



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 300 398**

51 Int. Cl.:
A61K 38/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02009265 .6**

86 Fecha de presentación : **26.04.2002**

87 Número de publicación de la solicitud: **1254665**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **06.11.2002**

54 Título: **Uso de albúmina en combinación con factores de crecimiento para inhibir la apoptosis.**

30 Prioridad: **26.04.2001 JP 2001-129472**
19.10.2001 JP 2001-322051

73 Titular/es: **R-Tech Ueno, Ltd.**
1-7, Uchisaiwai-cho 1-chome
Chiyoda-ku, Tokyo-to, JP

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2008

72 Inventor/es: **Tsubota, Kazuo y**
Higuchi, Akihiro

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2008

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 300 398 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

Uso de albúmina en combinación con factores de crecimiento para inhibir la apoptosis.

5 Composición farmacéutica para inhibir la apoptosis.

Campo técnico

10 La presente invención se refiere al uso de una composición farmacéutica para la fabricación de un medicamento para tratar a un sujeto que tiene una afección que implica apoptosis. La presente invención también se refiere al uso de una composición farmacéutica para inhibir una apoptosis aumentada.

Técnica antecedente

15 La apoptosis es un tipo de muerte celular genéticamente programada. Morfológicamente, la apoptosis se produce junto con el proceso siguiente: condensación del núcleo de la célula; encogimiento de la célula; vacuolización citoplasmática y alisado de la superficie celular; aumento del espacio intercelular; liberación de la célula de la región pericelular; fragmentación de la célula (para dar cuerpos apoptóticos) y fagocitosis del fragmento por macrófagos o similares. Bioquímicamente, el ADN nucleosomal se escinde mediante la actividad endonucleasa en fragmentos de
20 ADN de 180-222 pb (Immunology Today 7: 115-119, 1986; Science 245: 301-305, 1989).

Se ha puesto de manifiesto que la apoptosis desempeña un papel, no sólo en la muerte celular fisiológica con respecto a la generación/diferenciación y renovación de tejidos y células normales, sino también en algunas enfermedades o afecciones tales como muerte celular isquémica de nervios después de un infarto cerebral, muerte celular
25 debida a radiación nuclear o a un agente anticanceroso, muerte celular debida a una toxina o a una infección viral, linfocitopenia debida a una infección viral tal como SIDA, muerte celular de fotorreceptores en una retinopatía fótica inducida por luz, enfermedad autoinmune, enfermedad de Alzheimer y enfermedad inflamatoria. Además se sabe que cuando una superficie ocular sufre un trastorno grave debido a ciertas causas, se produce la apoptosis de la superficie ocular. Por ejemplo, se ha publicado que la apoptosis desempeña un papel en la queratitis intersticial debida a herpes
30 simple y en la muerte celular corneal después de la irradiación de ultravioleta (Klin Monatsbl Augenheilkd Vol. 217 N° 3: 178-182, 2000, Cornea Vol. 19 N° 1: 99-103, 2000).

Por consiguiente, se desea el desarrollo de un nuevo agente para el control de la apoptosis (es decir, un inhibidor de la apoptosis o un inductor de la apoptosis) que pueda proporcionar un nuevo tipo de fármaco con un nuevo modo de
35 acción y ser útil en una diversidad de campos, que incluyen el sistema inmune, el sistema nervioso cerebral, el sistema nervioso óptico, el cáncer y el envejecimiento.

La apoptosis puede inducirse por diversas clases de estimulantes que incluyen factores biológicos e irradiación ultravioleta. A pesar del estimulante, el proceso de apoptosis incluye comúnmente la activación de tipo cascada de un
40 grupo de enzimas proteolíticas denominadas como familia de las caspasas, que están presentes en las células. Concretamente, el factor inductor de la muerte celular activa la cascada de activación de las caspasas, especialmente la caspasa-3, y la caspasa-3 activa a endonucleasas que fragmentan el ADN para provocar la apoptosis. Por consiguiente, la actividad de las caspasas, especialmente la actividad de la caspasa-3, puede usarse como un índice eficaz de apoptosis.

