



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 773 079**

⑮ Int. Cl.:

A61K 38/22 (2006.01)
A61K 31/573 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.02.2011 PCT/US2011/023917**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **11.08.2011 WO11097571**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.02.2011 E 11740491 (3)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2019 EP 2533799**

⑮ Título: **Métodos para el uso de progestágeno como sensibilizador de glucocorticoides**

⑩ Prioridad:

**07.02.2011 US 201113021950
08.02.2010 US 302325 P**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.07.2020

⑮ Titular/es:

**SHENZHEN EVERGREEN THERAPEUTICS CO., LTD. (100.0%)
62 Guimiao Road, Shuntian Tower, Suite 14A
Shenzhen, Guangdong Province, CN**

⑮ Inventor/es:

DU, TAO, TOM

⑮ Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 773 079 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

Métodos para el uso de progestágeno como sensibilizador de glucocorticoides

5 **Campo de la invención**

La insensibilidad a los glucocorticoides presenta un profundo problema de gestión en enfermedades/estados tratados con glucocorticoides porque la terapia no es eficaz. La presente invención se refiere a métodos y kits para su uso en la administración de progestágeno como sensibilizador de glucocorticoides para restaurar la sensibilidad a los corticosteroides o revertir la insensibilidad a los glucocorticoides o potenciar la sensibilidad a los glucocorticoides, con el fin de tratar una o más enfermedades o estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides. Por ejemplo, la presente invención se refiere al uso de composiciones y kits en métodos para revertir la insensibilidad a los glucocorticoides en un sujeto que no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual o alergia a hormonas propias, en particular a la progesterona, tal como deterioro premenstrual o perimenstrual de los síntomas, por ejemplo, empeoramiento premenstrual de dermatitis atópica o exacerbaciones premenstruales de asma, y que presenta respuestas relativa o totalmente refractarias a la terapia con glucocorticoides, por ejemplo, resistencia a glucocorticoides. Las composiciones y kits de la presente invención proporcionan la administración de una hormona sexual al sujeto que es dependiente de corticosteroides o resistente a los corticoides o no responde o es intolerante a los corticosteroides.

20 **Antecedentes de la invención**

Los glucocorticoides son el tratamiento de primera línea para diversas enfermedades inmunoinflamatorias y alérgicas. Por ejemplo, las enfermedades autoinmunitarias incluyen más de 70 trastornos crónicos que afectan a 25 aproximadamente el 5% de la población estadounidense, e incluyen aquellos que se producen lo más a menudo en mujeres (> 80%) tal como síndrome de Sjogren, LES, enfermedad tiroidea autoinmunitaria (tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves) y esclerodermia, o relativamente comunes entre las mujeres (60-75%) tales como artritis reumatoide (AR), esclerosis múltiple (EM) y miastenia grave; o aquellos que se producen en una razón mujer:hombre similar, tales como sarcoides y enfermedades inflamatorias del intestino. La insensibilidad a los glucocorticoides 30 presenta un profundo problema de gestión en aquellas enfermedades/trastornos tratados con esteroides, del veinte al cuarenta por ciento de los pacientes no pueden lograr el control de la enfermedad. La insensibilidad a los glucocorticoides puede presentarse como relativa o totalmente refractaria a la terapia con glucocorticoides; que no responde o es intolerante a los corticosteroides; que no responde a una dosis adecuada de inducción de corticosteroides; que responde inicialmente a los corticosteroides, pero que recae rápidamente tras la retirada de los 35 fármacos o al disminuir la dosis (dependiente de corticosteroides); resistente a los corticoides, por ejemplo, requiere un tratamiento de dosis muy altas; o estado "difícil de tratar" o grave. Por ejemplo, el 20-30% de los pacientes con enfermedad de Crohn grave y resistente a los esteroides no responderá a la terapia con esteroides (Michetti P, Mottet C, Juillerat P, Felley C, Vader J-P, Burnand B, Gonvers J-J, Froehlich F: Severe and Steroid-Resistant Crohn's 40 Disease. *Digestion* 2005; 71:19-25).

Las enfermedades/estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides pueden incluir: enfermedad inflamatoria del intestino refractaria, tal como colitis ulcerosa refractaria y niños con enfermedad de Crohn grave, asma refractaria a corticosteroides o asma resistente a glucocorticoides o asma dependiente a corticosteroides sintomática, neumonía intersticial descamativa, refractaria a corticosteroides, miopatías inflamatorias refractarias, miastenia grave 45 refractaria, pénfigo vulgar refractario, pacientes con AR refractaria a metotrexato, síndrome nefrótico refractario en adultos, lupus eritematoso sistémico (LES) dependiente de corticosteroides, síndrome de Sjogren primario, vasculitis sistémica y polimiositis, enfermedad de injerto contra huésped crónica, esclerosis múltiple dependiente de o refractaria a corticosteroides, enfermedad similar a esprue refractaria, sarcoidosis resistente a esteroides, lesiones mucosas refractarias de pénfigo vulgar, síndrome de Schnitzler refractario, dermatitis resistente de la cabeza y el cuello, 50 dermatitis atópica refractaria grave, púrpura trombocitopénica idiopática refractaria, miositis orbitaria refractaria, linfomas refractarios o recurrentes, pacientes críticamente enfermos con septicemia o síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) o insuficiencia suprarrenal relativa, estados dependientes de corticosteroides (por ejemplo, rosácea, polimialgia reumática, arteritis de células gigantes; polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Kawasaki, síndrome de Guillain-Barre, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motora multifocal, 55 síndrome de hombre rígido, etc.,). La insensibilidad a los glucocorticoides tiene graves costes sanitarios, sociales y económicos. Por ejemplo, un pequeño porcentaje de pacientes con asma (5-10%) tiene un estado refractario a corticosteroides grave que a menudo no pueden responder, pero estos pacientes representan >50% del total de los costes de atención sanitaria para el asma.

60 Los glucocorticoides suprimen la inflamación principalmente como resultado de tanto la activación de genes antiinflamatorios como la supresión de genes proinflamatorios. La activación de la expresión de genes antiinflamatorios comienza cuando el glucocorticoide se une al receptor citosólico de glucocorticoides (GR), que se activa y se transloca al núcleo. Una vez en el núcleo, se une a elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) y moléculas coactivadoras transcripcionales, y provoca la acetilación de las histonas centrales, lo que conduce a la expresión de genes antiinflamatorios. Los estímulos inflamatorios activan múltiples genes inflamatorios que codifican para citocinas, 65 quimiocinas, moléculas de adhesión, enzimas inflamatorias y receptores por medio de factores de transcripción

proinflamatorios, tales como el factor nuclear κB (NFκB) y la proteína activadora 1, y el reclutamiento de moléculas corepresoras. Los receptores de glucocorticoides activados se unen a los coactivadores en el núcleo inhibiendo la actividad de la histona acetiltransferasa (HAT) directamente y reclutando histona desacetilasa 2 (HDAC2), lo que conduce a la supresión de los genes inflamatorios activados.

