el Ejemplo 3 y se sometieron a tratamiento con ondas de choque como se describe en el Ejemplo 1. La expresión génica de VEGFA y MCP1 se midió en diversos puntos temporales después del tratamiento con ondas de choque según el procedimiento descrito en el Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la Figura 6 y muestran que, en contraste con SDF1, la expresión génica de VEGFA y MCP1 aumentó rápidamente en el punto de tiempo de 3 horas y regresó a los niveles de referencia en el punto de tiempo de 24 horas. Estos datos demuestran que la expresión de SDF1 en fibroblastos está por detrás de la expresión de SDF1 de las células endoteliales en 24 horas, creando un gradiente temporal y espacial del tejido intravascular al cardíaco.

Ejemplo 5: Efecto del tratamiento con ondas de choque sobre la fosforilación de AKT en cardiomiositos de rata

Los cardiomiositos de rata se cultivaron en condiciones estándar y se sometieron a tratamiento con: ondas de choque (1000 pulsos a 1 Bar); SDF exógeno; o un inhibidor de la cinasa PI3 (LY294002). LA fosforilación de AKT se midió en varios puntos de tiempo utilizando Western Blot normalizado utilizando pan-AKT y COX IV como control de carga.

Los resultados se muestran en la Figura 7 y muestran que la fosforilación de AKT aumenta en las células tratadas con ondas de choque. Sin embargo, el efecto no fue bloqueado por el inhibidor de la cinasa PI3 (LY294002), lo que indica que la fosforilación de AKT por la onda de choque es independiente de la fosfatidilinositol 3-cinasa, un activador de la vía de AKT.

- 5 Ejemplo 6: Efecto del tratamiento con ondas de choque sobre la expresión del gen SDF-1 en cardiomocitos de rata
- 10 Los cardiomocitos de rata se cultivaron según el procedimiento del Ejemplo 1 y se sometieron a tratamiento con ondas de choque (1000 pulsos a 1 Bar o 2 Bar). La expresión génica de SDF1 y VEGFA se midió 4 horas después del tratamiento como se describe en el Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la Figura 8 y demuestran que no hay diferencia estadísticamente significativa entre los controles no tratados y las condiciones de onda de choque para la expresión génica de SDF1 y VEGFA. Esto indica que el efecto antiapoptótico de las ondas de choque en los cardiomocitos es independiente de los factores antiapoptóticos como SDF1 y VEGFA.
- 15 Ejemplo 7: Efectos de los tratamientos con ondas de choque e inhibidores de DPP-4 (DPP4i) en corazones de ratas
- 20 Ratas Lewis macho (250-275 g) se sometieron a los siguientes tratamientos durante cuatro días: (1) sin tratamiento; (2) tratamiento con ondas de choque cardíacas extracorpóreas el día 2 de 4 y sondas orales diarias con agua; (3) tratamiento con ondas de choque cardíacas extracorpóreas el día 2 de 4 y sondas orales diarias con DPP4i; y (4) sondas orales diarias con DPP4i.
- 25 Los tratamientos con ondas de choque (0,25mJ/mm² x 1000 pulsos a 4 Hz utilizando un dispositivo Storz Medical DUOLITH® SD1) se administraron bajo anestesia general (isoflurano al 1,5-2 % en O₂ al 100 %). Las ondas de choque se administraron de forma continua y dirigida al corazón, que se localizó mediante palpación de los dedos y ecocardiografía junto con gel de ultrasonido.
- 30 El inhibidor de DPP4 (linagliptina, 3 mg por rata administrada como una solución de 1 mg/ml) o agua se administró directamente en el estómago a través de una aguja de sonda.
- 35 Los animales se sacrificaron y los corazones se explantaron 4 días después del inicio del experimento. La sangre se lavó de los corazones con solución salina tamponada con fosfato, se fijó en paraformaldehído al 4 % durante la noche, se crioprotigió en sacarosa al 30 % durante la noche y a continuación se incrustó en OCT para criosección usando un criostato.
- 40 La inmunohistoquímica se realizó en secciones bloqueadas con BSA al 1 % en solución salina tamponada con Tris + Tween usando anticuerpos primarios SDF1 anti-rata de conejo y anticuerpos secundarios conjugados con HRP anti-conejo de cabra (conjugados con peroxidasa de rábano picante). Las secciones de tejido se contratiñeron usando hematoxilina y se usó sustrato de 3,3'-diaminobencidina (DAB) para la detección cromogénica de HRP. DAB da como resultado un producto insoluble de color marrón en presencia de HRP. Las secciones se deshidrataron utilizando series de etanol, se montaron utilizando DPX- nuevo y reemplazo de xileno como disolvente. Se usó microscopía de luz de campo brillante para visualizar las secciones.
- 45 Los resultados se presentan en la Figura 9, donde los tratamientos 1-4 se presentan en las Figuras 9A-D, respectivamente. Para facilitar la referencia, los depósitos del producto de reacción insoluble de color marrón, que son evidencia de la presencia de SDF-1, están rodeados con un círculo. Se observó que el SDF-1 fue inducido por terapia de onda de choque extracorpórea (ver Figuras 9B y 9C); no se observaron depósitos marrones en el tejido cardíaco de ratas no tratadas (Figura 9A) o ratas tratadas solo con DPP4i (Figura 9D). Además, las ratas tratadas con DPP4i mostraron un aumento significativo de SDF-1 en relación con las ratas tratadas solo con ondas de choque o DPP4i. Estos resultados indican que la combinación de tratamiento con ondas de choque y DPP4i da como resultado un efecto más que aditivo sobre la presencia de SDF-1 en el tejido cardíaco.
- 50 La Figura 10 muestra el aspecto de los corazones de rata después de la incubación durante la noche con paraformaldehído al 4 %: A) control normal no tratado, B) solo onda de choque; C) onda de choque y DPP4i, y D) solo DPP4i. Se observó que los corazones de ratas tratadas con onda de choque y DPP4i tienen vasos sanguíneos muy prominentes en comparación con los corazones de ratas tratadas solo con ondas de choque. Los corazones de las ratas no tratadas y las ratas tratadas solo con DPP4i son muy similares. Se concluyó que DPP4i mejora el procedimiento angiogénico inducido por la onda de choque y DPP4i por sí solo tiene un efecto neutro.