45 Las sustancias que se sabe que inhiben la apoptosis incluyen el inhibidor de la enzima convertidora de interleuquina 1, el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (solicitud de patente japonesa abierta a inspección pública N° HEI.10-194988). Un derivado de isocarbaciocina tiene una acción inhibidora sobre la apoptosis de células nerviosas y similares (patente de Estados Unidos N° 6.087.395) y la
50 prostaglandina E1 tiene una acción inhibidora sobre la apoptosis inducida por daunorrubicina de células de leucemia humanas (Japanese Journal of Inflammation Vol. 18, N° 5: 369-376, 1998).

La albúmina es una proteína que está muy presente en tejidos animales o vegetales y fluidos corporales tales como suero y líquido lacrimal. Por ejemplo, se usa albúmina sérica humana para tratar la hipoalbuminemia, el cho-
55 que hemorrágico y similares. En el campo oftálmico también se conoce el uso de albúmina como estabilizante en formulaciones de proteínas tales como fibronectina e interferón. El presente inventor ha propuesto anteriormente el uso de albúmina para el tratamiento de trastornos queratoconjuntivales o del ojo seco (patente de Estados Unidos N° 6.043.213). Sin embargo, no se conoce que la albúmina tenga una acción inhibidora de la apoptosis.

60 El documento WO 98/30233 describe una composición farmacéutica para el tratamiento de trastornos del segmento anterior del ojo que comprenden al menos un agente capaz de provocar una descarga neta de colesterol.

En Br. J. Ophthalmol., 1993; 83: 384-385 se describe el papel de ciertos factores de crecimiento en la proliferación del epitelio de la superficie ocular.

65

Sumario de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar el uso de una composición para la fabricación de un medicamento para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad o afección que implica apoptosis.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para inhibir la apoptosis. Mediante la inhibición o supresión de una apoptosis aumentada, se espera que se controlen diversas enfermedades o afecciones asociadas con la apoptosis.

Los presentes inventores han dirigido profundos estudios sobre la actividad biológica de la albúmina y han descubierto que la albúmina presenta una acción inhibidora de la apoptosis, que ha dado como resultado la conclusión de la presente invención.

Concretamente, la presente invención se refiere al uso de albúmina junto con un factor de crecimiento celular seleccionado de entre el factor de crecimiento transformante α o β , el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento de hepatocitos, el factor de crecimiento de tipo insulina, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento nervioso y/o vitamina A como el único ingrediente farmacéuticamente activo para la fabricación de una composición farmacéutica para tratar una retinopatía fótica inducida por luz o un trastorno de la superficie ocular que sea un trastorno de la córnea y/o de la conjuntiva.

Los presentes inventores también han descubierto que un factor de crecimiento celular y/o vitamina A, usados junto con la albúmina, aumentarán el efecto inhibidor de la apoptosis de la albúmina.

Breve explicación de los dibujos

La Figura 1 representa el resultado del Ejemplo 2, que demuestra los efectos de la albúmina y de la albúmina + EGF y/o vitamina A.

La Figura 2 representa el resultado del Ejemplo 3, que demuestra los efectos de la albúmina y de la albúmina + TGF α , así como de la albúmina + TGF β .

La Figura 3 representa el resultado del Ejemplo 4, que demuestra los efectos sinérgicos de la albúmina + bFGF y de la albúmina + HGF.

La Figura 4 representa el resultado del Ejemplo 4, que demuestra los efectos sinérgicos de la albúmina + IGF y de la albúmina + PDGF.

La Figura 5 representa el resultado del Ejemplo 4, que demuestra el efecto sinérgico de la albúmina + NGF.

Descripción detallada de la invención

Puede usarse preferiblemente albúmina de origen humano, tal como albúmina sérica humana. Especialmente, es particularmente preferible albúmina sérica humana con la pureza adecuada para su uso normal en aplicaciones médicas, tal como un producto de albúmina sérica humana que no contiene menos del 80% de albúmina cuando se analiza por electroforesis. Para inactivar virus potencialmente contaminantes, se prefieren las que se obtienen por tratamiento con calor. Se da preferencia especialmente a la albúmina sérica humana de calidad médica disponible en el mercado.

