

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 322 685**

21 Número de solicitud: 200603020

51 Int. Cl.:
C07K 14/65 (2006.01)
A61K 38/30 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación: **21.11.2006**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **24.06.2009**

Fecha de la concesión: **01.03.2010**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **15.03.2010**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:
15.03.2010

73 Titular/es: **Universidad de Málaga**
c/ Severo Ochoa, 4 (PTA)
29590 Campanillas, Málaga, ES

72 Inventor/es:
Castilla de Cortazar, María Inmaculada y
García Fernández, María

74 Agente: **No consta**

54 Título: **Utilización de dosis bajas de IGF-II en el envejecimiento por sus efectos neuroprotectores y hepatoprotectores.**

57 Resumen:

Utilización de dosis bajas de IGF-II en el envejecimiento por sus efectos neuroprotectores y hepatoprotectores. La presente invención se refiere a la administración de IGF-II en dosis bajas en el envejecimiento por sus efectos neuroprotectores y hepatoprotectores, y concretamente a su uso en la elaboración de medicamentos o composiciones farmacéuticas con efecto neuroprotector y hepatoprotector. En particular, la aplicación de la presente invención se refiere a mamíferos, incluyendo obviamente al ser humano. El tratamiento sustitutivo o compensatorio con IGF-II normaliza la glucemia, disminuye los niveles de triglicéridos y de colesterol, sin modificar las concentraciones plasmáticas de IGF-I y de testosterona. En resumen, la administración de IGF-II, a dosis bajas, induce efectos antioxidantes, neuroprotectores y hepatoprotectores, mejorando la función mitocondrial.

ES 2 322 685 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Utilización de dosis bajas de IGF-II en el envejecimiento por sus efectos neuroprotectores y hepatoprotectores.

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se engloba en el sector de las preparaciones de uso médico relacionadas con la actividad terapéutica de compuestos o composiciones.

10 **Estado de la técnica**

IGF- II es una hormona peptídica, de 67 aminoácidos, que pertenece a la familia de los *Insulin-like growth factors* (Molecular and Cellular Endocrinology, 1993, 92: C1-C3). Tiene un papel importante en el desarrollo embrionario (Cytokine and Growth Factor Reviews, 1997, 8: 45-62). Por ello, la expresión de mRNA IGF II es muy elevada en la mayoría de los tejidos fetales y parece estar inducida por el lactógeno placentario (Cytokine and Growth Factor Reviews, 1997, 8: 45-62). IGF II es un péptido relacionado con la acción de la hormona del crecimiento, GH (Pediatrician, 1987, 14: 154-161). Es secretado por el hígado y otros tejidos y está postulado que tiene acciones metabólicas y mitogénicas (Vitamines and Hormones, 1993, 47: 1-114). Sin embargo, se desconocen las funciones fisiológicas de IGF-II en la vida adulta (Molecular and Cellular Endocrinology, 1993, 92: C1-C3).

Esta hormona es capaz de unirse a 4 *receptores* distintos (receptor de la insulina, receptor IGF tipo I, el receptor IGF híbrido y el receptor IGF tipo II). El receptor tipo 2 está presente en la circulación, hendido en la superficie de la célula. De esta forma, el receptor tipo 2 transportaría gran cantidad de IGF II, especialmente en la circulación fetal, por lo que podría funcionar como proteína transportadora del IGF II.

Aunque este factor de crecimiento ha sido menos estudiado que el IGF-I, su papel como regulador del crecimiento fetal y placentario ha sido demostrado en numerosos estudios (Pediatrician, 1987, 14: 154-161), aunque dicha caracterización es aún insuficiente. Posee efectos metabólicos como la estimulación del transporte y la utilización de la glucosa, del transporte de aminoácidos y de la síntesis de proteínas. También se han descrito efectos promotores del crecimiento, estando involucrado en la estimulación de la síntesis de DNA y RNA y la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. Estos efectos están mediados por la interacción de IGF-II con el receptor de IGF tipo 1 y el receptor de la insulina (Cytokine and Growth Factor Reviews, 1997, 8: 45-62).

La función del IGF II no ha sido aún estrictamente establecida, aunque se sabe que depende de las concentraciones de GH y otros factores (Physiological Reviews, 1990, 70: 591-613). La expresión postnatal del gen de IGF II es asumida por el promotor hígado específico P1, y como resultado hay unos elevados niveles de IGF II en suero que aumentan hasta la pubertad, y que van declinando con la edad (Molecular and Endocrinology, 1993, 92: C1-C3).

En el sistema nervioso adulto, el IGF II no ha sido suficientemente estudiado, aunque se sabe que existen abundantes receptores en los plexos coroideos y que es muy frecuente en otras estructuras de sostén como las meninges y la red vascular. También está presente en el hipocampo y en la corteza cerebral en regiones superficiales y, en general, es más abundante en áreas compuestas por cuerpos neuronales.

Las situaciones de deficiencia de IGF-I, en las cuales el tratamiento sustitutivo podría ser una estrategia terapéutica eficaz, son poco conocidas. De las situaciones de deficiencia de IGF-I, la mejor conocida es el Síndrome de Laron o Enanismo de Laron (The New England Journal of Medicine, 1996, 334: 463-465), caracterizada por una alteración genética que condiciona la ausencia de receptores para la GH en hígado, con la correspondiente deficiencia de IGF-I, mientras que existen niveles normales o incluso altos de GH. La deficiencia de IGF-I causa el enanismo y falta de desarrollo de estos niños. El tratamiento sustitutivo con IGF-I normaliza el crecimiento y el desarrollo (Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism, 1995, 8: 149-158).