REIVINDICACIONES

1. Inhibidor de la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), o una composición farmacéutica que contiene dicho inhibidor, para su uso en:
 - 5 (a) tratamiento o prevención de la insuficiencia cardíaca; o
 - (b) tratamiento de la lesión por reperfusión isquémica cardíaca,
- 10 en un sujeto, donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia extracorpórea de ondas de choque cardíacas y donde dicho inhibidor es para su administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.
- 15 2. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según la reivindicación 1, donde dicho inhibidor o composición se proporciona como una preparación combinada con un agente farmacológico adecuado para movilizar células madre para su uso o administración por separado, simultánea o secuencial.
- 20 3. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según la reivindicación 2, donde dicho agente farmacológico adecuado para movilizar células madre es hormona paratiroides o un fragmento de esta, opcionalmente donde dicho fragmento de hormona paratiroides comprende teriparatida.
- 25 4. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho inhibidor o composición es para su administración antes de dicha administración de terapia de ondas de choque y continúa durante todo el curso de la terapia de ondas de choque.
- 30 5. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, donde el agente farmacológico adecuado para movilizar células madre es para su administración al menos 8 horas antes de la terapia con ondas de choque.
- 35 6. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según la reivindicación 1, donde dicho inhibidor se proporciona como una preparación combinada con células madre para su uso o administración separada, simultánea o secuencial, opcionalmente donde dichas células madre se derivan de o comprenden células mononucleares derivadas de médula ósea.
- 40 7. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según la reivindicación 5 o 6, donde las células madre son para la administración al menos 8 horas antes del tratamiento con ondas de choque.
- 45 8. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el inhibidor de DPP-4 es sitagliptina, linagliptina, vildagliptina, gemigliptina, anagliptina, tenagliptina, treagliptina, dutogliptina, omarigliptina, lupeol o una combinación de estos.
- 50 9. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde dicha insuficiencia cardíaca es insuficiencia cardíaca crónica o insuficiencia cardíaca posterior a un infarto.
- 55 10. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde dicha terapia de ondas de choque comprende la administración de pulsos de ondas de choque con una energía de aproximadamente 0,05-0,25 mJ/mm² y/o dicha terapia de ondas de choque comprende la administración de al menos aproximadamente 500 pulsos de ondas de choque, opcionalmente donde dicha terapia de ondas de choque comprende la administración de una dosis de aproximadamente 500-2000 pulsos de ondas de choque.
- 60 11. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde dicha terapia de ondas de choque comprende la administración de pulsos de ondas de choque durante los períodos de contracción isovolúmica y/o relajación isovolúmica del ciclo cardíaco y/o donde el punto focal de los pulsos de ondas de choque se dirige a una región específica del corazón, opcionalmente donde la región del corazón a la que se dirige se determina mediante visualización por ecocardiografía (Eco) y/o reconocimiento de patrones de electrocardiogramas (ECG) o imágenes de resonancia magnética.
- 65 12. El inhibidor de DPP-4 o la composición para su uso según la reivindicación 11, donde la región específica del corazón a la que se va a dirigir comprende tejido cicatricial.
13. El inhibidor o composición de DPP-4 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la dosis de pulsos de onda de choque es para su administración durante más de una sesión.
14. Un kit o producto que contiene:
 - (i) un inhibidor o una composición de DPP-4 comprendiendo dicho inhibidor; y

(ii) un agente farmacológico para movilizar células madre, tal como hormona paratiroidea o fragmento de la misma, o una composición farmacéutica comprendiendo dicho agente farmacológico y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable; y opcionalmente

(iii) un agente adicional, por ejemplo, un agente para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca o glucosa, o una composición farmacéutica comprendiendo dicho agente adicional y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,

10 donde (i), (ii) y opcionalmente (iii) se proporcionan como una preparación combinada para uso simultáneo, secuencial o separado en:

- (a) tratamiento o prevención de la insuficiencia cardíaca; o
- (b) tratamiento de la lesión por reperfusión isquémica cardíaca,

15 en un sujeto, donde a dicho sujeto se le ha administrado terapia de ondas de choque cardíacas extracorpóreas y donde dicho inhibidor y/o agente farmacológico para movilizar células madre es para la administración antes, simultáneamente y/o después de la administración de dicha terapia de ondas de choque.

20 15. El kit o producto de la reivindicación 14, donde dicho inhibidor de DPP-4, agente farmacológico para movilizar células madre y/o terapia de ondas de choque es como se define en cualquiera de las reivindicaciones mencionadas anteriormente.