También puede usarse preferiblemente en la presente invención albúmina recombinante genética producida por microorganismos transgénicos. Los especialistas en la técnica conocen bien la técnica de recombinación genética. En resumen, un vector que contiene un gen que codifica una albúmina deseada (por ejemplo, albúmina humana) puede prepararse e introducirse en una célula hospedadora para transformar la célula. La célula transformada que produce una proteína deseada puede seleccionarse. La célula transformada seleccionada puede cultivarse y, a partir del sobrenadante o de las células cultivadas, la albúmina deseada puede aislarse y purificarse. Los ejemplos de células hospedadoras incluyen levaduras y *Escherichia coli*, que se usan generalmente por los especialistas en la técnica para producir una proteína. En vista de evitar el riesgo de contaminación por virus en la composición, se le da más preferencia a la albúmina que se produce mediante la técnica de recombinación genética anterior.

Los factores de crecimiento celular incluyen el factor de crecimiento transformante α o β , el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento de hepatocitos, el factor de crecimiento de tipo insulina, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento nervioso.

Los factores de crecimiento celular pueden ser las sustancias de origen natural que se producen en animales o en células animales o sustancias recombinantes que se producen por medio de técnicas convencionales de recombinación genética. También pueden usarse factores de crecimiento celular modificados genéticamente que tienen una secuencia de aminoácidos parcialmente delecionada, reemplazada o con adiciones; o los que tienen cadenas de sacáridos parcialmente modificadas o delecionadas, que se obtienen por medio de técnicas transgénicas, siempre que los productos modificados presenten sustancialmente una acción similar a la de los productos de origen natural.

ES 2 300 398 T3

La vitamina A que se usa en la presente invención es vitamina A (retinol).

Como se usan en este documento, los términos “tratamiento”, “tratar” o “que se trata” se refieren a cualquier medio de control incluyendo la prevención, la atención, el alivio de la afección, la atenuación de la afección y la detención de la evolución.

De acuerdo con la presente invención, el sujeto a tratar puede ser cualquier sujeto mamífero, incluyendo seres humanos y animales.

De acuerdo con la presente invención, la composición que se usa en la presente invención puede aplicarse por vía sistémica o por vía tópica al sujeto. Especialmente, la composición se usa por vías tales como la administración tópica ocular, la administración percutánea, la administración intravenosa (incluyendo la infusión con goteo) y la administración subcutánea. La administración tópica ocular es especialmente preferible.

De acuerdo con la presente invención, la cantidad eficaz de albúmina se refiere a una cantidad necesaria para un tratamiento deseable. Una cantidad óptima puede seleccionarse dependiendo del tipo de sujeto, tal como animales o seres humanos, de los síntomas a tratar, de la edad, el sexo, el peso corporal, la dieta, otros agentes farmacéuticos que se usen en combinación y diversos factores que reconocerán los especialistas en la técnica del campo médico. La cantidad eficaz también varía dependiendo del tipo o de la actividad de la albúmina. La técnica del campo médico puede determinar la cantidad eficaz sin una experimentación excesiva.

Cuando se administra por vía tópica en los ojos, la composición puede formularse, típicamente, de tal modo que se suministren 0,01-100 μg /ojo de albúmina al sujeto. La frecuencia de administración puede ser, típicamente, de 1-20 veces, especialmente de 1-10 veces al día.

En la administración sistémica, de 2 a 4 veces al día o en una administración continua, la cantidad de 0,001-500 mg/kg/día es normalmente suficiente para obtener un efecto inhibidor de la apoptosis deseable.

Los ejemplos de la forma de dosificación de la presente composición incluyen composiciones oftálmicas tales como soluciones para los ojos, colirios y pomadas para los ojos, inyecciones y pomadas, siendo preferible la forma adecuada para la administración tópica ocular. Dichas formulaciones pueden prepararse de una manera convencional.

En la preparación de la composición de una forma adecuada para la administración tópica ocular tal como colirio, la composición puede contener albúmina en la cantidad de 0,0001 mg/ml-1000 mg/ml y un diluyente farmacéuticamente aceptable si se desea.

La composición para la administración tópica ocular puede administrarse en la cantidad de 1-100 μl /ojo, preferiblemente 10-50 μl /ojo, más preferiblemente 30-50 μl /ojo. Respecto a la frecuencia de administración, puede administrarse 1-20 veces al día, especialmente 1-10 veces al día. Estas cantidades y frecuencias de administración son sólo ejemplos y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención.