Otra condición de deficiencia de IGF-I, en este caso en la edad adulta, es la cirrosis hepática: el hígado en la medida que se fibrosa, pierde receptores para la GH y las amplias zonas de necrosis, o de parénquima mal irrigado, comprometen progresivamente la capacidad biosintética del hígado. El IGF-I es una de las muchas proteínas hepáticas que ven comprometida su síntesis en la cirrosis hepática. La deficiente síntesis de IGF-I en la cirrosis hepática fue descrita por Wu y colaboradores (Clinical Science and Molecular Medicine, 1974, 47: 359-366).

Sin embargo, no se estableció que la cirrosis era una situación de “deficiencia de IGF-I” hasta que vinculamos esa deficiente síntesis de IGF-I con la desnutrición progresiva que experimenta el paciente cirrótico. Tras intuir esta relación pudimos caracterizar la cirrosis hepática avanzada como una condición de deficiencia de IGF-I y proponer la terapia sustitutiva como una estrategia terapéutica. En efecto, ese tratamiento a dosis bajas, indujo efectos hepatoprotectores y antifibrogénicos y múltiples acciones sistémicas, anabolizantes y antioxidantes: mejorando el estado nutricional, la absorción intestinal de aminoácidos y azúcares, la osteopenia y el hipogonadismo (Gastroenterology, 1997, 113: 1180-1187 y 1682-1691; Journal of Hepatology, 1997, 26: 191-202; Journal of Hepatology, 1998, 28: 122-131; Journal of Physiology and Biochemistry, 2000, 56: 91-99; Hepatology, 2000, 31: 592-600; Liver, 2001, 37: 215-219; International Journal of Biochemistry and Cellular Biology, 2002, 34: 242-252; Journal of Physiology and Biochemistry, 2003, 59: 115-118; WJ Gastroenterology, 2004, 10: 2529-2534; BMC Gastroenterology, 2004, 4: 12-20;

BMC Gastroenterology, 2005, 5: 7-14; Biochimica et Biophysica Acta, 2001, 1536: 185-195; Journal of Hepatology, 2005, 14: 118-125).

Además de la importancia del hígado como glándula endocrina, de estos resultados se dedujo el relevante papel de la GH en el organismo adulto. Es precisa la adecuada función de eje GH-IGF-I para el buen estado funcional de múltiples órganos y tejidos por los efectos anabolizantes y antioxidantes de esta hormona de síntesis hepática. Estos y otro datos propician abordar una tercera condición de deficiencia de IGF-I: el envejecimiento.

Efectivamente, con la edad el eje GH-IGF-I experimenta un declive (Journal of Endocrinology Investigation, 2005, 28: 94-98 y 99-108): 1) disminuye la amplitud, el pulso y la fracción de GH; 2) paralelamente, acontece una progresiva disminución de las concentraciones de IGF-I.

Por lo tanto, se pueden distinguir tres premisas de interés:

- En el envejecimiento, existe una disminución de IGF-I y de GH.
- El estrés oxidativo es un mecanismo causal del envejecimiento tisular y de la muerte celular.
- La administración de IGF-I en una situación de deficiencia de dicha hormona, como es la cirrosis hepática, puede causar un efecto antioxidante.

Por otra parte, la amplia difusión de receptores para IGF-I y de IGF-II en el cerebro y en médula espinal, permitan suponer que estos efectos pudieran ser similares en el SNC (Endocrinology, 1988, 1123: 2089-2099). Además, existían antecedentes demostrando los efectos neuroprotectores y neurotróficos de esta hormona (Brain Research, 2003, 991: 34-45; Progress in Neurobiology, 2003, 70: 443-462; Brain Research and Molecular Brain Research, 2004, 131: 33-50; Neuroreport, 2004, 15: 2251-4; Brain Research, 2004, 1009: 213-218; European Journal of Pharmacology, 2004, 490: 25-31; Journal of Neuroscience Research, 2004, 76: 98-103; European Journal of Neuroscience, 2005, 21: 1489-1502).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a la administración del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo II (IGF-II) en dosis bajas en el envejecimiento por sus efectos neuroprotectores y hepatoprotectores, y a su uso en la elaboración de productos con efecto neuroprotector y hepatoprotector. En particular, la aplicación de la presente invención se refiere a mamíferos, incluyendo obviamente al ser humano.

En el envejecimiento se aprecia la deficiencia de la hormona IGF-I y de la capacidad antioxidante a la vez que un aumento significativo de la glucemia, la colesterolemia, la peroxidación lipídica, así como en las concentraciones de triglicéridos. El tratamiento sustitutivo o compensatorio con IGF-II normaliza la glucemia, disminuye los niveles de triglicéridos y de colesterol, sin modificar las concentraciones plasmáticas de IGF-I y de testosterona.

En resumen, la administración de IGF-II, a dosis bajas, induce efectos antioxidantes, neuroprotectores y hepatoprotectores, mejorando la función mitocondrial.

Descripción de los dibujos

Tabla 1. Pruebas analíticas en suero. Concentraciones de glucosa, colesterol, triglicéridos, alanina transaminasa (ALT), aspartato transaminasa (AST), fosfatasa alcalina (FA), y proteínas totales determinados en muestras de suero de animales jóvenes (COj), animales viejos tratados con IGF-II (V+IGF-II) y tratados con solución salina (V). $X \pm ESM$; * $p < 0.05$ *** $p < 0.001$ vs COj.

Tabla 2. Actividad específica de enzimas antioxidantes en cerebro (córtex e hipocampo), incluyendo catalasa, superóxido dismutasa (SOD), Glutación peroxidasa (GPX) y GRD; en animales jóvenes (COj), animales viejos tratados con IGF-II (V+IGF-II) y tratados con solución salina (V). $X \pm ESM$; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs COj; & $p < 0.05$, && $p < 0.01$ vs V.