- 5 Se han reconocido varios posibles mecanismos moleculares de resistencia a los glucocorticoides, e incluyen susceptibilidad genética, falta de o unión defectuosa a GR y translocación, reducción de la expresión de GR, falta de actividad corepresora o activación potenciada de vías inflamatorias. Por ejemplo, los receptores de glucocorticoides podrían fosforilarse por varias cinasas (por ejemplo, proteína cinasa activada por mitógeno p38, cinasa c-Jun N-terminal y cinasa extracelular regulada por señal) lo que da como resultado unión defectuosa, alteraciones en su estabilidad, translocación al núcleo, unión al ADN e interacción con otras proteínas. La activación excesiva de la proteína 1 activadora de factores de transcripción puede prevenir la unión de los GR a los elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) o la inhibición del factor nuclear κB; el óxido nítrico (NO) puede nitrar residuos de tirosina en los GR; los GR también pueden ubiquitinarse (Ub), lo que da como resultado la degradación de GR por el proteasoma; expresión reducida de histona desacetilasa-2 (HDAC2), factor inhibidor de la migración de macrófagos elevado y aumento del flujo de salida de fármaco mediado por glicoproteína P (Peter J Barnes, Ian M Adcock. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. Lancet 2009; 373:1905-17).
- 10 Los mecanismos clínicos y biológicos de la dependencia de esteroides no se entienden bien en comparación con los que determinan la resistencia a esteroides. La dependencia de esteroides y la resistencia a esteroides pueden compartir algunos mecanismos intrínsecos comunes, mientras que otros mecanismos son simplemente clínicos o farmacológicos.
- 15 20 Se han hecho muchos intentos para mejorar los efectos de la insensibilidad a los glucocorticoides. Un enfoque común es utilizar tratamientos antiinflamatorios de amplio espectro, tales como agentes inmunosupresores o inmunomoduladores (por ejemplo, ciclosporina, metotrexato, oro, 6-mercaptopurina, productos biológicos tales como inmunoglobulina intravenosa y Mepolizumab), e inhibidores de calcineurina (por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus). Se han propuesto o desarrollado varios enfoques para revertir la resistencia a los glucocorticoides, tales como inhibidores de p38 MAP cinasa, inhibidores de JNK (disminución de 5 API), vitamina D en asma resistente a esteroides (aumento de células T reguladoras), inhibidores de MIF, activadores de histona desacetilasa-2, teofilina, inhibidores de fosfoinosítido-3-cinasa-8, antioxidantes, inhibidores de iNOS e inhibidores de glicoproteína P. El uso de progestágeno para revertir la insensibilidad a los glucocorticoides no se ha comentado ni presentado en ninguna parte, y la presente invención representa un avance significativo, sorprendente e inesperado en la técnica.
- 25 30 35 40 45 50 55 60 65
- 30 Los diferentes enfoques para el manejo de la insensibilidad a los glucocorticoides han tenido un éxito limitado. Algunos agentes pueden funcionar en un estado, pero no otros. El metotrexato es eficaz para la artritis reumatoide, pero podría ser ineficaz en casos de enfermedad inflamatoria del intestino resistente a glucocorticoides provocada por el aumento de la expresión de glicoproteína P.
- 35 De manera similar, los inhibidores de calcineurina son útiles en algunos pacientes con enfermedad inflamatoria del intestino resistente a glucocorticoides, pero no han demostrado ser eficaces en asma resistente a glucocorticoides. Además, los usos de esos agentes a menudo se asocian con acontecimientos adversos significativos. En un alto porcentaje de pacientes (60-70%) puede fallar el tratamiento con metotrexato debido a los efectos secundarios. Los inhibidores de fosfodiesterasa-4 para EPOC y estados inflamatorios tienen efectos secundarios limitantes de la dosis de náuseas, diarrea y cefaleas. La toxicidad y los efectos secundarios significativos han obstaculizado los programas de desarrollo de fármacos para inhibidores de p38 MAP-cinasa e inhibidores selectivos para bloquear la inhibición de NFκB cinasa (IKK) /NFκB (Peter J Barnes, Ian M Adcock. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. Lancet 2009; 373:1905-17).
- 40 Dado que una proporción considerable de pacientes con enfermedades autoinmunes, alérgicas y linfoproliferativas son refractarios a la terapia con glucocorticoides, así como muchas enfermedades inflamatorias diferentes comparten mecanismos moleculares similares en la insensibilidad a los glucocorticoides, existe una necesidad hasta ahora insatisfecha en la técnica de métodos para desarrollar una estrategia terapéutica común para revertir la insensibilidad a los esteroides. Se ha descubierto que el uso de progestágeno, según la presente invención, presenta un método sorprendente, inesperado y también practicable para ayudar a pacientes con enfermedades/estados que no responden o son intolerantes a los corticosteroides o dependientes y resistentes a los corticosteroides.
- 45 50 55 60 65
- 50 Los productos de progestágeno se han usado ampliamente en una amplia gama de enfermedades/estados reproductivos durante más de 60 años, y se sabe que tienen efectos antiinflamatorios. La mayoría de los estudios relacionados con respuestas inflamatorias se realizaron en modelos asociados a embarazo. La progesterona/PR mantiene la quiescencia uterina a través de acciones antiinflamatorias (Carole R. Mendelson. Minireview: Fetal-Maternal Hormonal Signaling in Pregnancy and Labor Molecular Endocrinology 23: 947-954, 2009). Gellersen (2009) proporcionó una revisión exhaustiva de las acciones no genómicas de la progesterona, y resumió los posibles mecanismos de los efectos antiinflamatorios de la progesterona, incluyendo que la progesterona se opone a la producción de prostaglandinas en el útero del embarazo, en parte inhibiendo la expresión de la ciclooxygenasa (COX-2); la función inmunorreguladora en linfocitos T humanos a través de la activación de la proteína G y la inhibición de

- canales de K⁺; el factor de bloqueo inducido por progesterona (PIBF) actúa sobre la enzima fosfolipasa A2, interfiere con el metabolismo del ácido araquidónico, induce una respuesta inmune sesgada a Th2 y ejerce un efecto antiabortivo controlando la actividad de NK (Gellersen B *et al.* Non-genomic progesterone actions in female reproduction Human Reproduction Update, vol. 15, n.º 1 págs. 119-138, 2009). Otra revisión de Challies (2009) sugiere otros posibles
- 5 mecanismos: la progesterona bloquea la proliferación de linfocitos estimulados por mitógenos, modula la producción de anticuerpos, disminuye la explosión oxidativa de monocitos, reduce la producción de citocinas proinflamatorias por macrófagos en respuesta a productos bacterianos y altera la secreción de citocinas de clones de células T para favorecer la producción de IL-10, regula por incremento la expresión del receptor de tipo Toll 4 (TLR-4) y suprime la respuesta de TLR-2 a la infección en tejidos intrauterinos, dando como resultado un papel protector con respecto al
- 10 parto prematuro, inhibe la expresión de metaloproteinasa de la matriz (MMP)-1 y MMP-3 basales y potenciadas por citocinas en células deciduales cultivadas demostrando protección contra el parto prematuro (Challis JR *et al.* Inflammation and Pregnancy Reproductive Sciences 2009; 16; 206). Dado que el concepto de uso de progestágeno para revertir la insensibilidad a los glucocorticoides no se ha dado a conocer, enseñado, sugerido, comentado o presentado en ninguna parte, el presente descubrimiento representa un avance significativo e inesperado en la técnica.
- 15
- La exacerbación relacionada con el ciclo menstrual de estados médicos comunes es un fenómeno bien reconocido, y puede incluir migraña, epilepsia, asma, síndrome del intestino irritable, dermatitis de progesterona autoinmunitaria y estomatitis, y diabetes. La exacerbación se ve influida por cambios hormonales del ciclo menstrual. La mayoría de estos efectos ocurren durante las fases luteína y menstrual del ciclo. Por ejemplo, el asma premenstrual indica el empeoramiento de los síntomas del asma poco antes de y/o durante la menstruación. La documentación precisa de los síntomas en un calendario menstrual permite la identificación de mujeres con alteraciones cíclicas en la actividad de la enfermedad. Las hormonas esteroides sexuales femeninas desempeñan un papel importante, pero el mecanismo exacto aún se desconoce. Existen varias teorías para explicar estos efectos relacionados con el ciclo menstrual. Estas incluyen fluctuaciones en los niveles de esteroides sexuales, alteraciones cíclicas en el sistema inmunitario, aumento de la hipersensibilidad de las vías respiratorias, percepciones cambiantes de la gravedad de la enfermedad provocadas por alteraciones premenstruales en el estado de ánimo, tal como se observa en el síndrome premenstrual, y alergia a hormonas propias, particularmente progesterona. La exacerbación relacionada con el ciclo menstrual podría mejorarse con la suplementación de progesterona [Allison M. Case y Robert L. Reid. Menstrual cycle effects on common medical conditions. Journal Comprehensive Therapy Issue, volumen 27, número 1 / marzo de 2001; Beynon
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
- HL. Severe premenstrual exacerbations of asthma: effect of intramuscular progesterone. Lancet - 13 de agosto de 1988; 2(8607): 370-2; Roby, Russell R *et al.* Sublingual progesterone dilutions as bronchodilator in asthmatic females. World Allergy Organization Journal: Noviembre de 2007 - Volumen - Número - p S148].
- La insensibilidad a los glucocorticoides a menudo se correlaciona con otros factores que se cree que contribuyen a respuestas relativa o totalmente refractarias a la terapia con glucocorticoides. Estos incluyen los diversos factores de riesgo indicados anteriormente, tales como susceptibilidad genética, anomalías en el gen del receptor de glucocorticoides, infección viral y estrés oxidativo. Por ejemplo, se sabe que el daño oxidativo en el ADN es una causa primaria del proceso de mutación y una causa principal del envejecimiento, el cáncer y otras enfermedades porque la guanina, uno de los cuatro nucleótidos básicos que constituyen el ADN y forman el código genético de la vida, es particularmente sensible al daño oxidativo, y un número predominante de mutaciones genéticas están vinculadas a la guanina. Por tanto existe la necesidad en la técnica de métodos para reducir la aparición de estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides (por ejemplo, asma refractaria, artritis reumatoide refractaria, enfermedad inflamatoria del intestino refractaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda) asociados con tales factores de riesgo.
- Se ha documentado un ritmo menstrual para las exacerbaciones del asma, que pueden tener relevancia clínica importante para el paciente con asma grave. Beynon *et al.* (1988) notificaron 3 casos de exacerbaciones premenstruales graves del asma tratados con progesterona intramuscular. Los pacientes no habían respondido al tratamiento convencional, incluyendo corticosteroides de dosis altas. En todos los casos hubo una caída premenstrualmente en la velocidad de flujo máximo. La adición de progesterona intramuscular (100 mg al día en dos casos y 600 mg dos veces a la semana en uno) al régimen eliminó las caídas premenstruales en el flujo máximo, y las dosis diarias de prednisolona se redujeron en los tres pacientes. El estudio y los resultados descritos anteriormente se describen en Beynon *et al.* (Severe premenstrual exacerbations of asthma: effect of intramuscular progesterone. Lancet - 13 de agosto de 1988; 2(8607): 370-2).
- En otro estudio, Russell R *et al* (2007) sometieron a prueba la hipótesis de que el asma premenstrual está asociada con alergia a hormonas propias, particularmente a la progesterona usando diluciones de progesterona sublingual como broncodilatador. Para el estudio se seleccionaron 16 mujeres con diagnóstico previo de asma grave y que eran dependientes de nebulización. Se realizaron estudios espirométricos en estos sujetos. El estudio mostró cambios a lo largo del tiempo en el volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV1), la capacidad vital forzada (FVC) y el flujo espiratorio máximo (PEF) medido en tres momentos: (1) antes del tratamiento, (2) después del tratamiento con solución salina normal sublingual (3) después del tratamiento con progesterona sublingual. Despues del tratamiento con progesterona sublingual, doce de las diecisésis pacientes (75%) experimentaron un efecto broncodilatador (aumento superior al 12%) en o bien FEV1 o bien FVC. Ocho (50%) experimentaron un aumento tanto en FEV1 como en FVC. Ocho (50%) tuvieron un aumento del 27% o mayor en PEF. El estudio y los resultados descritos anteriormente se describen en Russell R *et al.* (Sublingual progesterone dilutions as bronchodilator in asthmatic females. World