De acuerdo con la presente invención, cuando se usa un factor de crecimiento celular y/o vitamina A junto con la albúmina, la dosis del factor de crecimiento celular y/o de la vitamina A puede seleccionarse adecuadamente dependiendo del tipo de sujeto, tal como animales o seres humanos, de los síntomas a tratar, de la edad, el sexo, el peso corporal, la dieta, otros agentes farmacéuticos que se usen en combinación y diversos factores que reconocerán los especialistas en la técnica del campo médico. Por ejemplo, en una preparación de colirio tópica, la cantidad de factor de crecimiento celular puede ser de 0,0001-1000 μg /ml, preferiblemente de 0,0005-100 μg /ml, más preferiblemente de 0,001-10 μg /ml. La cantidad de vitamina A puede ser de 0,001-1000 μg /ml.

Como se usa en este documento, el “diluyente farmacéuticamente aceptable” puede ser cualquier diluyente que se usa para formulaciones oftálmicas conocido por los especialistas en la técnica. Los ejemplos de dichos diluyentes incluyen agua, solución salina fisiológica y solución de lágrimas artificiales.

La composición puede comprender además aditivos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de dichos aditivos incluyen excipientes, diluyentes, expansores, disolventes, lubricantes, adyuvantes, aglutinantes, disgregantes, agentes de recubrimiento, bases de pomada, emulsionantes, dispersantes, agentes de suspensión, espesantes, agentes isotónicos, tampones, agentes suavizantes, conservantes, antioxidantes, correctivos, aromatizantes, colorantes, agentes funcionales (por ejemplo, ciclodextrina y polímero biodegradable), estabilizantes, modificantes del pH y agentes quelantes. Los detalles de estos aditivos pueden obtenerse en libros generales de referencia sobre la fabricación de composiciones farmacéuticas.

Los sujetos a tratar con la composición son los que tienen diversas enfermedades y afecciones que implican o están asociadas con la apoptosis. Las enfermedades o afecciones son la retinopatía fótica inducida por luz y el trastorno de la superficie ocular de la córnea y de la conjuntiva.

El sujeto que tiene o que se espera que tenga una apoptosis aumentada puede incluir a los que realmente sufren una apoptosis aumentada así como a los que tienen o se espera que tengan las enfermedades o afecciones anteriores.

La presente invención se explicará con más detalle con respecto a los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

5 Método

La línea celular epitelial conjuntival CCL-20.2 (obtenida de la Colección Americana de Cultivos Tipo) se incubó en medio 199 (Gibco) que contenía suero hasta una confluencia del 60-70%. Las células se lavaron con un medio sin suero y se resuspendieron en medio 199 sin suero que contenía albúmina 1 mg/ml o en medio 199 sin suero que no contenía albúmina. Después, las células se incubaron durante 24 horas y se recogieron.

Se determinó la actividad de la caspasa-3 en las células recogidas. Las células se lisaron en una solución de tampón (HEPES 50 mM, ditioneitol 1 mM y EDTA 0,1 mM (pH 7,4)) que contenía CHAPS al 0,1% (ácido 3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-2-hidroxi-1-propanosulfónico) y se centrifugaron para recoger el sobrenadante. La actividad de la caspasa en el sobrenadante se determinó con sustrato fluorescente 0,1 mM (Z-DEVD-AFC) por medio de una medición de la intensidad de fluorescencia (em: 505 nm, ex: 400 nm) (n = 4).

La fragmentación del ADN se determinó con el Cell Death Detection ELISAPLUS (Roche Diagnostics Corporation, Basel, Suiza). Se lisaron 2×10^4 células con 0,1 ml de solución tamponante y se centrifugaron para recoger el sobrenadante. Se añadieron a una placa recubierta con estreptavidina el sobrenadante obtenido, así como los controles positivos y de fondo, respectivamente, en una cantidad de 20 μ l cada uno. Después de añadir 80 μ l a cada placa de un reactivo inmunológico (tampón de incubación: antihistona-biotina: anti-ADN-POD = 18:1:1), se recubrió con una película y se agitó a 300 rpm durante 2 horas a temperatura ambiente. Después, la placa se lavó 3 veces con 250-300 μ l de tampón de incubación. Después de añadir 100 μ l de solución de sustrato (ABTS) a la placa, se agitó 250 rpm durante 10-20 minutos a temperatura ambiente. La medición fue de 405 nm (longitud de onda de referencia 492 nm) (n = 4).

Resultado

La Tabla 1 muestra la actividad de la caspasa-3. Cuanto menor la actividad de la caspasa-3, más se inhibía la apoptosis. La Tabla 2 muestra la fragmentación del ADN.