Figura 1. Daño oxidativo en cerebro - Concentraciones de MDA, marcador de peroxidación lipídica, y contenido de proteínas carboxiladas en córtex cerebral (A y C, respectivamente) e hipocampo (B y D, respectivamente), en animales jóvenes (COj), animales viejos tratados con IGF-II (V+IGF-II) y tratados con solución salina (V). (A) $X \pm ESM$; * $p < 0.05$ vs COj; & V+IGF-II; (B) $X \pm ESM$; * $p < 0.05$ vs COj; & V+IGF-II; (C) $X \pm ESM$; ** $p < 0.01$ vs : COj; y (D) $X \pm ESM$; * $p < 0.05$ vs COj.

Figura 2. Actividad específica de superóxido dismutasa (SOD) en hipocampo (A), y correlación directa y significativa entre la actividad específica de la enzima superóxido dismutasa (SOD) con el marcador de peroxidación lipídica MDA (B).

Figura 3. Daño oxidativo, en función de la peroxidación lipídica (A) y contenido de proteínas carboxiladas (B) en tejido hepático. (A) $X \pm ESM$; *** $p < 0.001$ vs COj.

Figura 4. Potencial de membrana mitocondrial, evaluado por citometria de flujo con rodamina 123, en mitocondrias aisladas en animales jóvenes (COj), animales viejos tratados con IGF-II (V+IGF-II) y tratados con solución salina (V), según las diferentes condiciones (sustratos).

Figura 5. Estudio del potencial de membrana mitocondrial, evaluado de igual forma que se explica en la figura 4, en animales jóvenes (COj), animales viejos tratados con IGF-II (V+IGF-II) y tratados con solución salina (V), según las diferentes condiciones: (A) Estado 4 ($X \pm ESM$ $**p < 0,01$ V vs COj; $\&p < 0,05$ V+IGF-II vs V), (B) Estado 3 ($X \pm ESM$; $**p < 0,01$ V vs COj), y (C) con oligomicina ($X \pm ESM$; $*p < 0,05$ V vs COj).

Figura 6. Síntesis de ATP en animales jóvenes (COj), animales viejos tratados con IGF-II (V+IGF-II) y tratados con solución salina (V). $X \pm ESM$; $*p < 0,05$ V vs otros grupos.

Figura 7. Producción intramitocondrial de radicales libres (peróxido de hidrógeno). $X \pm ESM$; $***p < 0,001$ V vs otros grupos.

Modos de realización de la invención

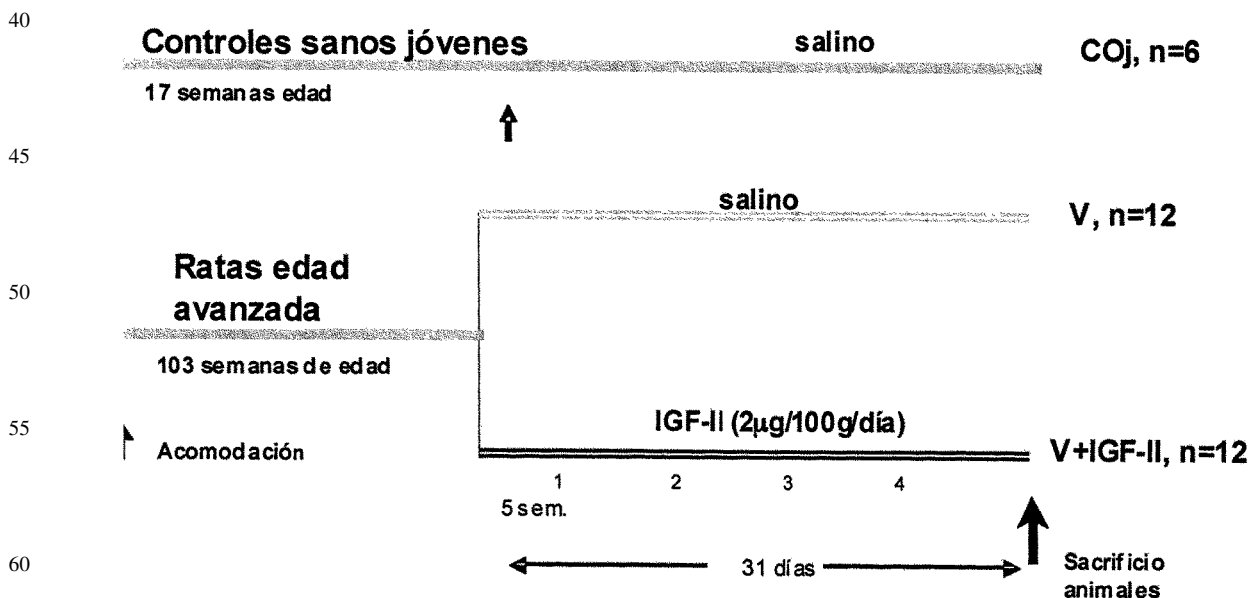
A continuación se describe un estudio del efecto del tratamiento con IGF-II en animales viejos, en concreto usando ratas *Wistar* macho. No obstante, el presente modo de realización no pretende ser limitativo en relación con el alcance de la invención.

1. Caracterización del modelo animal

Para caracterizar el modelo se estudiaron controles sanos de edades progresivamente mayores (9, 7, 19, 35, 90 y 103 semanas). Se estudió la evolución de peso corporal o el incremento de peso; las concentraciones de IGF-I y testosterona; y el estado total antioxidante en suero. Así, se estimó que animales con 9 semanas de edad eran demasiado jóvenes, mientras que las 17 semanas era una edad adecuada para considerarlos Controles jóvenes (COj), y 103 semanas de edad podían considerarse de edad suficientemente avanzada, como para evaluar el declive de hormonas anabolizantes y de la capacidad antioxidante. Para estudiar los posibles efectos de IGF-II sobre los animales viejos se realizó (una vez seleccionada la edad de los controles) el siguiente diseño experimental:

- Controles Jóvenes (COj).