Allergy Organization Journal: Noviembre de 2007 - Volumen - Número - p S148.).

La activación de proteína cinasas activadas por mitógeno (MAPK) es un acontecimiento crítico en la transducción de señales mitogénicas. Ruzicky AL (1996) determinó los efectos de 17 beta-estradiol y progesterona sobre la expresión y actividad de proteína cinasa activada por mitógeno. La expresión y actividad de MAPK se examinaron en músculo liso uterino de ratas pretratadas con estradiol-17 beta sola o con estradiol-17 beta y progesterona. La expresión de MAPK se detectó mediante inmunotransferencia usando anticuerpos frente a erk1/2. La actividad de MAPK se detectó mediante la medición de la fosforilación de una secuencia peptídica específica de MAPK de proteína básica de la mielina. El tratamiento con esteroides provocó una disminución modesta (20%) en la expresión de erk 1 y 2 en las fracciones de membrana y citosólica. Tanto el estrógeno como la progesterona aumentaron la fosforilación de tirosinas por MAPK y la actividad de MAPK asociada a la membrana. El tratamiento con esteroides aumentó la fosforilación citosólica de tirosinas por MAPK, pero no la actividad enzimática. El estudio y los resultados descritos anteriormente se describen en Ruzicky AL (Effects of 17 beta-estradiol and progesterone on mitogen-activated protein kinase expression and activity in rat uterine smooth muscle. Eur J Pharmacol. 11 de abril de 1996; 300(3): 247-54).

15 Sumario de la invención

Determinadas realizaciones de la presente invención se refieren a composiciones y kits para su uso en métodos para restaurar la sensibilidad a los corticosteroides o revertir la insensibilidad a los glucocorticoides o potenciar la sensibilidad a los glucocorticoides.

Otras realizaciones de la presente invención se refieren a una composición farmacéutica que comprende una hormona esteroide para su uso en el tratamiento de un sujeto que no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, y que padece uno o más estados relacionados con insensibilidad a los glucocorticoides. Los estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides incluyen, por ejemplo, una gama de enfermedades resistentes a los corticoides y trastornos inmunoinflamatorios tratados con esteroides cuando la terapia se vuelve ineficaz o intolerante o dependiente o no responde o refractaria a los corticosteroides, y combinaciones de los mismos.

30 En una realización, una composición farmacéutica de la presente invención que comprende una hormona esteroide para su administración a un sujeto que no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, en la que el sujeto está en riesgo de desarrollar insensibilidad a los glucocorticoides debido a exposición a estrés oxidativo.

35 Aún otras realizaciones de la presente invención se refieren a usos de kits o composiciones farmacéuticas en métodos para restaurar la sensibilidad a los corticosteroides o revertir la insensibilidad a los glucocorticoides o potenciar la sensibilidad a los glucocorticoides, y tratar uno o más estados seleccionadas del grupo que consiste en enfermedades resistentes a los corticoides, trastornos inmunoinflamatorios refractarios a los corticosteroides, dependientes de corticosteroides, y combinaciones de los mismos. Determinados estados resistentes a los glucocorticoides a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, asma resistente a los glucocorticoides, artritis reumatoide refractaria, enfermedad inflamatoria del intestino refractaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda, fibrosis pulmonar intersticial y fibrosis quística. Determinados estados refractarios a los glucocorticoides a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, colitis ulcerosa refractaria, niños con enfermedad de Crohn grave, asma refractaria a corticosteroides, neumonía intersticial descamativa refractaria a corticosteroides, miopatías inflamatorias refractarias, miastenia grave refractaria, pénfigo vulgar refractario, pacientes con RA refractaria a metotrexato, síndrome nefrótico refractario, esclerosis múltiple refractaria, enfermedad similar al esprue refractaria, sarcoidosis resistente a esteroides, lesiones mucosas refractarias de pénfigo vulgar, síndrome de Schnitzler refractario, dermatitis resistente de la cabeza y cuello, dermatitis atópica refractaria grave, púrpura trombocitopenia idiopática refractaria, miositis orbitaria refractaria, linfomas refractarios o recurrentes, pacientes críticamente enfermos con septicemia o síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) e insuficiencia suprarrenal relativa. Determinados estados dependientes de glucocorticoides a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, rosácea, polimialgia reumática, artritis de células gigantes, polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Kawasaki, síndrome de Guillain-Barre, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motora multifocal, síndrome de hombre rígido, lupus eritematoso sistémico dependiente de corticosteroides, esclerosis múltiple dependiente de corticosteroides, asma sintomática dependiente de corticosteroides, síndrome de Sjogren primario, vasculitis sistémica y polimiositis, trasplantes de órganos, enfermedad de injerto contra huésped y cáncer dependiente de glucocorticoides.

60 Se dan a conocer kits que comprenden (i) una composición farmacéutica que comprende una hormona esteroide y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables; e (ii) instrucciones para administrar la composición farmacéutica a un sujeto que preferiblemente no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, y que padece uno o más estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides. Los estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides incluyen, por ejemplo, una gama de enfermedades resistentes a los corticoides y trastornos inmunoinflamatorios tratados con esteroides cuando la terapia se vuelve ineficaz o intolerante o dependiente o no responde o refractaria a los corticosteroides, y combinaciones de los mismos.

65 Además se dan a conocer kits de la presente invención que comprenden (i) una composición farmacéutica que comprende una hormona esteroide y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables; e (ii) instrucciones para

5 administrar la composición farmacéutica a un sujeto con alto riesgo de desarrollar insensibilidad a los glucocorticoides, pero preferiblemente no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, y preferiblemente está en riesgo de desarrollar uno o más estados relacionados con insensibilidad a los glucocorticoides debido a estrés oxidativo.

10 También se dan a conocer kits que comprenden (i) una composición farmacéutica que comprende una hormona esteroide y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables; e (ii) instrucciones para administrar la composición farmacéutica a un sujeto que preferiblemente no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, y en el que el sujeto padece uno o más estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides con el fin de lograr los efectos sensibilizadores a los glucocorticoides de ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis más baja de corticosteroides, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias a los corticosteroides o resistencia o exacerbaciones en respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles para el sujeto o paciente cuando se reduce o retira la administración de esteroides, o en la administración prolongada de corticosteroides, riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con corticosteroides, tales como como infecciones oportunistas y pérdida ósea, y combinaciones de los mismos.

15 Breve descripción de los dibujos

20 La figura 1 representa los niveles de IL-2 en el nivel inicial, después de la estimulación con PHA y la inhibición dependiente de la dosis de IL-2 por dexametasona.

25 La figura 2 representa que la adición de IL-2 e IL-4 induce resistencia a los esteroides.

30 La figura 3 representa los efectos de progestágeno (%Imáx) en la reversión de la resistencia a los esteroides: comparación de 17HPC, P4 y MPA bajo dexametasona a dosis baja (a continuación en el presente documento, dexametasona) (10^{-6} M).

35 La figura 4 representa los efectos de progestágeno (%Imáx) en la reversión de la resistencia a los esteroides: comparación de 17HPC, P4 y MPA bajo dexametasona a dosis alta (10^{-6} M).

40 La figura 5 representa que 17HPC restaura la sensibilidad a los corticosteroides.

45 La figura 6 representa que 17HPC revierte la resistencia a los esteroides y los patrones de respuesta individuales.

50 Los resultados representados en la figura 7 muestran que 9 de 11 sujetos tenían una mejora de más del 10% en la inhibición máxima de dexametasona después de recibir una dosis de 17HPC, lo que concuerda con los resultados presentados en la figura 6.

55 Los resultados representados en la figura 8 muestran que 6 de 8 sujetos tenían una mejora de más del 10% en la inhibición máxima de dexametasona después de recibir una dosis de progesterona natural, que es similar a 17HPC.