TABLA 1

Actividad de la caspasa-3

	Actividad de la caspasa-3 (nmol/h/mg de proteína) media $\pm$ D.T.
Grupo de control (sin albúmina)	0,744 $\pm$ 0,246
Grupo de ensayo (con albúmina)	0,510 $\pm$ 0,191

TABLA 2

Fragmentación del ADN

	Fragmentación del ADN media $\pm$ D.T.
Grupo de control (sin albúmina)	0,111 $\pm$ 0,018
Grupo de ensayo (con albúmina)	0,096 $\pm$ 0,047

Tanto la actividad de la caspasa-3 como la fragmentación del ADN del grupo de ensayo fueron menores que las del grupo de control. En otras palabras, los resultados que se muestran en las Tablas 1 y 2 demuestran una correlación entre la actividad de la caspasa-3, que se considera que es un índice de la apoptosis, y la fragmentación del ADN, que representa la existencia real de apoptosis.

Estos resultados pusieron de manifiesto que la composición que comprende albúmina como ingrediente activo de la misma inhibía la apoptosis.

Ejemplo 2

(Ejemplo comparativo)

5 *Método*

La línea celular epitelial conjuntival CCL-20.2 (obtenida de la Colección Americana de Cultivos Tipo) se incubó en medio 199 (Gibco) que contenía suero hasta una confluencia del 70-80%. Las células se lavaron con medio sin suero y se resuspendieron en medio 199 sin suero que contenía albúmina 3 mg/ml; albúmina 3 mg/ml + EGF 10 ng/ml; albúmina 3 mg/ml + vitamina A 0,1 μ g/ml; o albúmina 3 mg/ml + EGF 10 ng/ml + vitamina A 0,1 μ g/ml. El grupo de control se resuspendió en medio 199 sin suero que no contenía ninguno de estos ingredientes. Las células se incubaron durante 24 horas y se recogieron.

Se midió la actividad de la caspasa-3 en las células recogidas. Las células se lisaron en una solución de tampón (HEPES 50 mM, ditiotritol 1 mM y EDTA 0,1 mM (pH 7,4)) que contenía CHAPS al 0,1% (ácido 3-[(3-colamido)propil]dimetilamonio]-2-hidroxi-1-propanosulfónico) y se centrifugaron para recoger el sobrenadante. La actividad de la caspasa en el sobrenadante se determinó con sustrato fluorescente 0,1 mM (Z-DEVD-AFC) por medio de una medición de la intensidad de fluorescencia (em: 505 nm, ex: 400 nm) (n = 3).

20 *Resultado*

Los resultados se muestran en la Figura 1. Cuanto menor la actividad de la caspasa-3, más se inhibía la apoptosis.

Las actividades de la caspasa en los grupos de ensayo (albúmina, albúmina + EGF (A + E), albúmina + vitamina A (A + Va) y albúmina + EGF + vitamina A (A + E + Va)) fueron significativamente menores que la del grupo de control.

En comparación con el grupo que sólo usaba albúmina, la actividad de la caspasa-3 en los grupos que usaban ingredientes combinados (albúmina + EGF, albúmina + vitamina A y albúmina + EGF + vitamina A) fue significativamente menor.

Ejemplo 3

35 *Método*

La línea celular epitelial conjuntival CCL-20.2 (obtenida de la Colección Americana de Cultivos Tipo) se incubó en medio 199 (Gibco) que contenía suero hasta una confluencia del 70-80%. Las células se lavaron con medio sin suero y después se resuspendieron en medio 199 sin suero que contenía albúmina 1 mg/ml, albúmina 1 mg/ml + TGF α 10 ng/ml o albúmina 1 mg/ml + TGF β 10 ng/ml. El grupo de control se resuspendió en medio 199 sin suero que no contenía ninguno de estos ingredientes. Las células se incubaron durante 24 horas y se recogieron.

Se midió la actividad de la caspasa-3 en las células recogidas. Las células se lisaron en una solución de tampón (HEPES 50 mM, ditiotritol 1 mM y EDTA 0,1 mM (pH 7,4)) que contenía CHAPS al 0,1% (ácido 3-[(3-colamido)propil]dimetilamonio]-2-hidroxi-1-propanosulfónico) y se centrifugaron para recoger el sobrenadante. La actividad de la caspasa en el sobrenadante se determinó con sustrato fluorescente 0,1 mM (Z-DEVD-AFC) por medio de una medición de la intensidad de fluorescencia (em: 505 nm; ex: 400nm) (n = 3). Los resultados se muestran en la Figura 2.