Figura-11

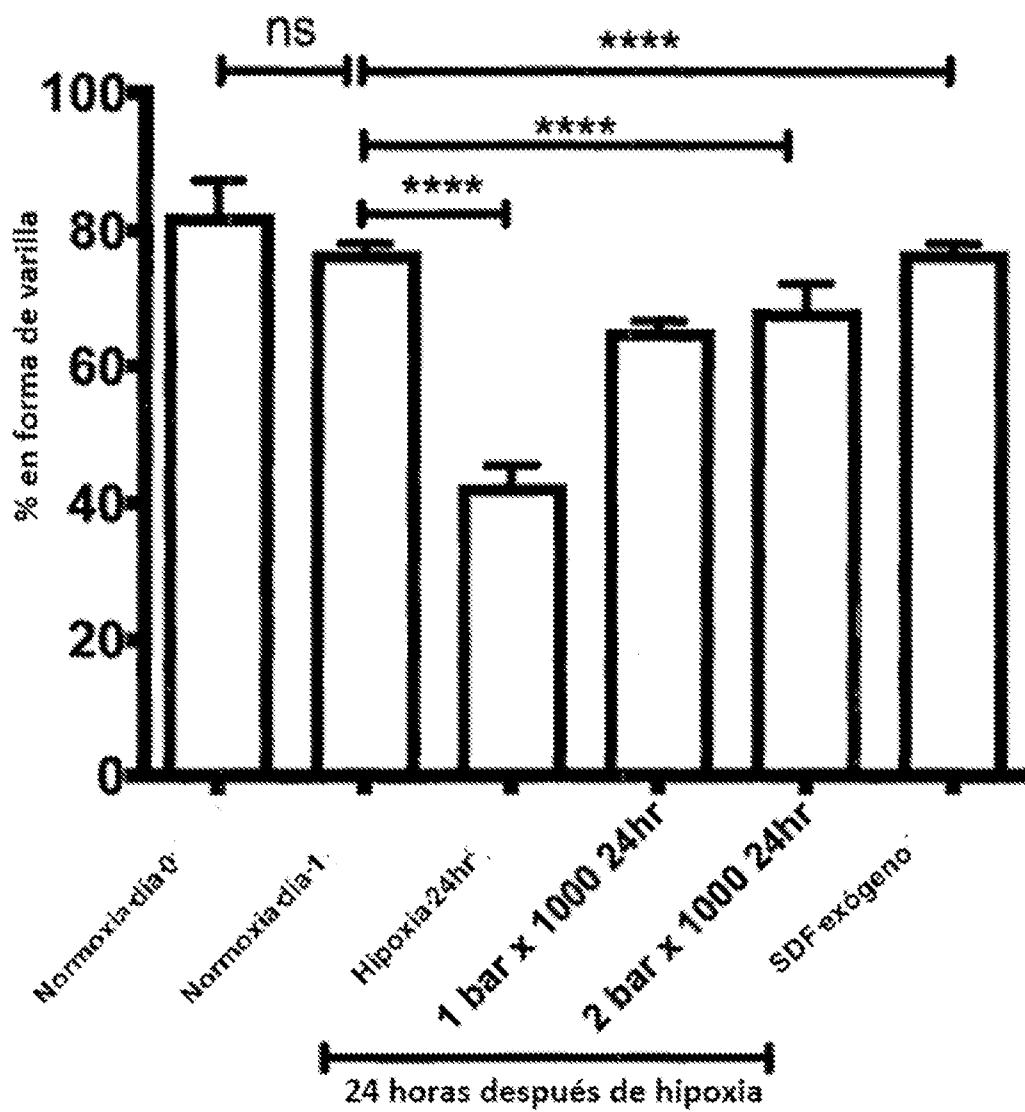
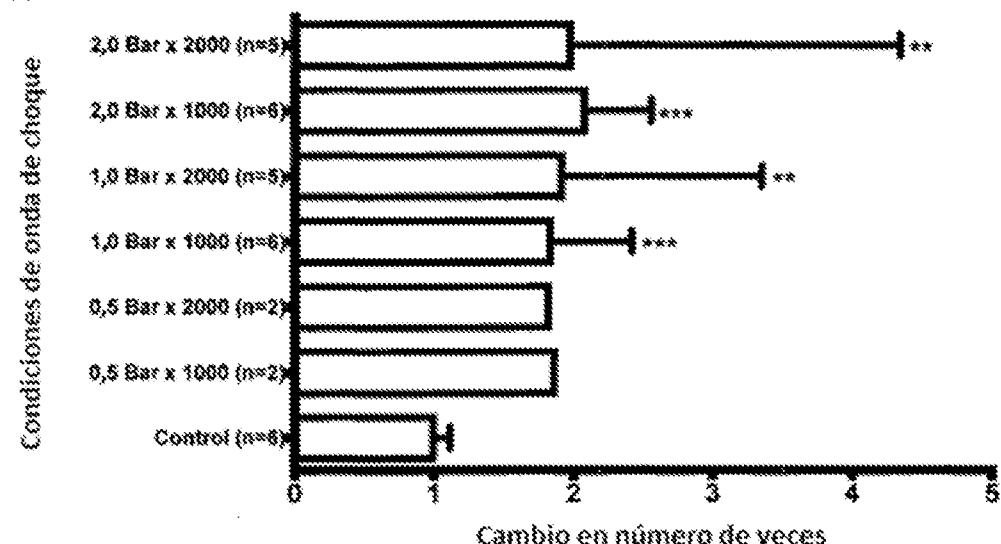