60 Los resultados representados en la figura 9 muestran que el tratamiento con MPA conduce a un patrón de respuesta total diferente: una respuesta "dividida". Un subgrupo tenía una gran mejora hasta el 58% 5, mientras que otro subgrupo presentó un empeoramiento de la sensibilidad a los corticosteroides, una reducción de hasta el 88%.

65 Los efectos de 17HPC sobre la sensibilidad a la dexametasona medida mediante la inhibición de IL-2 en fumadores se muestran en la tabla 1 y la figura 10.

70 La figura 10 muestra que el efecto adicional de 17HPC es la mejora de la sensibilidad a los esteroides.

75 El efecto antiinflamatorio máximo de la dexametasona es una inhibición del 78% de la producción de IL-2 inducida por la PHA a 10^{-6} M. El tratamiento 'adicional' de 17HPC produce una sensibilidad significativamente mejor y da como resultado casi el 100% de supresión de IL-2 inducida por PHA (figura 11).

80 La figura 11 representa por tanto una mejor sensibilidad al tratamiento con la adición de 17HPC.

85 La combinación de 17HPC con dexametasona aumenta de manera constante los efectos antiinflamatorios de la dexametasona, y es mejor que sus usos individualmente.

90 La figura 12 muestra que la combinación conduce a un efecto sinérgico, con mejoras del 25 -37% en la eficacia de la dexametasona.

95 La figura 12 representa por tanto los efectos sinérgicos de la combinación de 17HPC con dexametasona.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Se describen en el presente documento composiciones y kits preferidos según la presente invención que son adecuados para restaurar la sensibilidad a los corticosteroides, potenciar la sensibilidad a los glucocorticoides y/o revertir la insensibilidad a los glucocorticoides en un sujeto que experimenta dependencia a los corticosteroides o

5 resistencia a los corticoides o insensibilidad o intolerancia a los corticosteroides. Los estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides incluyen, por ejemplo, una gama de enfermedades/trastornos inmunoinflamatorios tratados con esteroides cuando la terapia no logra el control de la enfermedad o es no eficaz o intolerante o dependiente o resistente a los corticosteroides, y combinaciones de los mismos. Más específicamente, las 10 10 composiciones y kits de la presente invención son eficaces para lograr los efectos sensibilizadores de glucocorticoides de ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis más baja de corticosteroides, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias a corticosteroides o resistencia o exacerbaciones en respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más 15 15 fáciles para el sujeto o paciente cuando se reduce o retira la administración de esteroides, o en la administración prolongada de corticosteroides, riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides, tales como infecciones oportunistas y pérdida ósea, y combinaciones de los mismos. Más específicamente, los estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides incluyen diversos 20 20 estados/trastornos asociados con y/o atribuidos a la resistencia a los glucocorticoides, respuestas refractarias a los glucocorticoides, dependencia de corticosteroides e intolerancia a los corticosteroides. Un factor de riesgo primario en el desarrollo de insensibilidad a los glucocorticoides es el estrés oxidativo.

A pesar de las graves consecuencias de la insensibilidad a los glucocorticoides, ha habido un éxito limitado en el

25 25 tratamiento de sujetos que padecen diversos estados/trastornos asociados con y/o atribuidos a la resistencia a los glucocorticoides, respuestas refractarias a los glucocorticoides, dependencia de corticosteroides e intolerancia a los corticosteroides. Los inhibidores de la calcineurina y el metotrexato pueden ser útiles en algunos estados seleccionados, pero no han demostrado ser eficaces en la mayoría de los estados relacionados con la insensibilidad 30 30 a los glucocorticoides. Además existen acontecimientos adversos significativos asociados con sus usos. La toxicidad y los efectos secundarios significativos también han obstaculizado los programas de desarrollo de fármacos para inhibidores de p38 MAP-cinasa, inhibidores selectivos para bloquear la inhibición de NFKB cinasa e inhibidores de fosfodiesterasa-4. La mayoría de los trastornos de insensibilidad a los glucocorticoides no tienen ninguna asociación 35 35 con el ciclo menstrual, y la mayoría de los sujetos que padecen trastornos de insensibilidad a los glucocorticoides no experimentan exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, incluyendo alergia a la progesterona. Ventajosamente, según la presente invención, se cree que las composiciones y los kits para su uso en los métodos detallados en el presente documento restauran significativamente la sensibilidad a los corticosteroides en un sujeto que no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual. Se ha determinado sorprendentemente que las 40 40 composiciones y los kits para su uso en los tratamientos y métodos de la presente invención revierten la insensibilidad a los glucocorticoides y/o potencian la sensibilidad a los glucocorticoides en sujetos que padecen al menos un estado/trastorno asociado con y/o atribuido a resistencia a los glucocorticoides, respuestas refractarias a los glucocorticoides, dependencia de corticosteroides e intolerancia a los corticosteroides. Por tanto, las composiciones y los kits para su uso en los métodos de la presente invención son adecuados para lograr los efectos sensibilizadores de glucocorticoides de ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, una mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis menor de corticosteroides, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias a los corticosteroides o resistencia o exacerbaciones en 45 45 respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles cuando la administración de esteroides se reduce o retira, o en administración prolongada de corticosteroides y riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides, tales como infecciones oportunistas y pérdida ósea. Preferiblemente, las composiciones y los kits para su uso en los métodos de la presente invención son adecuados para negar sustancialmente el efecto de al menos un factor de riesgo 50 50 o mecanismo subyacente asociado a la insensibilidad a los glucocorticoides. Por tanto, diversas realizaciones de la presente invención se refieren a composiciones y kits para su uso en métodos para revertir la insensibilidad a los glucocorticoides en un sujeto que no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual y que padece uno o más estados relacionados con insensibilidad a los glucocorticoides. En estas y otras diversas realizaciones, el sujeto que va a tratarse es masculino o femenino, y de cualquier edad. Otras diversas realizaciones 55 55 se refieren a composiciones y kits para su uso en el tratamiento de sujetos que o bien tienen sus primeros ataques o bien ya han experimentado ataques repetidos de la enfermedad sin exacerbación relacionada con el ciclo menstrual.

Aunque la progesterona tiene propiedades antiinflamatorias, los ensayos de progesterona para trastornos inflamatorios tales como artritis reumatoide han fallado generalmente en demostrar un método eficaz y reproducible para el control de los síntomas o mejores desenlaces clínicos. Los sujetos que presentan una respuesta resistente o

60 60 refractaria a los glucocorticoides son un subconjunto de la población de la enfermedad, pero una subpoblación bien definida, "difícil de tratar". Por ejemplo, el 2030% de los pacientes con enfermedad de Crohn grave y resistente a los esteroides no responderá a la terapia con esteroides. Uno de los objetivos preferidos de la presente invención es usar progesterona para el tratamiento de un estado resistente o refractario a los glucocorticoides demostrado por el ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis inferior de corticosteroides, prevención de individuos en riesgo de desarrollar

5 respuestas refractarias o resistencia o exacerbaciones en respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles para el sujeto cuando se reduce o retira la administración de esteroides, o en o después de la administración prolongada de corticosteroides, riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides tales como infecciones oportunistas y pérdida ósea, y combinaciones de los mismos. Además, la activación de MAPK es un acontecimiento crítico que conduce a la insensibilidad a los corticosteroides. Se ha notificado que la progesterona aumenta la actividad de MAPK (Ruzicka AL. Effects of 17 beta-estradiol and progesterone on mitogen activated protein kinase expression and activity in rat uterine smooth muscle. Eur J Pharmacol. 11 de abril de 1996; 300(3):247-54). Sin querer restringirse a una teoría particular, actualmente se cree que un experto en la técnica esperaría que la activación de MAPK induzca 10 una pérdida de translocación y función nuclear de GR, conduciendo al desarrollo de estados relacionados con la insensibilidad a los corticosteroides. Una vez más, sin querer restringirse a una teoría particular, se cree además actualmente que un experto en la técnica esperaría que el aumento de MAPK por progesterona agravaría la insensibilidad a los corticosteroides. Sin embargo, según la presente invención, se ha descubierto sorprendente e 15 inesperadamente que los efectos moleculares del aumento de MAPK por la progesterona no interfieren con la eficacia de la progesterona en el tratamiento de un estado resistente o refractario a los glucocorticoides. Se ha descubierto además sorprendente e inesperadamente que la administración de progesterona tal como caproato de 17alpha12 hidroxiprogesterona (17-HPC) a un sujeto con un estado resistente o refractario a glucocorticoides o dependiente de corticosteroides logra los efectos sensibilizadores de glucocorticoides tales como ahorro de esteroides. Por tanto, 20 según la presente invención, actualmente se cree que la administración de progesterona (por ejemplo, 17-HPC) puede restaurar significativamente la sensibilidad a los corticosteroides, potenciar la sensibilidad a los glucocorticoides y/o revertir la insensibilidad a los glucocorticoides.