La Figura 2 muestra la actividad de la caspasa-3. Cuanto menor la actividad de la caspasa-3, más se inhibía la apoptosis.

La actividad de la caspasa 3 de los grupos de ensayo (albúmina, albúmina + TGF α y albúmina + TGF β) fue significativamente menor que la del grupo de control.

En comparación con el grupo que sólo usaba albúmina, la actividad de la caspasa-3 en los grupos que usaban ingredientes combinados (albúmina + TGF α y albúmina + TGF β) fue significativamente menor.

Ejemplo 4

60 *Método*

La línea celular epitelial conjuntival CCL-20.2 (obtenida de la Colección Americana de Cultivos Tipo) se incubó en medio 199 (Gibco) que contenía suero hasta una confluencia del 70-80%. Las células se lavaron con medio sin suero y después se resuspendieron en medio 199 sin suero que contenía albúmina 1 mg/ml, albúmina 1 mg/ml + bFGF 5 ng/ml, albúmina 1 mg/ml + HGF 50 ng/ml, albúmina 1 mg/ml + IGF 10 ng/ml, albúmina 1 mg/ml + PDGF 10 ng/ml o albúmina 1 mg/ml + NGF 50 ng/ml. Las células se incubaron durante 24 horas y se recogieron.

ES 2 300 398 T3

Se midió la actividad de la caspasa-3 en las células recogidas. Las células se lisaron en una solución de tampón (HEPES 50 mM, ditioneitol 1 mM, y EDTA 0,1 mM (pH 7,4)) que contenía CHAPS al 0,1% (ácido 3-[(3-colamido)propil]dimetilamonio]-2-hidroxi-1-propanosulfónico) y se centrifugaron para recoger el sobrenadante. La actividad de la caspasa se determinó en el sobrenadante con sustrato fluorescente 0,1 mM (Z-DEVD-AFC) por medio de una medición de la intensidad de fluorescencia (em: 505 nm, ex: 400nm) (n = 3). Los resultados se muestran en la Figuras 3, 4 y 5.

Resultados

Las Figuras 3, 4 y 5 muestran la actividad de la caspasa-3. Cuanto menor la actividad de la caspasa-3, más se inhibía la apoptosis.

En comparación con el grupo que sólo usaba albúmina, las actividades de la caspasa-3 en los grupos que usaban ingredientes combinados (albúmina + bFGF (A + F), albúmina + HGF (A + H), albúmina + IGF (A + I), albúmina + PDGF (A + P) y albúmina + NGF (A + N)) fueron significativamente menores.

Estos resultados indican que la albúmina tiene una acción inhibidora de la apoptosis y que la actividad inhibidora de la apoptosis de la albúmina puede aumentarse cuando se usa junto con un factor de crecimiento celular y/o vitamina A.

REIVINDICACIONES

1. Uso de albúmina junto con un factor de crecimiento celular seleccionado de entre el factor de crecimiento transformante α o β , el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento de hepatocitos, el factor de crecimiento de tipo insulina, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento nervioso y/o vitamina A como el único ingrediente farmacéuticamente activo para la fabricación de una composición farmacéutica para tratar una retinopatía fótica inducida por luz o un trastorno de la superficie ocular que sea un trastorno de la córnea y/o de la conjuntiva.