Figura 2

A



B

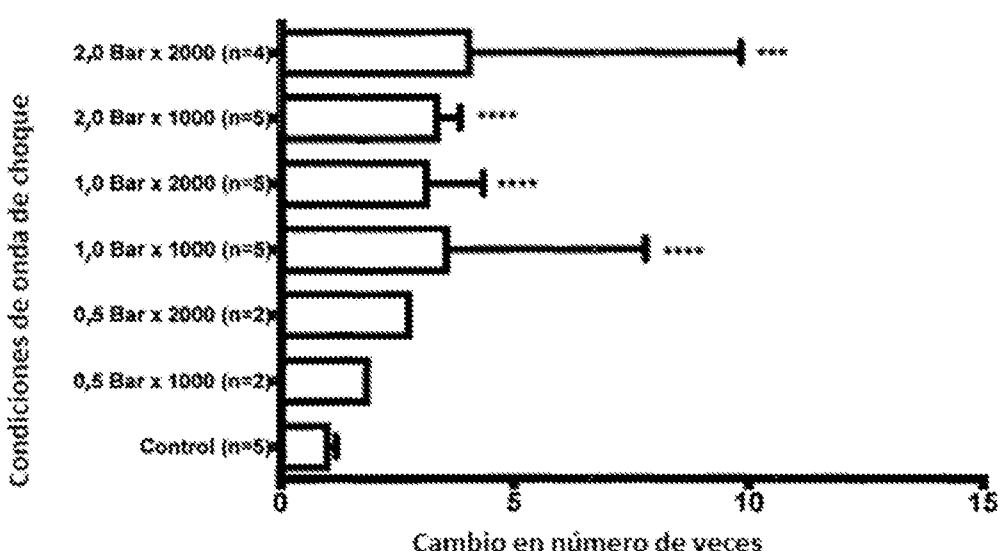


Figura 3

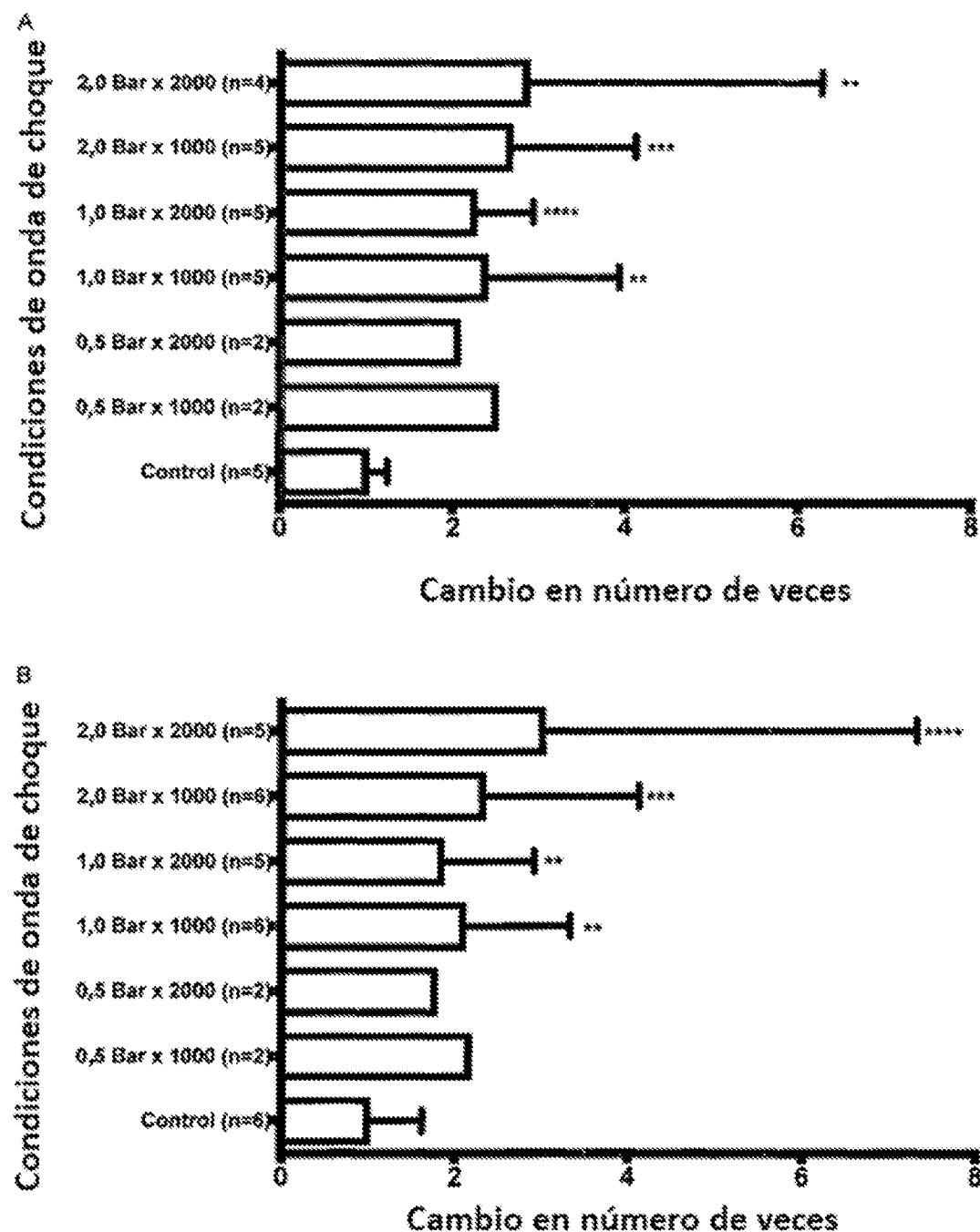