25 En comparación con el uso de progesterona para sus efectos antiinflamatorios, el presente descubrimiento ha identificado sorprendentemente una nueva función del progestágeno y sus usos, es decir, revertir la insensibilidad a los corticosteroides, e identifica claramente una población de pacientes bien definida que se beneficiaría del tratamiento, es decir, pacientes que presentan resistencia a los corticosteroides, dependencia de corticosteroides, respuestas refractarias a los corticosteroides y/o intolerancia a los corticosteroides. Dado que la mayoría de los 30 estados relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides se producen en sujetos que no tienen antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, el presente descubrimiento también representa un avance significativo en la técnica.

Definiciones

35 Tal como se indica, los glucocorticoides siguen siendo el tratamiento de primera línea para una gama de enfermedades inmunitarias/inflamatorias y alérgicas. Sin embargo, el 30% de los pacientes no logran el control de la enfermedad a dosis sistémicas tolerables y continúan teniendo una respuesta inmunitaria aumentada con malos resultados clínicos. La insensibilidad a los glucocorticoides es un factor importante en la patogénesis y el pronóstico de muchas enfermedades. Presenta considerables problemas de gestión y cargas de costes para los servicios de salud. Tal como se usa en el presente documento, el término "insensibilidad a los glucocorticoides" pretende incluir, pero no se limita 40 a, la resistencia a los corticosteroides, la dependencia de corticosteroides, las respuestas refractarias a los corticosteroides, la intolerancia a los corticosteroides y otros tipos de ineficacia de los corticosteroides. Se ha reconocido que varios mecanismos moleculares distintos contribuyen a los efectos antiinflamatorios disminuidos de los glucocorticoides. Diferentes enfermedades inflamatorias pueden compartir mecanismos moleculares similares, y una sola enfermedad puede tener una heterogeneidad de mecanismos.

45 45 La resistencia a los corticosteroides para los efectos antiinflamatorios de los corticosteroides se define como la ausencia de mejora clínica tras el tratamiento con glucocorticoides de dosis altas.

50 La dependencia de corticosteroides se define como un estado que inicialmente responde a los corticosteroides, pero que experimenta recaída rápidamente tras la retirada del fármaco o al disminuir la dosis.

55 La respuesta refractaria a los corticosteroides se define como un estado que no responde a una dosis de inducción adecuada de corticosteroides. Incluye respuestas relativa o totalmente refractarias a la terapia con glucocorticoides, y a menudo necesita controlarse mediante un tratamiento de adición.

60 Otros tipos de ineficacia de corticosteroides incluyen la necesidad de un tratamiento de dosis muy altas, "difícil de tratar" y "no responden bien" o casos graves, y sensibilidad alterada *in vitro* e *in vivo*.

65 La intolerancia a los corticosteroides se define como la toxicidad de la terapia y/o riesgos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides, tales como infecciones oportunistas y pérdida ósea.

El sensibilizador de glucocorticoides se define como un producto y agente farmacéutico que tiene una función en la restauración de la sensibilidad a los corticosteroides, la potenciación de la sensibilidad a los glucocorticoides, la reversión de la insensibilidad a los glucocorticoides y la protección contra la pérdida de sensibilidad a los glucocorticoides, y se usa para tratar, prevenir o mejorar uno o más de los síntomas de enfermedades o trastornos asociados con la insensibilidad a los glucocorticoides (por ejemplo, dependientes de corticosteroides o resistentes a

los corticoides o insensibles o intolerantes a los corticosteroides). Los efectos terapéuticos del uso de un sensibilizador de glucocorticoides incluyen cualquiera, pero no se limitan a, ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis inferior de corticosteroides, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias o resistencia o exacerbaciones en respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles para el sujeto o paciente cuando la administración de esteroides disminuye o se retira, o después de una administración prolongada de corticosteroides, riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides tales como infecciones oportunistas, pérdida ósea, fractura patológica, diabetes, cataratas y combinaciones de los mismos.

5 Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratar" o "tratamiento" abarcan cualquiera o ambas medidas de respuesta y profilácticas, por ejemplo, diseñadas para inhibir o retrasar la aparición de la enfermedad o el trastorno, lograr una reducción total o parcial de los síntomas o el estado patológico y/o aliviar, mejorar, disminuir o curar la enfermedad o el trastorno y/o sus síntomas. El tratamiento abarca también cualquier uso farmacéutico de las 10 composiciones de la presente invención, tal como el uso para tratar una enfermedad o trastorno o estado relacionado con la insensibilidad a los glucocorticoides. La mejora de los síntomas de un trastorno particular mediante la administración de un compuesto o composición farmacéutica particular de la presente invención se refiere a cualquier disminución, ya sea permanente o temporal, duradera o transitoria que pueda atribuirse o asociarse con la 15 administración de la composición.

20 El sujeto se define en el presente documento como un animal, normalmente un mamífero, incluyendo un ser humano. Tal como se usa en el presente documento, el término "paciente" incluye sujetos humanos y animales.

25 En la práctica de los métodos de la presente invención, cantidades eficaces de los compuestos de progesterona o composiciones que contienen concentraciones terapéuticamente eficaces de los compuestos, que se formulan para administración sistémica, incluyendo administración parenteral, oral, o intravenosa o pulmonar, o para aplicación local o tópica, puede usarse para el tratamiento de enfermedades o trastornos, o estados, relacionados con la insensibilidad 30 a los glucocorticoides, incluyendo, pero sin limitarse a, estados resistentes a los glucocorticoides (por ejemplo, asma resistente a los glucocorticoides, artritis reumatoide refractaria, enfermedad inflamatoria del intestino refractaria; enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda, fibrosis pulmonar intersticial y fibrosis quística); estados refractarios a los glucocorticoides (por ejemplo, colitis ulcerosa refractaria, niños con enfermedad de Crohn grave, asma refractaria a los corticosteroides, neumonía intersticial descamativa refractaria a 35 los corticosteroides, miopatías inflamatorias refractarias, miastenia grave refractaria, pénfigo vulgar refractario, pacientes con AR refractaria a metotrexato, síndrome nefrótico refractario, esclerosis múltiple refractaria, enfermedad similar al esprúe refractaria, sarcoidosis resistente a esteroides, lesiones de la mucosa refractarias de pénfigo vulgar, síndrome de Schnitzler refractario, dermatitis resistente de la cabeza y el cuello, dermatitis atópica refractaria grave, púrpura trombocitopenia idiopática refractaria, miositis orbitaria refractaria, linfomas refractarios o recurrentes, pacientes críticamente enfermos con septicemia o síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) e insuficiencia 40 suprarrenal relativa); estados dependientes de glucocorticoides (por ejemplo, rosácea, polimialgia reumática, artritis de células gigantes, polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Kawasaki, síndrome de Guillain-Barre, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motora multifocal, síndrome de hombre rígido, lupus eritematoso sistémico dependiente de corticosteroides, esclerosis múltiple dependiente de corticosteroides, asma sintomática dependiente de corticosteroides, síndrome de Sjogren primario, vasculitis sistémica, polimiositis, trasplantes de órganos y enfermedad de injerto contra huésped); y otras enfermedades inflamatorias, enfermedades 45 autoinmunitarias, enfermedades hiperproliferativas y otras enfermedades de este tipo cuando está implicada la insensibilidad a los glucocorticoides. A modo de ejemplo de estas enfermedades están lupus, osteoartritis, rinosinusitis, poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, arteritis de células gigantes, rinitis alérgica, urticaria, angioedema hereditario, tendinitis, bursitis, hepatitis activa crónica autoinmunitaria, cirrosis, rechazo de trasplantes, psoriasis, dermatitis, neoplasias malignas (por ejemplo, leucemia, mielomas, linfomas), insuficiencia suprarrenal aguda, fiebre 50 reumática, enfermedad granulomatosa, proliferación/apoptosis inmunitaria, supresión y regulación del eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal (HPA), hipercortisoolemia, modulación del equilibrio de citocinas Th1/Th2, enfermedad renal crónica, lesión de la médula espinal, edema cerebral, trombocitopenia, síndrome de Little, enfermedad de Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, uveítis, pénfigo vulgar, pólipos nasales, septicemia, infecciones (por ejemplo, bacterianas, virales, rickettsianas, parasitarias), diabetes tipo II, obesidad, síndrome metabólico, depresión, 55 esquizofrenia, trastornos del estado de ánimo, síndrome de Cushing, ansiedad, trastornos del sueño, potenciación de la memoria y el aprendizaje, o glaucoma inducido por glucocorticoides, dermatitis atópica, reacciones de hipersensibilidad a fármacos, enfermedad del suero, dermatitis ampollosa herpetiforme, dermatitis de contacto, eritrodermia exfoliativa, micosis fungoides, pénfigo, tiroïditis no supurativa, oftalmia simpática, uveítis y estados inflamatorios oculares que no responden a esteroides tópicos, aspergilosis broncopulmonar alérgica, tuberculosis 60 pulmonar fulminante o diseminada cuando se usa simultáneamente con quimioterapia adecuada, pneumonitis de hipersensibilidad; bronquiolitis idiopática obliterante con pneumonía organizativa, pneumonías eosinofílicas idiopáticas, fibrosis pulmonar idiopática, pneumonía por *Pneumocystis carinii* (PCP) asociada con hipoxemia que se produce en un individuo VIH (+) que también está bajo tratamiento con antibióticos anti-PCP apropiados, una diuresis 65 o remisión de proteinuria en el síndrome nefrítico, sin uremia, de tipo idiopático o que se debe a lupus eritematoso, espondilitis anquilosante, polimialgia reumática, artritis psoriásica, policondritis recidivante, triquinosis con implicación neurológica o miocárdica, y meningitis tuberculosa.