2. Uso de la reivindicación 1, en el que la albúmina es una albúmina de origen humano.

3. Uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que la albúmina es una albúmina recombinante genética.

4. Uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la composición se administra por vía tópica en los ojos.

Fig. 1

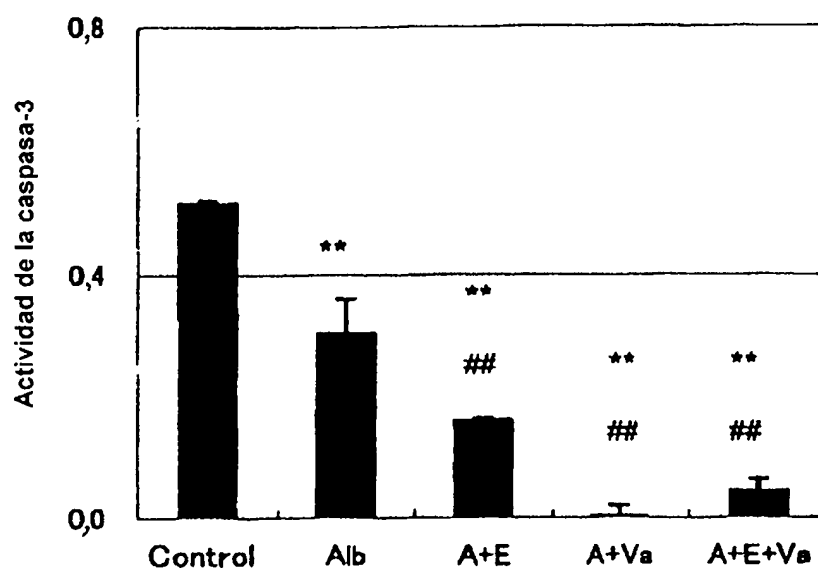


Fig. 1 Actividad de la caspasa-3

****** $p < 0,01$: Comparación con el grupo de control (ensayo de Tukey-Kramer)

$p < 0,01$: Comparación con el grupo que recibe albúmina (ensayo de Tukey-Kramer)

Fig. 2

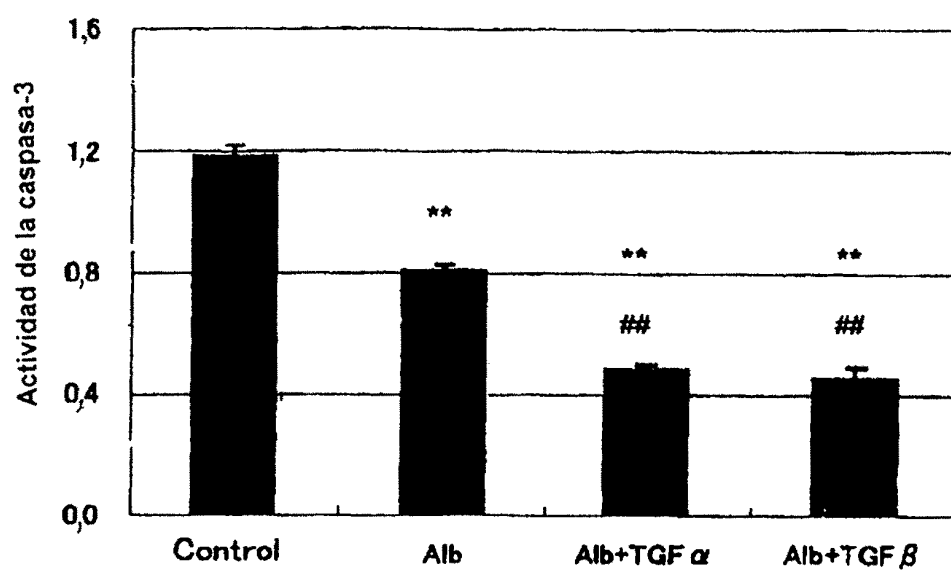


Fig. 2 Actividad de la caspasa-3

** $p < 0,01$: Comparación con el grupo de control (ensayo de Tukey-Kramer)

$p < 0,01$: Comparación con el grupo que recibe albúmina (ensayo de Tukey-Kramer)