Figura 4

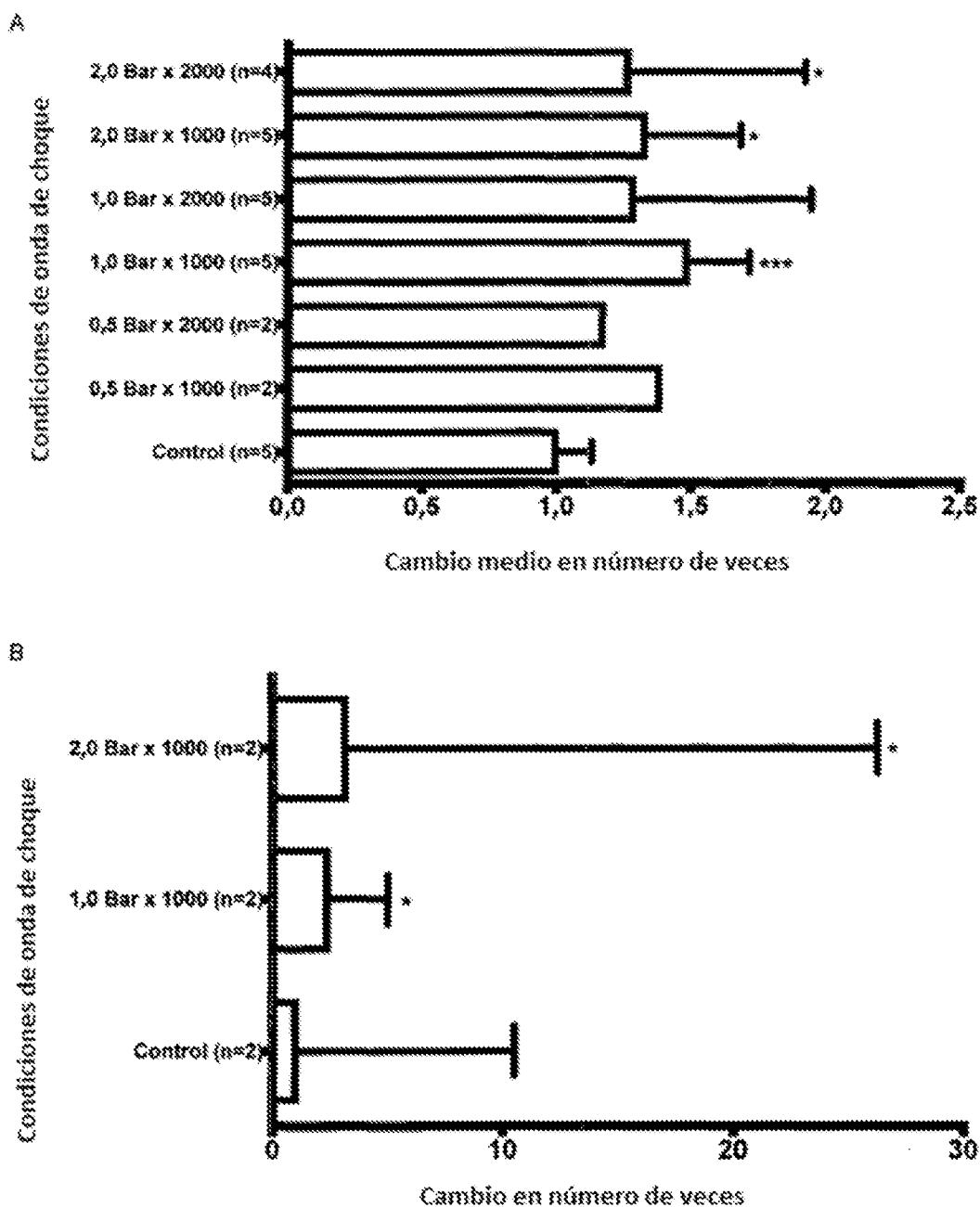


Figura 5

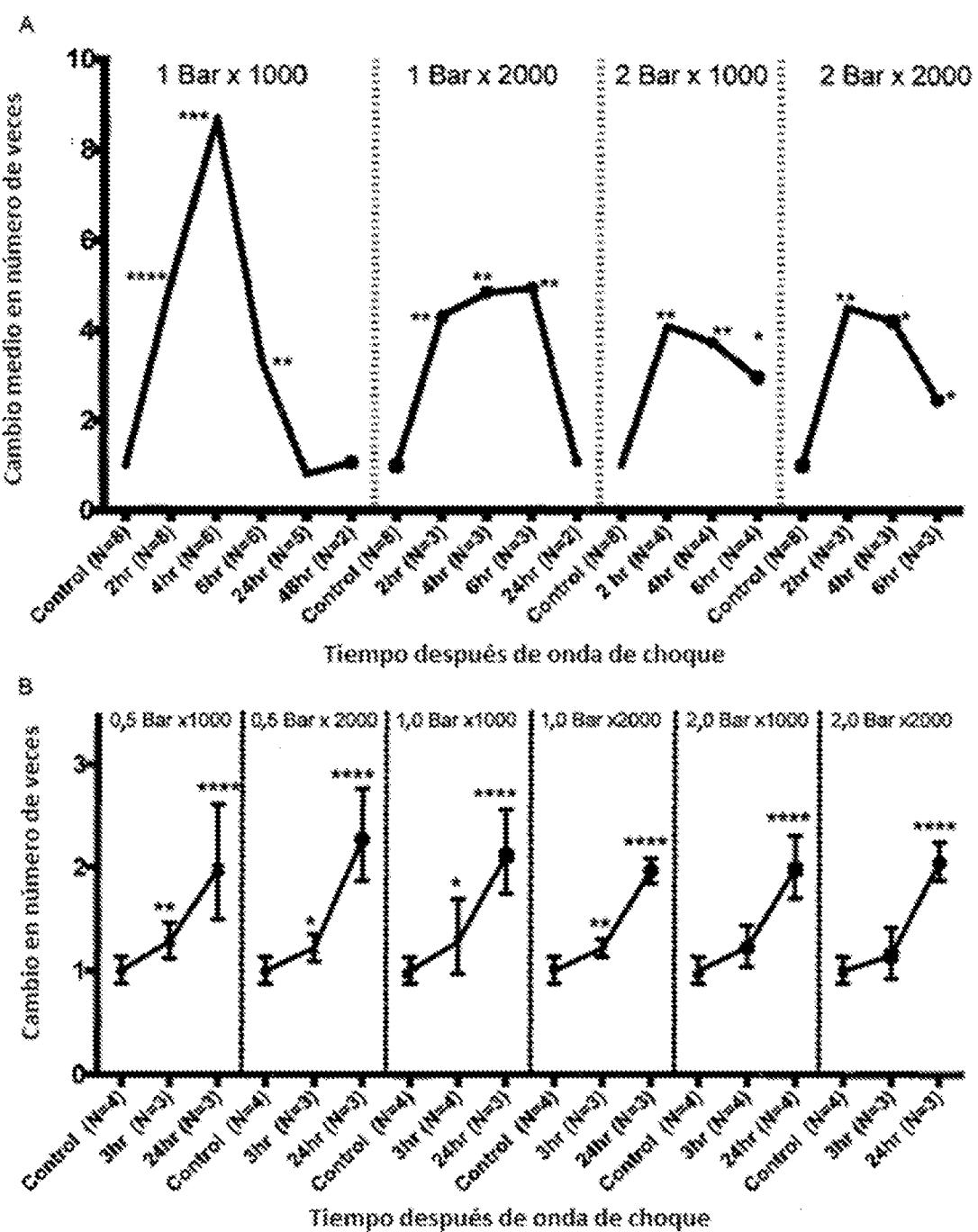