- Animales viejos de 103 semanas de edad que se distribuyeron por el peso corporal en dos grupos idénticos: uno recibiría IGF-II a dosis de 2 mg por 100 g de peso corporal y por día durante 31 días (V+IGF-II); y el otro grupo recibiría solución salina (V).



Se incluyeron en el estudio 30 ratas *Wistar* macho distribuidas en los tres grupos experimentales descritos. Después del tratamiento, día 32, se sacrificaron todos los animales.

2. Muestras

Se separó el suero por centrifugación tras extraer la sangre del plexo retrocular; se diseccionó el hígado y el cerebro y se conservaron muestras por separado de corteza e hipocampo: a -80° tras la inmersión en N líquido. En 5 animales por grupo, una parte del hígado fresco se empleó para aislar mitocondrias y realizar el estudio de función mitocondrial por citometría de flujo.

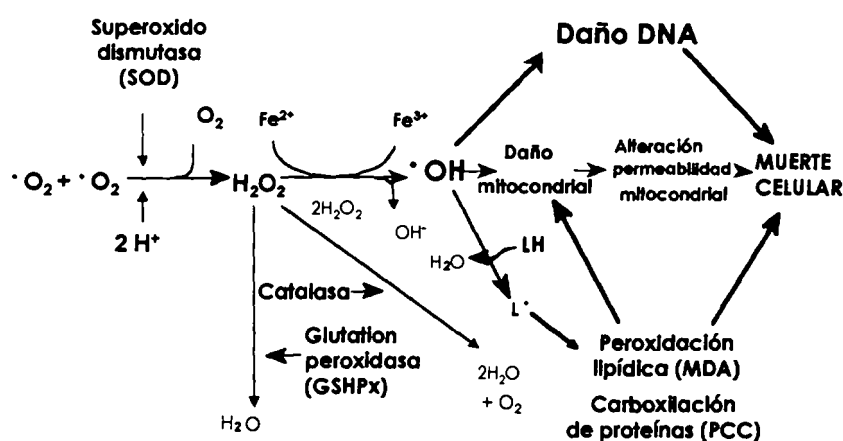
3. Estrés oxidativo

Para evaluar el daño oxidativo y las defensas antioxidantes de los animales viejos (tratados y sin tratar con IGF-II) se estudiaron los siguientes parámetros, en homogeneizados de cerebro (corteza e hipocampo) y hepáticos: 1) el grado de peroxidación lipídica: Malondialdehído (Clinical Chemistry, 1995, 41: 1819-1828; Gastroenterology, 1997, 113: 1682-1691) el grado de carboxilación de proteínas (*Protein carboxil content* o PCC) (Clinical Chemistry, 1995, 41: 1819-1928); y 3) la actividad específica de las principales enzimas antioxidantes (Gastroenterology, 1997, 113: 1682-1691): superóxido dismutasa (SOD), catalasa y Glutación peroxidasa (GSHPx).

La función mitocondrial fue evaluada por citometría de flujo (EPICS XL, Coulter) tal y como se describe en trabajos previos (Clinical Chemistry, 1995, 41: 1819-1828; Gastroenterology, 1997, 113: 1682-1691). Se determinó: 1) el Potencial de membrana mitocondrial (PMM), con los diferentes sustratos, en presencia del fluorocromo rodamina 123 (Rh123); 2) Síntesis de ATP; 3) Producción de radicales libres intramitocondriales ($H_2CMXRos$).

Las determinaciones hormonales se realizaron por RIA, el estado antioxidante total y las determinaciones analíticas en suero según los métodos colorimétricos previamente descritos (Clinical Chemistry, 1995, 41: 1819-1828; 79; Gastroenterology, 1997, 113: 1682-1691; Journal of Physiology and Biochemistry, 2003, 59: 115-118).

Parámetros estudiados



4. Resultados

Los animales viejos (V) mostraron un aumento significativo de la glucemia, colesterolemia y las concentraciones de triglicéridos (Tabla 1). El tratamiento con IGF-II normalizó la glucemia y redujo los triglicéridos y la colesterolemia.

El tratamiento con IGF-II no modificó las concentraciones circulantes de IGF-I, ni de testosterona, en contraste con los resultados obtenidos con la administración de IGF-I. Lo que permite deducir que los posibles efectos anabolizantes o antioxidantes que se describen a continuación se deben a la administración de IGF-II.

La administración exógena de IGF-II no modificó la capacidad total antioxidante en suero que estaba significativamente reducida en los animales viejos con respecto a los controles jóvenes (en mmol/L, $COj=0.91\pm 0.01$; $V=0.84\pm 0.01$, $p<0.001$) y que el tratamiento con IGF-I a dosis bajas había logrado normalizar ($V+IGF-I=0.88\pm 0.02$, $p<0.01$). Sin embargo, el IGF-II indujo los siguientes efectos antioxidantes, neuroprotectores y hepatoprotectores en animales viejos.

El grado de peroxidación lipídica, estimado por las concentraciones de MDA (Fig. 1A), así como el contenido en proteínas descarboxiladas (PCC, Fig. 1B), fueron significativamente elevados, tanto en corteza como en hipocampo, en los animales viejos, y el tratamiento con IGF-II fue capaz de normalizarlos.

La actividad específica de la SOD en corteza cerebral estuvo significativamente incrementada en el grupo V, mientras los animales viejos tratados con IGF-II presentaron una actividad similar a los COj (Tabla 2). Esta enzima se suele comportar como un marcador de agresión oxidativa. En homogeneizados de hipocampo también se observó un resul-

ES 2 322 685 B2

tado similar en la actividad específica de la SOD (Tabla 2) y, efectivamente, se pudo establecer un estrecha correlación directa con el MDA, marcador de peroxidación lipídica (Fig. 2).