Fig. 3

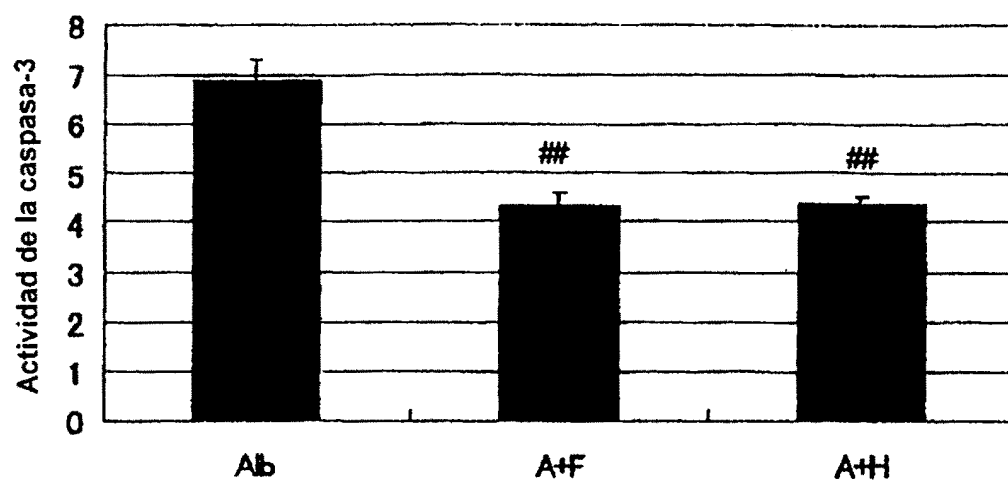


Fig3 Actividad de la caspasa-3

$p < 0,01$: Comparación con el grupo que recibe albúmina (ensayo de Tukey-Kramer)

Fig. 4

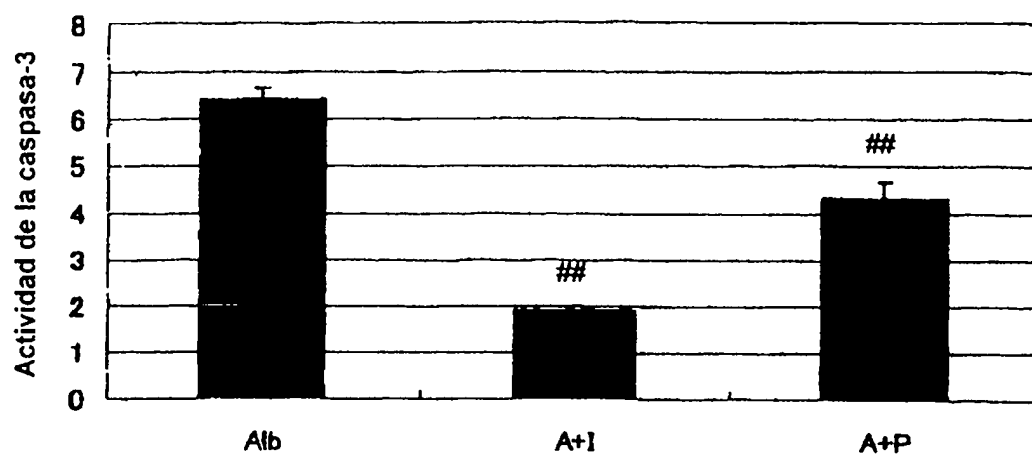


Fig.4 Actividad de la caspasa-3

$p < 0,01$: Comparación con el grupo que recibe albúmina (ensayo de Tukey-Kramer)

Fig. 5

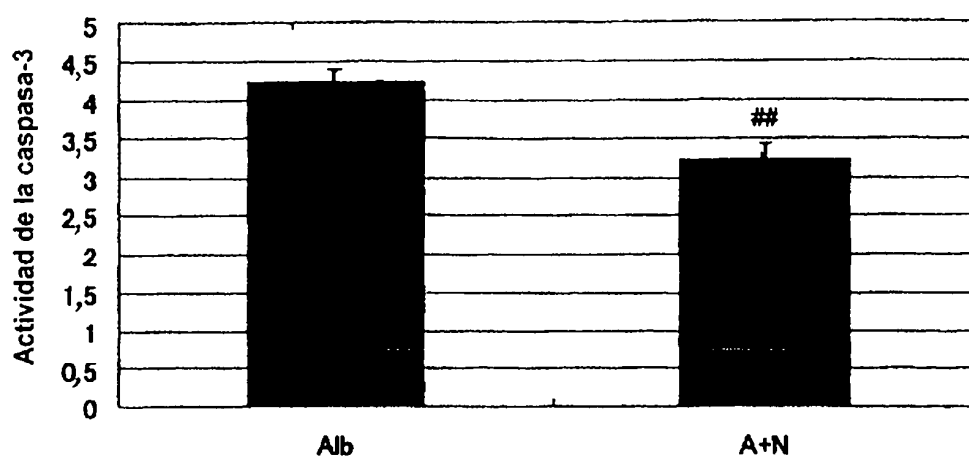


Fig.5 Actividad de la caspasa-3

$p < 0,01$: Comparación con el grupo que recibe albúmina (ensayo de Tukey-Kramer)