Figura 6

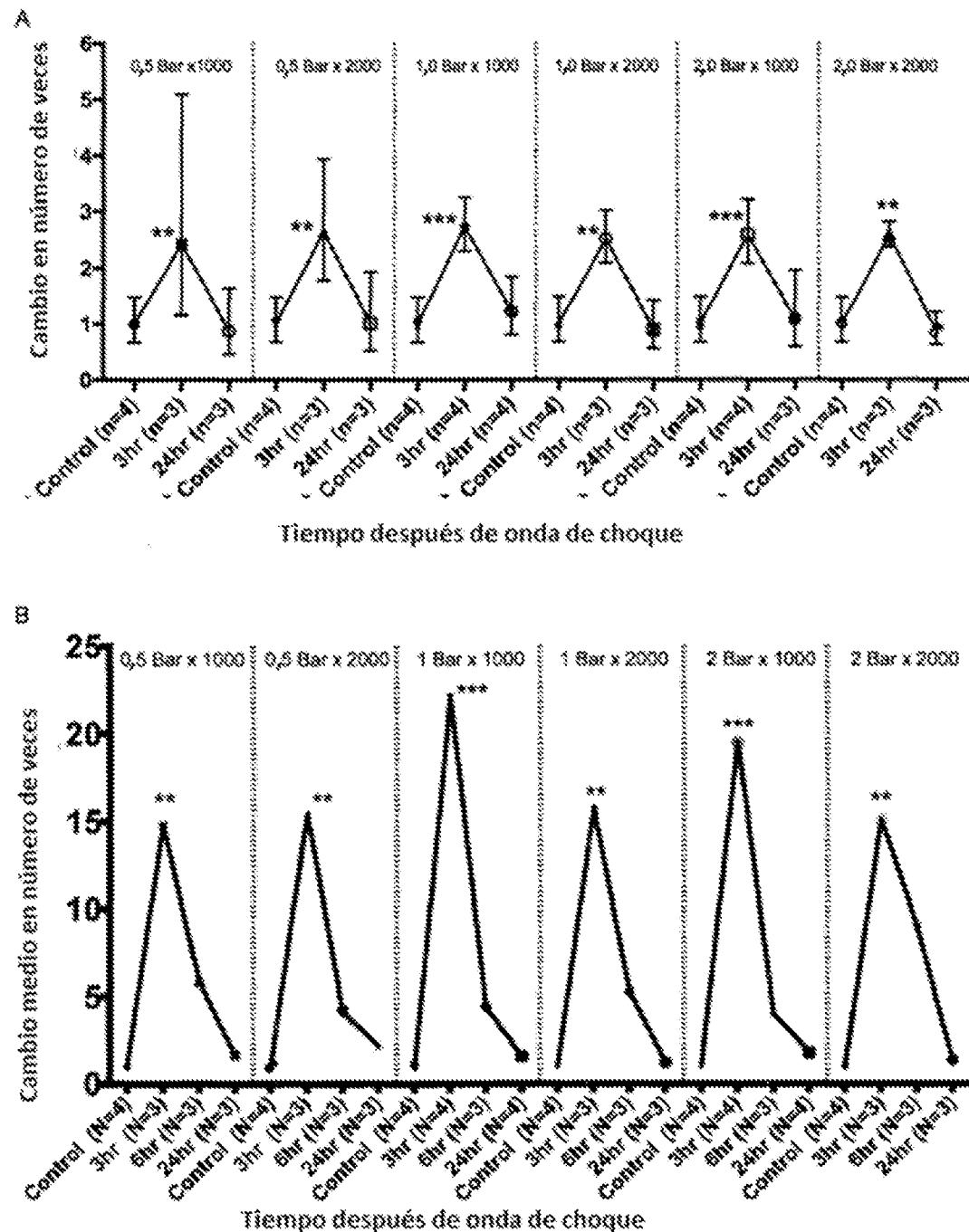
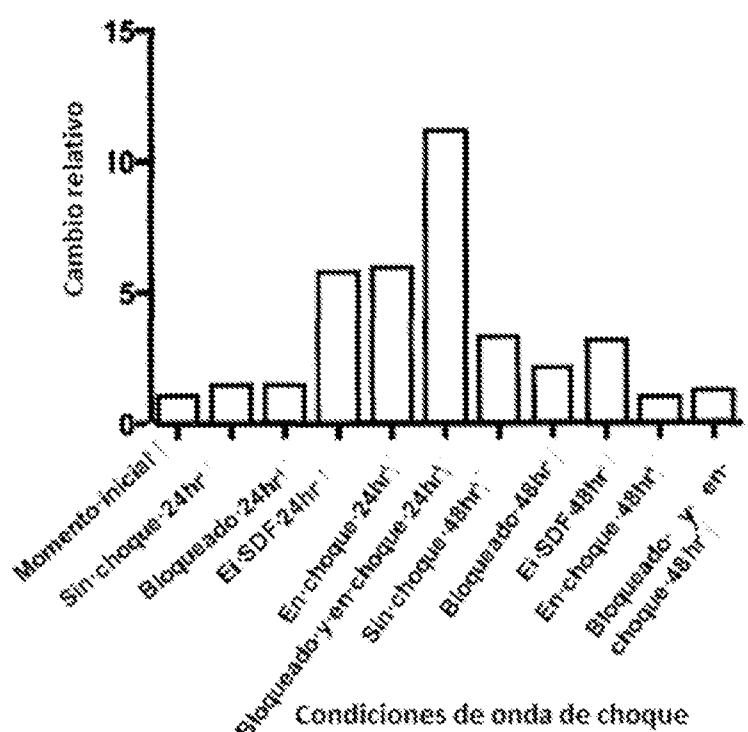