5 Por otra parte, la actividad glutatión peroxidasa fue significativamente reducida en los animales viejos y normalizada en los animales de edad avanzada tratados con IGF-II (Tabla 2).

10 En el hígado se observó un incremento en la peroxidación lipídica que disminuyó sensiblemente con el tratamiento (Fig. 3A). Sin embargo, no se observaron diferencias entre los tres grupos experimentales en el PCC (nmol/mg de proteína; COj=3.76±0.63; V=4.71±1.17; V+IGF-II=4.73±1.31; Fig. 3B). En cuanto a la actividad específica de enzimas antioxidantes en homogeneizados hepáticos cabe destacar la actividad catalasa: disminuida significativamente en el grupo V y normalizada con el tratamiento (en KU/mg proteína, COj=2.97±0.30; V=2.03±0.23, p<0.05 vs COj; V+IGF-II=3.00±0.44).

15 El estudio por citometria de flujo de mitocondrias hepáticas aisladas, mostró una disminución significativa del PMM en las mitocondrias procedentes de animales viejos con respecto a los COj en todas las condiciones (Fig. 4). Las mitocondrias de animales V+IGF-II mostraron una evidente mejoría en la función mitocondrial, según este parámetro. En la Fig. 5A y B se muestra la disminución del potencial de membrana observado tanto en estadio 4 (con succinato) como en estadio 3 (con la adición de ADP), respectivamente.

20 Por otra parte, al evaluar el potencial de membrana mitocondrial con oligomicina encontramos unos hallazgos similares (Fig. 5C). En estas condiciones, se mide la magnitud máxima de PMM, porque la oligomicina desactiva de ATPasa y con ella el bombeo de protones. Por tanto la oligomicina nos permite ensayar las condiciones de máxima negatividad intramitocondrial. En estas condiciones, también encontramos una depleción del PMM en mitocondrias procedentes de animales de edad avanzada (V) y su recuperación en las mitocondrias procedentes del grupo V+IGFII.

25 Así mismo, la síntesis de ATP (Fig. 6) se encontró reducida en las mitocondrias hepáticas procedentes de animales viejos y alcanzó niveles semejantes a los controles jóvenes en las de animales de 103 semanas tratados con IGF-II a dosis bajas durante un mes. En cuanto a la producción de radicales libres intramitocondriales (Fig. 7), se determinó una producción de ROS significativamente elevada en las mitocondrias del grupo V, mientras que existían concentraciones similares a las de los controles jóvenes (COj) en el grupo V+IGFII.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Uso del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo II (IGF-II) en dosis bajas para la preparación de un producto con efectos neuroprotectores y hepatoprotectores frente al envejecimiento.

2. Uso del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo II (IGF-II) en dosis bajas según la reivindicación anterior en la que dichos productos son medicamentos o composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de IGF-II.

10 3. Uso del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo II (IGF-II) en dosis bajas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende la administración vía oral, percutánea, subcutánea, intramuscular, intraarticular, o intravenosa.

15 4. Uso del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo II (IGF-II) en dosis bajas según la reivindicación anterior que comprende la administración vía oral a través de alimentos enriquecidos, por ejemplo leche natura, leche artificial o calostro (*colostrum*).

20 5. Uso del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo II (IGF-II) en dosis bajas según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** porque el producto comprende, además, un excipiente farmacéuticamente compatible con IGF-II.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 1.

	COj	V	V+IGF-II
Glucosa (mmol/L)	4.32±0.43	5.68±0.23*	5,50 ± 0,34
Colesterol (mg/dL)	57.4±3.56	128.8±12.26***	117,3 ± 19,98
Triglicéridos (mg/dL)	123.6±21.39	319.2±65.58*	194,5 ± 39
ALT (U/L)	27.30±1.27	27.80±2.60	30,3 ± 4,27
AST (U/L)	105.10±5.97	90.80±5.72	108,3 ± 9,65
FA (U/L)	201.00±11.26	91.40±4.00***	137,67 ± 72,27*
Proteínas Totales (g/L)	59.3±0.50	66.40±1.3***	67,8 ± 0,72***

Tabla 2.

		Coj	V	V+IGF-II
Catalasa (U/mg prot)	Córtex	24.05±0.86	19.93±1.10**	18.17±2.24*
	Hipocampo	9.93±0.47	15.84±2.23**	7.87±1.07 ^{&}
SOD total	Córtex	4.27±0.13	5.61±0.38**	4.94±0.25*
	Hipocampo	1.35±0.05	2.07±0.17***	1.28±0.17 ^{&}
GPX total	Córtex	94.46±2.66	82.17±2.91**	107.64±4.57*
	Hipocampo	55.92±2.85	88.13±5.05***	72.44±7.42*
GRD (U/mg prot)	Córtex	44.46±1.18	45.48±2.15	46.48±1.73
	Hipocampo	33.01±1.12	44.65±3.26**	34.72±4.37

Figura 1.