En general, según la presente invención, las composiciones y los kits para su uso en los métodos descritos en el presente documento para el tratamiento de enfermedades o trastornos, o estados, relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides comprenden la administración de una composición farmacéutica que comprende una hormona esteroide. Normalmente, la hormona esteroide gonadal lipofílica es un progestágeno. Los progestágenos que pueden usarse según la presente invención son: progesterona natural, caproato de 17alfa-OH progesterona, acetato de medroxiprogesterona y una combinación de los mismos.

Los glucocorticoides, para su uso según la presente invención se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en hormonas esteroideas producidas de manera natural, o compuestos sintéticos, que inhiben el proceso de inflamación. Los ejemplos específicos de glucocorticoides incluyen hidrocortisona (cortisol), acetato de cortisona, dexametasona (a continuación en el presente documento, "dexametasona"), prednisona, prednisolona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, parametasona, fluticasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona (DOCA), fluprednisolona, propionato de fluticasona, budesonida, dipropionato de beclometasona, flunisolida y acetónido de triamcinolona.

En la práctica de la presente invención, cantidades eficaces de los compuestos o las composiciones que contienen concentraciones terapéuticamente eficaces de los compuestos, se formulan preferiblemente para administración sistémica, incluyendo administración parenteral, oral o intravenosa, o para aplicación local o tópica. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse mediante inyección subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intraarterial o intramuscular; por vía rectal; mediante administración transdérmica; administración intravaginal; o por vía bucal; o mediante administración oral. Cuando se administra por inyección subcutánea o intramuscular, la hormona esteroide se formula adecuadamente como una formulación de depósito para permitir la liberación sostenida de la hormona esteroide a lo largo de un período prolongado de tiempo. Cuando se administra mediante administración tópica, incluyendo administración intravaginal, la administración puede ser adecuadamente, por ejemplo, por medio de una disolución, suspensión, emulsiones o similares y se formulan preferiblemente como cremas, geles, pomadas, emulsiones, disoluciones, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, aerosoles, supositorios, vendajes, parches dérmicos o cualquier otra formulación adecuada para la vía. Cuando se usa una vía de administración por inhalación, la administración puede ser preferiblemente, por ejemplo, por medio de una pulverización de aerosol o mezcla de polvo en un envase presurizado o un nebulizador o en un inhalador.

Con respecto a la frecuencia de administración, puede usarse cualquier frecuencia que logre el resultado deseado (es decir, ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis inferior de corticosteroides, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias o resistencia o exacerbaciones en respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles para el sujeto cuando la administración de esteroides se reduce o retira, o después de la administración prolongada de corticosteroides; riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides tales como infecciones oportunistas y pérdida ósea, y combinaciones de los mismos. La frecuencia de administración se determinará preferiblemente, al menos en parte, mediante la(s) hormona(s) esteroide(s) y/o forma de dosificación seleccionada. En diversas realizaciones, la composición farmacéutica se administra preferiblemente a un intervalo que excede diariamente o una vez a la semana. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse una vez cada dos semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses o una vez cada tres meses. En otras diversas realizaciones, la composición farmacéutica se administra una vez a la semana, o en un intervalo inferior a una semana (por ejemplo, diariamente o cada dos días). Por ejemplo, cuando la hormona esteroide es caproato de 17alfa-hidroxiprogesterona (17-HPC), la administración puede ser adecuadamente por medio de inyecciones diarias, una vez a la semana o una vez cada dos semanas, o una vez al mes o una vez cada 3 meses. Los expertos en la técnica entenderán que la vía de administración y la frecuencia de administración de las composiciones farmacéuticas usadas en los métodos y kits de la presente invención dependerán de una variedad de factores incluyendo, por ejemplo, la(s) hormona(s) esteroide(s) particular(es) usada(s), la formulación en la que se administra, el tejido que está tratándose, la edad y el sexo de la persona tratada, los datos de pruebas *in vivo* o *in vitro*, y el criterio profesional de las necesidades del paciente en particular. Los intervalos de frecuencia de dosificación expuestos en el presente documento son a modo de ejemplo únicamente y no pretenden limitar el alcance ni la práctica de formulaciones proporcionadas en el presente documento.

El experto en la técnica también apreciará que la dosificación apropiada de la hormona esteroide dependerá de la(s) hormona(s) esteroide(s) seleccionada(s), la vía de administración y la forma de dosificación, la frecuencia de administración, la(s) enfermedad(es) que va(n) a tratarse, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la especie, edad, peso corporal, salud general y dieta del sujeto, tasa de excreción, combinación de fármacos y gravedad del estado particular. La cantidad eficaz de una hormona esteroide proporcionada en el presente documento puede determinarla un experto habitual en la técnica, e incluye cantidades de dosificación a modo de ejemplo para un mamífero de desde aproximadamente 0,001 hasta 100 mg/kg de peso corporal de compuesto activo administrado por vía oral al día. Por ejemplo, para lograr los efectos en el endometrio y anticonadotrópicos (es decir, dosis para la inhibición de la ovulación), 0,15 mg/día v.o. para levonorgestrel o desogestrel se desea preferiblemente mientras que la cantidad requerida es mucho mayor, 5-10 mg/día para acetato de medroxiprogesterona o 200-300 mg/día para progesterona.

El experto en la técnica también apreciará que la dosificación adecuada de la hormona esteroide dependerá del género ya que el progestágeno es la hormona sexual. La progesterona se secreta principalmente por las células de la granulosa y el cuerpo luteíno en el ovario. Durante el embarazo, una fuente importante de progesterona también proviene de la placenta. Los hombres producen progesterona en la glándula suprarrenal y los testículos, ya que esta es un precursor de la testosterona. En las mujeres, los niveles de progesterona son relativamente bajos durante la fase preovulatoria del ciclo menstrual, aumentan después de la ovulación y se elevan durante la fase luteína. Los niveles de progesterona tienden a ser <2 ng/ml antes de la ovulación, y >5 ng/ml después de la ovulación. Si se produce embarazo, los niveles de progesterona se mantienen inicialmente a niveles luteínicos. Con el inicio del cambio luteíno-placentario en el soporte de progesterona del embarazo, los niveles comienzan a aumentar adicionalmente y pueden llegar a 100-200 ng/ml en el parto. El intervalo de referencia para los niveles de progesterona en hombres adultos es de 0,13-0,97 ng/ml. Los hombres adultos tienen niveles similares a los de las mujeres durante la fase folicular del ciclo menstrual, así como el nivel en mujeres posmenopáusicas. Claramente, las mujeres experimentan regularmente un cambio de 17 veces en la concentración de progesterona sérica durante el ciclo menstrual, o un aumento de más de 100 veces en el embarazo. Por tanto, la tolerancia o dosis máxima o dosis mínima eficaz del tratamiento con progestágeno sería mayor en mujeres que en hombres. Por ejemplo, cuando la hormona esteroide es caproato de 17alfa-hidroxiprogesterona (17-HPC) y una dosificación común usada es de 150-500 mg de inyección semanal para sus usos en indicaciones relacionadas con la salud de la mujer. Dado que algunos efectos importantes de la progesterona en la restauración de la sensibilidad a los corticosteroides se supone que están mediados de manera no genómica a través de diferentes modos biológicos moleculares de acción (es decir, funciones no relacionadas con la actividad progestacional), este puede dar como resultado algo de variabilidad farmacodinámica. Puede seleccionarse una dosis mucho más baja o más alta de progesterona (por ejemplo, 1715 HPC), así como un nivel de dosificación diferente para los sujetos masculinos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención contienen: i) un portador, diluyente o excipiente fisiológicamente aceptable, o una combinación de los mismos; y ii) una o más hormonas esteroideas tal como se describe en el presente documento. Las composiciones pueden formularse para administración de dosificación única o para múltiples dosificaciones. Pueden prepararse formas de dosificación o composiciones que contienen hormona(s) esteroide(s) en el intervalo del 0,005% al 100% con el resto constituido por portador no tóxico. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede contener uno o más diluyentes, uno o más portadores, uno o más aglutinantes, uno o más recubrimientos, uno o más lubricantes, uno o más disolventes, uno o más conservantes, uno o más agentes aromatizantes, uno o más colorantes y/o uno o más potenciadores de la absorción y/o uno o más polímeros biodegradables. El/los excipiente(s) particular(es) incluido(s) en la composición farmacéutica dependerá(n) de la(s) hormona(s) esteroide(s) particular(es) y la forma de dosificación seleccionada, y el experto en la técnica será capaz de seleccionar fácilmente excipientes apropiados una vez que la(s) hormona(s) esteroide(s) y la forma de dosificación para las mismas se han elegido. Por ejemplo, para administración oral, una composición no tóxica farmacéuticamente aceptable puede formarse mediante la incorporación de cualquiera de los excipientes empleados normalmente, tales como, por ejemplo, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, derivados de celulosa, croscarmelosa sódica, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio o sacarina sódica. Tales composiciones incluyen preferiblemente disoluciones, suspensiones, comprimidos, cápsulas, polvos y formulaciones de liberación sostenida, tales como, pero sin limitarse a, implantes y sistemas de administración microencapsulados, y polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como colágeno, etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, polí(ácido glicólico), poliortoésteres, polí(ácido láctico) y otros. Por otro ejemplo, pueden prepararse inyectables convencionales en formas convencionales, o bien como disoluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para disolución o suspensión en líquido antes de la inyección, o bien como emulsiones. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, manitol, 1,3-butanodiol, disolución de Ringer, una disolución isotónica de cloruro de sodio o etanol. Para otro ejemplo, se preparan suspensiones inyectables usando portadores líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados. Determinadas composiciones farmacéuticas para inyección se presentan en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes de múltiples dosis. Determinadas composiciones farmacéuticas para inyección son suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Determinados disolventes adecuados para su uso en composiciones farmacéuticas para inyección incluyen, pero no se limitan a, disolventes lipófilos y aceites grasos, tales como aceite de sésamo, ésteres sintéticos de ácidos grasos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, y liposomas.