Figura 7

A



B

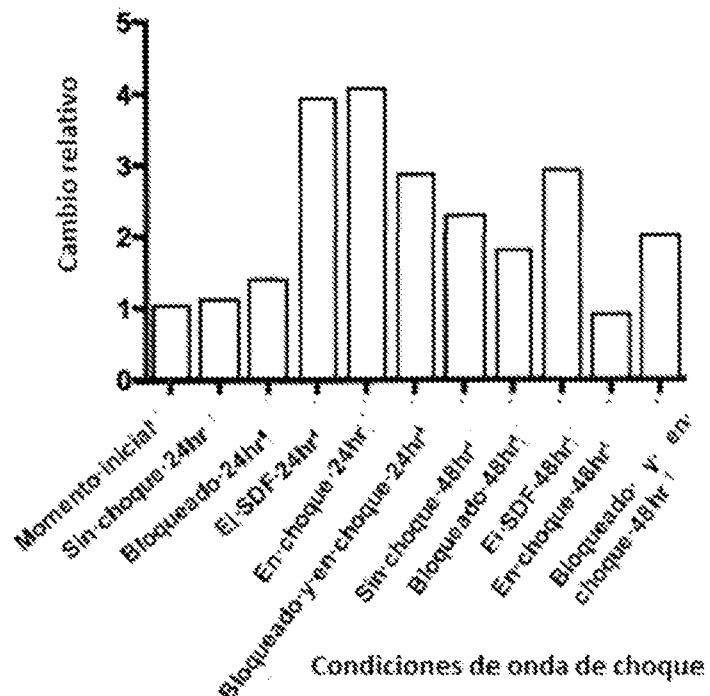
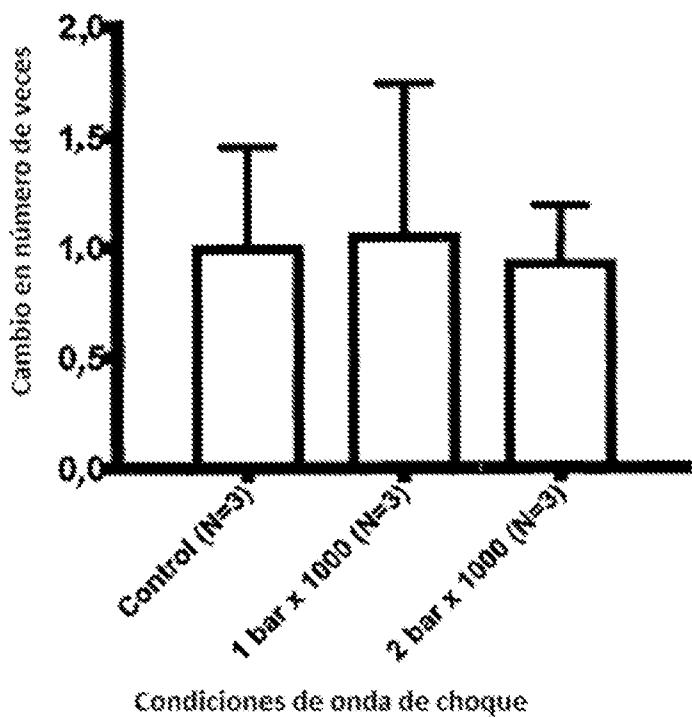
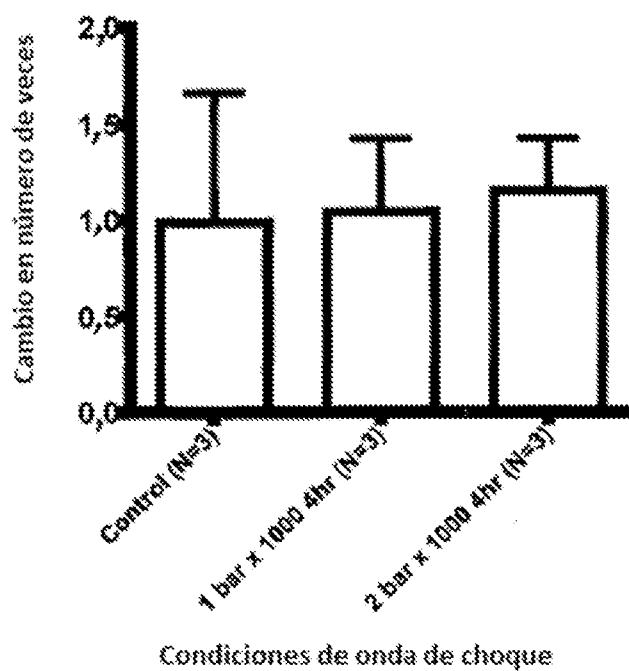