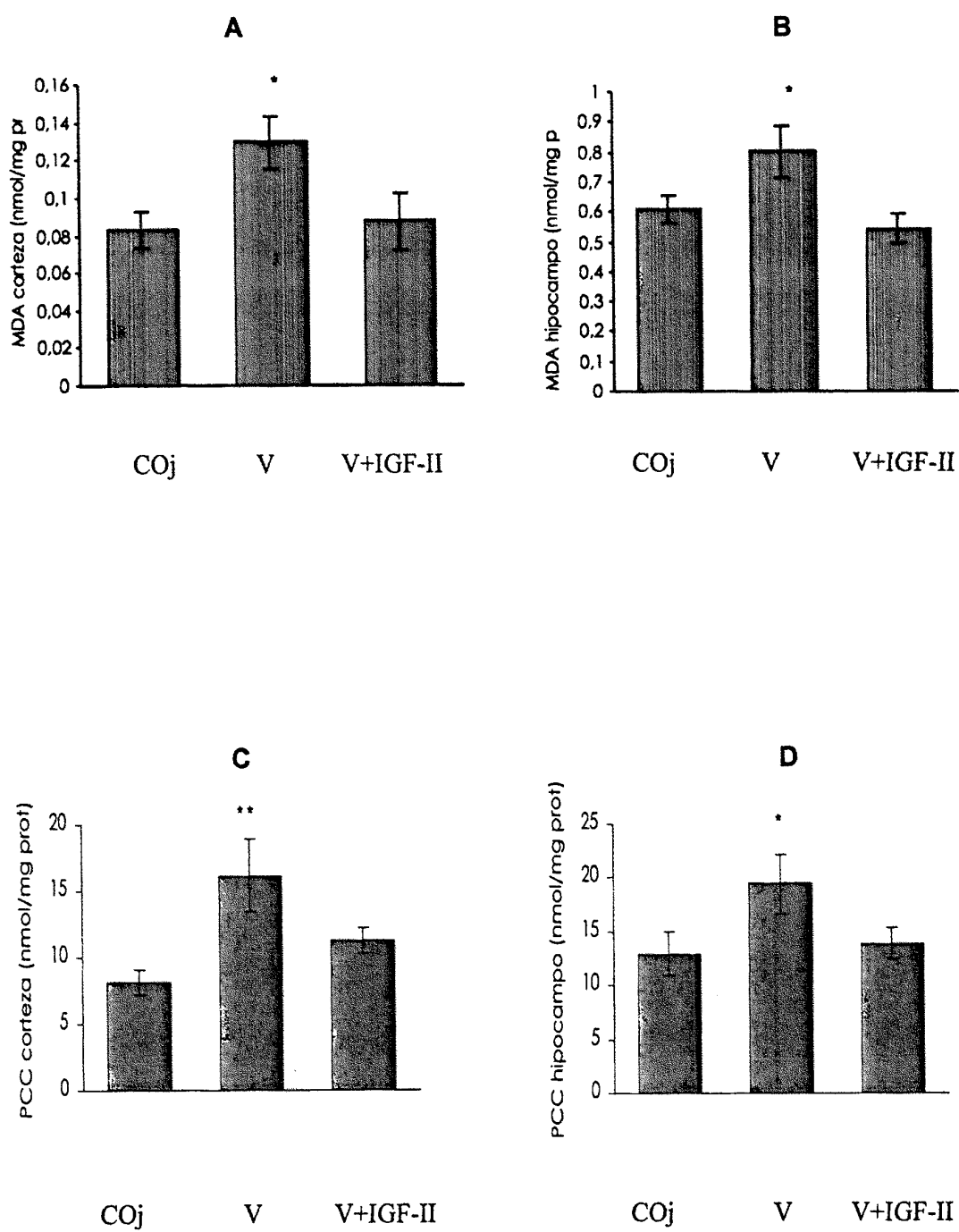


Figura 2.

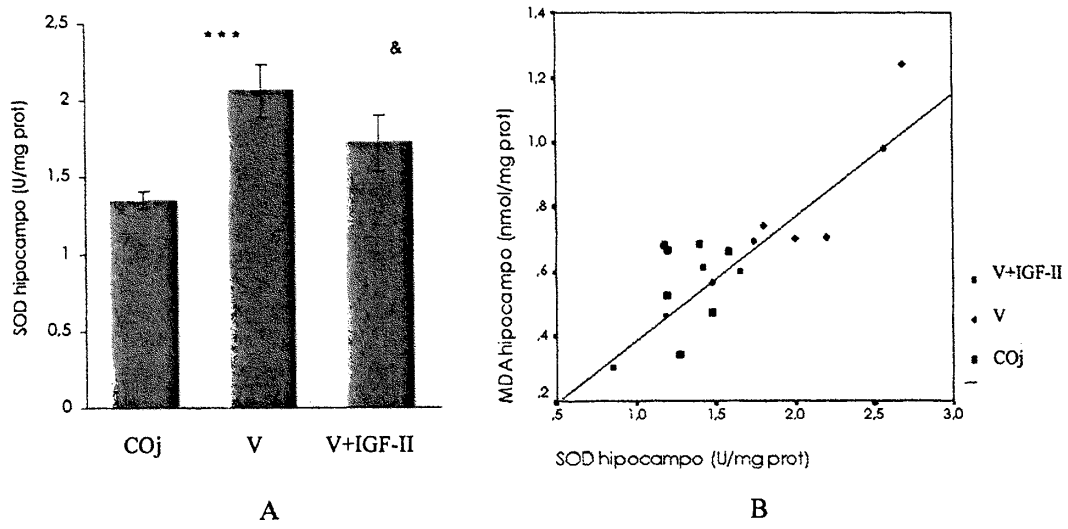


Figura 3.

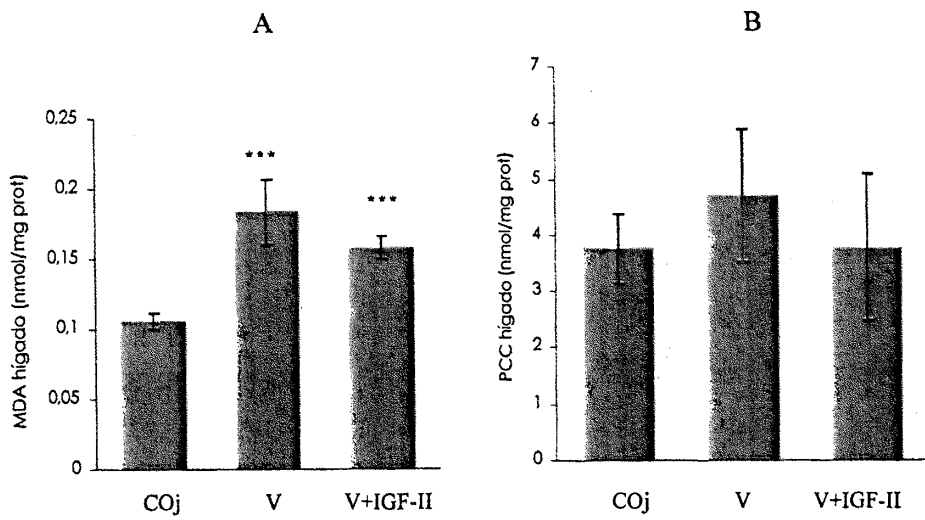


Figura 4.