Además de la administración de una hormona de progestágeno, las composiciones y los kits de la presente invención comprenden además una o más terapias adicionales dirigidas al tratamiento de enfermedades o trastornos, o estados, relacionados con la insensibilidad a los glucocorticoides, tal como se comenta en el presente documento. El uno o más tratamientos adicionales incluyen, por ejemplo, glucocorticoide (por ejemplo, hidrocortisona, acetato de cortisona, dexametasona, prednisona, prednisolona, metilprednisolona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, parametasona, fluticasona, acetato de fludrocortisona, acetato de desoxicorticosterona, fluprednisolona, propionato de fluticasona, budesonida, dipropionato de beclometasona, flunisolida y acetónido de triamcinolona, andrógeno (por ejemplo, deshidroepiandrosterona (DHEA)), y pueden incluir además un estrógeno (por ejemplo, estradiol), agentes inmunosupresores o inmunomoduladores (por ejemplo, ciclosporina, metotrexato, oro, 6-mercaptopurina, productos biológicos tales como infliximab, etanercept y adalimumab, inmunoglobulina intravenosa y mepolizumab), e inhibidores de la calcineurina (por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus), inhibidores de p38 MAP cinasa, inhibidores de JNK

(disminución de API), vitamina D, inhibidores de MIF, activadores de histona desacetilato-2, teofilina, inhibidores de fosfoinosítido-3-cinasa-δ, modificadores de leucotrienos, agonistas beta de acción prolongada, antioxidantes, inhibidores de iNOS e inhibidores de glicoproteína P, y combinaciones de los mismos. Los otros agentes farmacéuticos anteriores, cuando se emplean en combinación con los agentes descritos en el presente documento, pueden usarse, 5 por ejemplo, en las cantidades indicadas en el Physicians' Desk Reference (PDR) o tal como lo determina de otra manera un experto habitual en la técnica. La cantidad de un agente usado con vías no orales se determina preferiblemente basándose en el nivel de concentración sérica correspondiente de una dosificación oral o que contiene una cantidad del compuesto activo en una cantidad suficiente para aliviar los síntomas del sujeto tratado. En los 10 métodos proporcionados en el presente documento, tal(es) otro(s) agente(s) farmacéutico(s) puede(n) administrarse antes, simultáneamente con o después de la administración de los compuestos proporcionados en el presente documento. Los efectos terapéuticos del uso de un sensibilizador de glucocorticoides incluyen cualquiera, pero sin limitarse a, de ahorro de la dosis de fármacos de tratamiento simultáneo anteriores, mejor sensibilidad o tolerancia a fármacos de tratamiento simultáneo, logro de eficacia usando una dosis inferior de fármacos de tratamiento 15 simultáneo, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias o resistencia a fármacos de tratamiento simultáneo, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles después de reducir o retirar los fármacos de tratamiento simultáneo, o administración prolongada de fármacos de tratamiento simultáneo, riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con el fármaco debido a fármacos de tratamiento simultáneo, y combinaciones de los mismos. Los ejemplos 1-2 demuestran el establecimiento de modelos de estudio 20 en la evaluación de la sensibilidad a los esteroides y la resistencia a los esteroides, es decir, la producción de IL-2 inducida por PHA y la resistencia a los esteroides inducida por IL2/4 en células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) de fumadores masculinos sanos.

Los ejemplos 1 y 2 demuestran el establecimiento de modelos de estudio en la evaluación de la sensibilidad a los esteroides y la resistencia a los esteroides, es decir, la producción de IL-2 inducida por PHA y la resistencia a los esteroides inducida por IL2/4 en células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) de fumadores 25 masculinos sanos.

Los ejemplos 3, 4 y 5 demuestran que el progestágeno revierte la resistencia a los corticosteroides y mejora la sensibilidad a los corticosteroides en un estado resistente a los esteroides (es decir, inducido por IL-2/4).

30 Los ejemplos 6, 7 y 8 demuestran que el progestágeno mejora la sensibilidad a los corticosteroides en un estado no resistente a los esteroides (es decir, producción de IL-2 inducida por la PHA sin añadir IL2/4).

35 Se ha descubierto sorprendentemente, según la presente invención, que los efectos del uso de un sensibilizador de glucocorticoides incluyen, pero no se limitan a, el ahorro de esteroides en pacientes dependientes de corticosteroides, una mejor sensibilidad o tolerancia a los corticosteroides, logro de eficacia usando una dosis inferior de corticosteroides, prevención de que individuos en riesgo desarrollen respuestas refractarias o resistencia o exacerbaciones en respuesta a exposiciones a antígenos, infecciones, ejercicio o irritantes, logro de funciones inmunitarias óptimas, respuestas más fáciles para un paciente cuando la administración de esteroides se reduce o se 40 retira, o administración prolongada de corticosteroides, riesgos disminuidos de desarrollar acontecimientos adversos relacionados con los corticosteroides tales como infecciones oportunistas, pérdida ósea, fractura patológica, diabetes, cataratas y combinaciones de los mismos.

Materiales y métodos de examen *in vitro*

45 Visión general

La resistencia a esteroides inducida por IL-2/4 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas es un 50 modelo de estudio bien reconocido para evaluar los posibles modificadores de la resistencia y sensibilidad a los esteroides (Kam, J. C. etc. Combination IL-2 and IL-4 reduces glucocorticoid receptor-binding affinity and T cell response to glucocorticoids. J. Immunol 1993; 151:3460-3466. Irusen, E. etc. p38 mitogen-activated protein kinase-induced glucocorticoid receptor phosphorylation reduces its activity: role in steroid-insensitive asthma. J. Allergy Clin. Immunol 2002; 109:649-657. Creed TJ, etc. The Effects of Cytokines on Suppression of Lymphocyte Proliferation by Dexamethasone. J Immunol 2009; 183; 164-171). La inhibición por la dexametasona de la proliferación de linfocitos y 55 el ensayo de citocinas se correlaciona bien con el desenlace de la terapia con esteroides en pacientes con enfermedades inflamatorias. La supresión de las liberaciones de citocinas por la dexametasona (también denominada en el presente documento en esta solicitud "dexametasona") en voluntarios sanos se utiliza para medir cambios en la sensibilidad a los esteroides y la resistencia a los esteroides. Tras la estimulación de PBMC con el mitógeno fitohemaglutinina (PHA), hay una fuerte correlación entre los niveles de secreción de citocinas y la resistencia a los 60 esteroides así como la sensibilidad a los esteroides *in vitro*. La adición de IL-2, IL-4 y TNF- reduce la sensibilidad a los esteroides.

65 El objetivo de un estudio fue evaluar el efecto de los compuestos sobre la reversión de la resistencia a los corticosteroides, medido por un aumento en la capacidad de la dexametasona para inhibir la liberación de IL-2 inducida por PHA en el modelo resistente a los esteroides inducido por IL-2 e IL-4.

Los efectos de los compuestos se evaluaron en la mejora de la sensibilidad a los corticosteroides, medida por la mejora de la CI50, ahorro de esteroides, logro de una eficacia antiinflamatoria similar usando una dosis inferior de corticosteroides, mejor sensibilidad y combinación de efectos sinérgicos en la liberación de IL-2 inducida por PHA en PBMC.