Figura 8

A

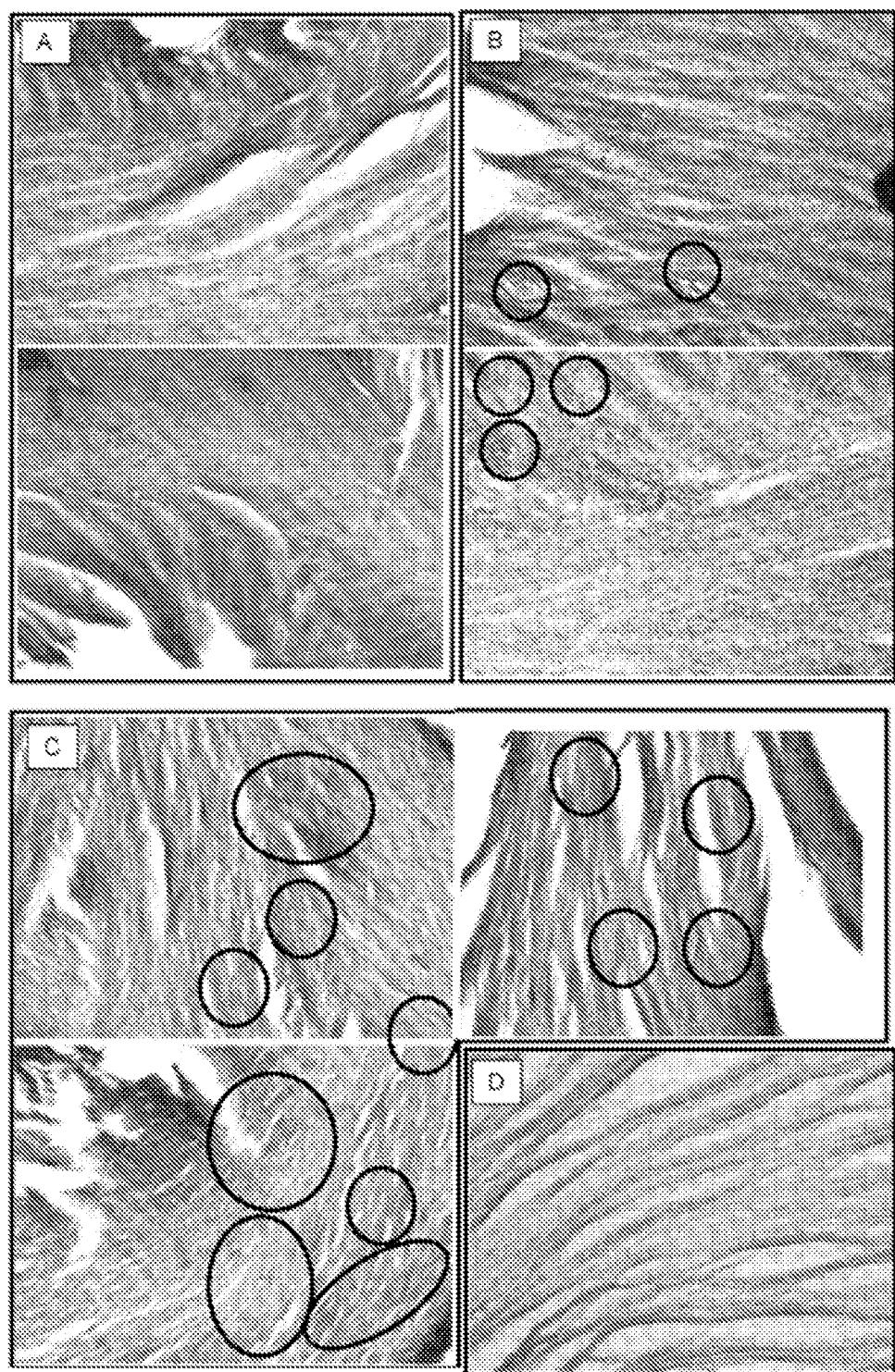


B



ES 3 017 482 T3

Figura 9



ES 3 017 482 T3

Figura 10