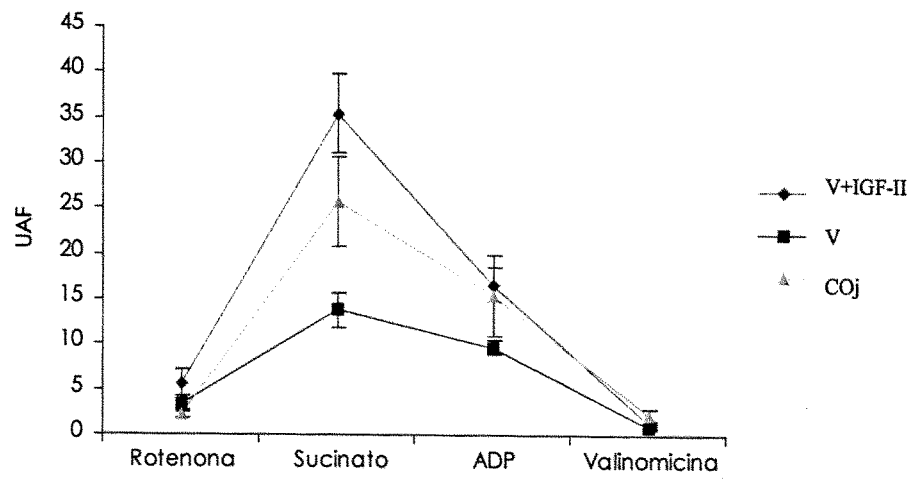
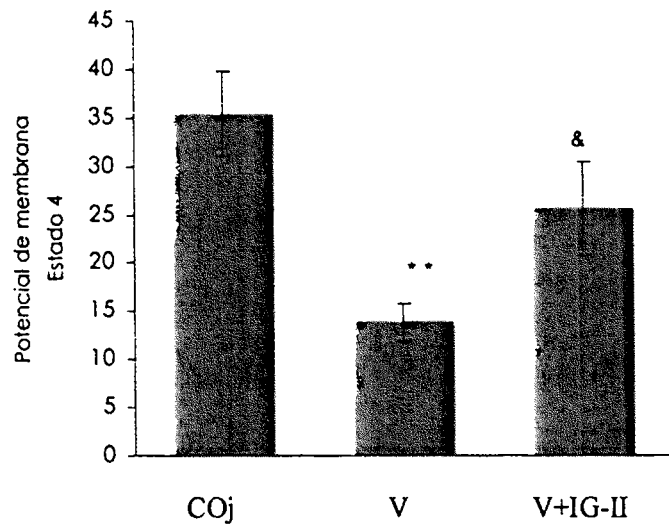
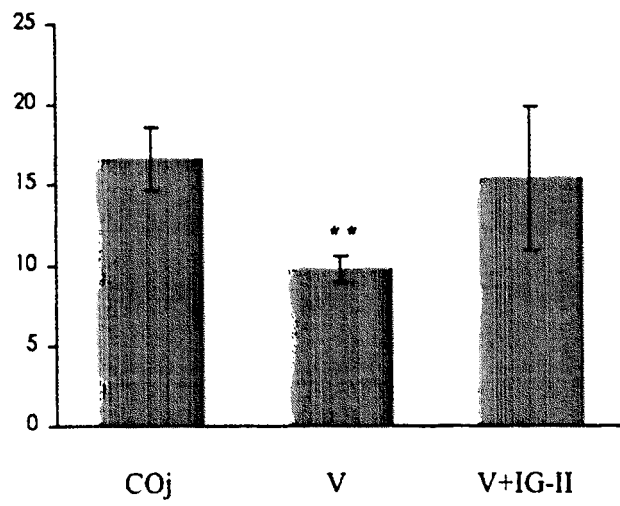


Figura 5.

A



B



C

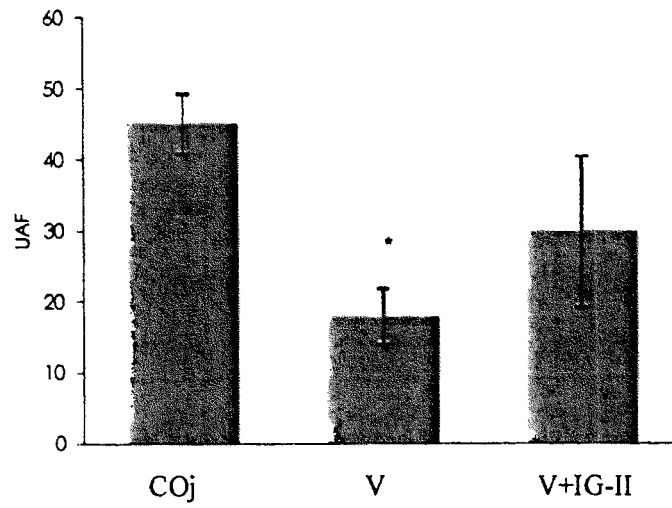


Figura 6.

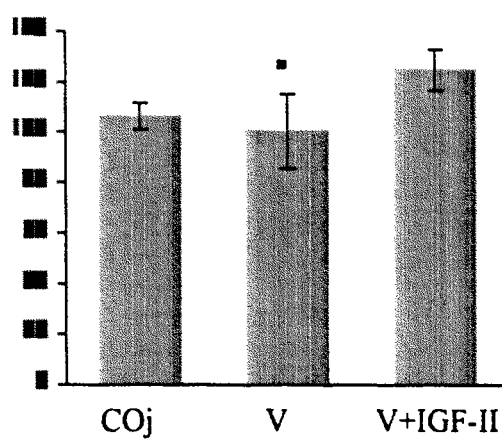
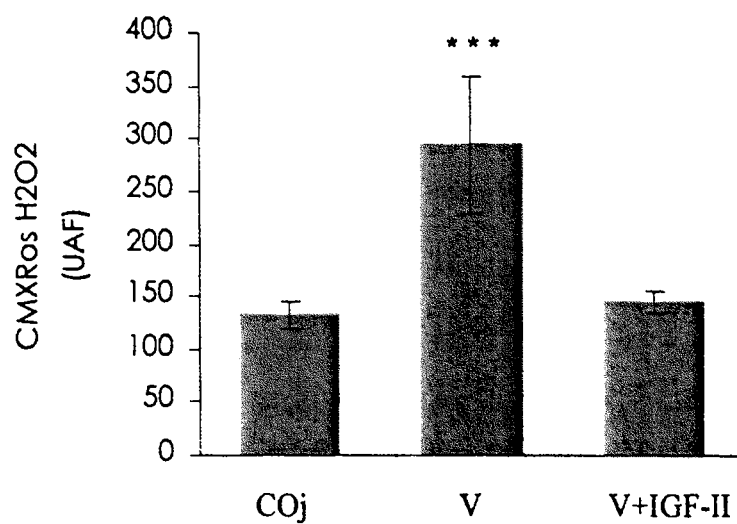


Figura 7.





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 322 685

② Nº de solicitud: 200603020

③ Fecha de presentación de la solicitud: 21.11.2006

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C07K 14/65** (2006.01)
A61K 38/30 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	BOYLSTON, W.H. et al. Altered Cholesterologenic and Lipogenic Transcriptional Profile in Livers of Aging Snell Dwarf (Pit 1dw/dwj) Mice. Aging cell. October 2004. Vol. 3, Núm. 5, páginas 283-296. Especialmente página 290, columna 2, página 291.	1-2
A	MATTSON, M.P. et al. Growth Factors Prevent Mitochondrial Dysfunction, Loss of Calcium Homeostasis, and Cell Injury, but not ATP Depletion in Hippocampal Neurons Deprived of Glucose. Experimental Neurology. 1993. Vol. 121. Núm 1 páginas 1-13. Todo el documento.	1-2
A	US 5093317 A (LEWIS et al.) 03.03.1992, columnas 3-5,9,10. Todo el documento.	1-5
A	WO 199721449 A1 (COLORADO STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION) 19.06.1997, todo el documento.	1-5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
09.06.2009

Examinador
N. Urquía Fernández

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07K, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, BIOSIS, XPESP, XPOAC, COMPDX, EMBASE, INSPEC, MEDLINE, PUBCHEM, INTERNET,

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 09.06.2009

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-5	SÍ
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-5	SÍ
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 5093317 A (LEWIS et al.) Columnas 3-5, 9,10.	03.03.1992
D02	WO 1997/21449 A1 (COLORADO STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION) Todo el documento.	19.06.1977
D03	MATTSON, M.P. et al. Growth Factors Prevent Mitochondrial Dysfunction, Loss of Calcium Homeostasis, and Cell Injury, but not ATP Depletion in Hippocampal Neurons Deprived of glucose. Experimental Neurology. 1993. Vol. 121. Núm 1 páginas 1-13. Todo el documento.	1993
D04	BOYLSTON, W.H. et al. Altered Cholesterologenic and Lipogenic Transcriptional Profile in Livers of Aging Snell Dwarf (Pit 1dw/dwj) Mice. Aging cell. Octubre 2004. Vol. 3, Núm. 5, páginas 283-296. Especialmente pág. 290 columna 2, pág. 291;	Oct- 2004

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención describe la utilización de dosis bajas de IGF-II en el envejecimiento por sus efectos neuroprotectores y hepatoprotectores.

El documento D01 divulga el estado de la técnica más cercano a las reivindicaciones 1-5 y describe el uso de dosis bajas de IGF-II para aumentar la supervivencia de células neuronales con mayor riesgo de muerte debido a envejecimiento natural, lesión o enfermedad neurodegenerativa (columna 4), pero no hace referencia a las propiedades hepatoprotectoras del IGF-II.

El documento D02 divulga el uso terapéutico administrado de forma parenteral en bajas dosis de IGF-II para reducir el riesgo de lesión al cerebro en las diversas enfermedades en las que la edad es un factor relevante, pero no hace referencia al papel hepatoprotector del IGF-II.

El documento D03 divulga el papel IGF-II en la protección de las funciones mitocondriales, y en particular su papel en la protección de las neuronas frente a oxidaciones producidas por radicales libres, sugiriendo su aplicabilidad terapéutica en enfermedades neurodegenerativas (pág. 10 y 11), pero no hace referencia al papel del IGF-II en las células hepáticas.

El Documento D04 divulga el papel fundamental de IGF-I en la regulación de la oxidación hepática de los lípidos, en la lipogénesis, en la gluconeogénesis, en la glicogenólisis, así como su importante papel en la determinación de la longevidad, sorprendentemente las mismas funciones que la invención describe para el IGF-II.

Ninguno de los documentos tomados solos o en combinación destruyen la novedad o actividad inventiva de la invención tal que descrita y reivindicada.