5 Materiales

10 Sistema de separación de PBMC (células mononucleares de sangre periférica; PBMC): Accuspin System-Histopaque from GEHealthcare Bio-Sciences AB (EE.UU.); Medio RPMI-1640 de HyClone, Beijing China, dimetilsulfóxido (DMSO) de Sigma (US), caproato de 17 α -hidroxiprogesterona (17HPC) (n.º CAS: 630-56-8), acetato de medroxiprogesterona (MPA) (n.º CAS 71-58-9), progesterona natural (P4) (n.º CAS 57-83-0), dexametasona (dexametasona) (n.º CAS: 50-02-2) y PHA de Sigma Ltd (EE.UU.); IL-2 e IL-4 recombinantes de PreproTech, kit de ensayo inmunosorbente de IL-2 (ELISA para IL-2) de Excell Biology, Shanghai, China; anticuerpos anti-ser humano anti-CD3 y anti-CD28 de R&D Systems (EE.UU.).

15 Aislamiento de PBMC

20 Se aislaron PBMC de capas leucocíticas de sangre humana proporcionada por un centro de sangre regional. Las células de capas leucocíticas aleatorias de donantes masculinos eran un subproducto de sangre procesada para uso clínico y no se proporcionaron detalles (es decir, identificación personal y antecedentes) excepto para el consumo de tabaco. Casi todos los donantes de sangre masculinos eran fumadores de cigarrillos. Se separaron las PBMC usando una barrera porosa de polietileno de alta densidad (HISTOPAQUE de GEHealthcare Bio-Sciences AB (EE.UU.)). Despues de la centrifugación de muestras de sangre en cada tubo (35 minutos a 800 xg a temperatura ambiente, o TA), se recogieron PBMC y se lavaron dos veces con solución salina tamponada de Hank (HBSS). Se resuspendieron las PBMC en medio RPMI-1640 que contenía suero fetal de ternero al 10% (FCS) y glutamina 15 mM y las células se contaron y se sembraron en placa.

25 Cultivo de células

30 Se incubaron PBMC (2×10^6) con o sin IL-2 (13 ng/ml) e IL-4 (6,5 ng/ml) durante 48 horas en medio RPMI-1640 que contiene FCS al 10% y glutamina 2 mM. Se contaron las PBMC y se sembraron en placa nuevamente a 10^7 células/ml antes de estimular con o sin caproato de 17 α -hidroxiprogesterona (17HPC), progesterona (P4) y acetato de medroxiprogesterona (MPA) durante 12 horas antes del tratamiento de Dexametasona dexametasona. También se sembraron en placa PBMC estimuladas con IL-2 e IL-4 a una concentración de 10^6 células/ml en placas de 96 pocillos listas para la estimulación con PHA (15 μ g/ml, 24 horas) de la liberación de citocinas y detección por ELISA.

35 ELISA de tipo sándwich (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas)

40 Se sembraron en placa células PBMC (10^6 células/ml) en placas de 96 pocillos y se estimularon con o sin dexametasona (de 10^{-12} M a 10^{-5} M) durante 1 hora antes de transferir las células en una placa de 96 pocillos con o sin PHA (15 μ g/ml) 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂. Se midieron diluciones en serie de los patrones y los sobrenadantes de PBMC mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas para determinar IL-2 al nivel inicial y sus niveles después de los tratamientos con 17HPC, P4 y MAP. La densidad óptica se midió a 450 nm y se corrigió con 550 nm. La concentración de IL-2 se calculó usando la curva patrón y teniendo en cuenta la dilución de sobrenadante usada.

45 El límite de detección para IL-2 es de 4,0 pg/ml.

50 Análisis estadístico

55 Los datos se expresan como media \pm SD. Las eficacias de los tratamientos con fármacos se analizaron mediante la prueba de la t apareada. Se usó análisis de la varianza de una vía para comparar tres o más grupos coincidentes y se realizó el IC del 95% para presentar diferencias entre los grupos. Todos los gráficos indican valores medios de los resultados o % de inhibición de IL-2 estimulada por PHA. Los valores de CI50 se calcularon usando un modelo sigmoidal (BioDataFit). Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

60 Resultados

65 Medición simultánea de la sensibilidad a los esteroides en PBMC (10^6 células/ml)

Para medir la sensibilidad a los glucocorticoides simultáneamente, se sembraron en placa PBMC (10^6 células/ml) en placas de 96 pocillos y se estimularon con o sin diluciones en serie de dexametasona (de 10^{-12} M a 10^{-5} M) durante 1 hora, y posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂. Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA. Los resultados de la figura 1 incluyen niveles de IL-2 en el nivel inicial, después de la estimulación con PHA y la inhibición dependiente de la dosis de IL-2 por dexametasona. Los niveles de IL-2 en PBMC fueron de 19 ± 25 pg/ml en el nivel inicial en fumadores masculinos sanos (n=11), 677 ± 447 pg/ml después de la estimulación con PHA (n=20), 371 ± 447 pg/ml a dexametasona 10^{-12} M (n=11), 287 ± 313 pg/ml a dexametasona 10^{-10} M (n=14), 293 ± 338

5 pg/ml a $dex10^{-8}$ M (n=17) y 144 ± 157 pg/ml a dexametasona 10^{-6} M (n=17). Los tratamientos con dexametasona y 17HPC no tienen ningún efecto significativo en el nivel inicial de IL-2 (datos no mostrados). La figura 1 muestra por tanto los niveles de IL-2 (media) en el nivel inicial, después de la estimulación con PHA y el efecto de dexametasona sobre la producción de IL-2 inducida por PHA (n=20) ($p<0,001$). La dexametasona muestra una inhibición significativa, de respuesta a la dosis de la producción de IL-2 (figura 1).

Ejemplo 1. La adición de IL-2 e IL-4 reduce la sensibilidad a los esteroides o induce la resistencia a los esteroides entre fumadores masculinos.

- 10 La resistencia a los esteroides inducida por IL-2/4 en PBMC, un modelo de estudio bien reconocido, se usó para evaluar los posibles modificadores de la resistencia y sensibilidad a los esteroides. Se recogieron PBMC de fumadores sanos. La insensibilidad o resistencia a los corticosteroides se indujo añadiendo IL-2 e IL-4 en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de fumadores masculinos sanos (n=11). Se cultivaron PBMC (10^6 células/ml) estimuladas con o sin IL-2 (13 ng/ml) e IL-4 (6,5 ng/ml) en placas de 96 pocillos durante 48 horas y posteriormente se expusieron a diluciones en serie de dexametasona (10^{-10} M, de 10^{-8} M a 10^{-6} M) durante 1 hora, y luego se estimularon con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂. Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA. El porcentaje de inhibición sobre la producción de IL-2 inducida por PHA se calculó como % de inhibición = 1 - (IL-2 con dexametasona/IL-2 sin dexametasona).
- 15 20 Los resultados representados en la figura 2 muestran que la capacidad de inhibición de la dexametasona sobre la producción de IL-2 inducida por PHA se redujo significativamente con la adición de IL-2 e IL-4 entre fumadores masculinos. Por ejemplo, el % de inhibición con dosis bajas de dexametasona 10^{-10} M se perdió por completo: 52% frente a sin inhibición, y con dosis más altas de dexametasona 10^{-6} M: 87% frente a 21%, una reducción significativa. 25 La adición de IL-2 e IL-4 reduce la sensibilidad a los esteroides o induce resistencia a los esteroides entre fumadores masculinos, un modelo/estado válido resistente a los esteroides.

Ejemplo 2. El progestágeno mejora la sensibilidad a los corticosteroides o revierte la resistencia a los corticosteroides entre fumadores masculinos.

- 30 35 La insensibilidad o resistencia a los corticosteroides puede revertirse farmacológicamente. Se investigaron los efectos de la clase de fármacos de progestágeno, que actualmente se desconoce para su función en la reversión de la resistencia a los esteroides, y los fármacos de progestágeno de prueba de caproato de 17 α -hidroxiprogesterona (17HPC), acetato de medroxiprogesterona (MPA) y progesterona natural (P4) sobre sus efectos en la mejora de la sensibilidad a los glucocorticoides en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de fumadores masculinos sanos.

40 45 Se cultivaron PBMC (10^6 células/ml) estimuladas con IL-2 (13 ng/ml) e IL-4 (6,5 ng/ml) en placas de 96 pocillos durante 48 horas y posteriormente se estimularon con 17HPC (10^{-10} M, 10^{-7} M y 10^{-5} M) o P4 o MPA (10^{-10} M, 10^{-8} M y 10^{-5} M) durante 12 horas antes de exponerse con o sin dosis bajas y altas de dexametasona (10^{-10} M y 10^{-6} M) durante 1 hora, y luego posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂ (n=11 para las combinaciones de los grupos de 17HPC+ dexametasona). Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA. Un aumento del 10% en la inhibición máxima de dexametasona (Imáx) en un estado resistente a los esteroides representa una mejoría clínica significativa (Creed TJ, etc. The Effects of Cytokines on Suppression of Lymphocyte Proliferation by Dexamethasone. J Immunol 2009; 183; 164-171).

50 55 Los resultados descritos en las figuras 3-4 muestran que el progestágeno mejora de manera constante la insensibilidad a los corticosteroides por todos de los tres agentes de progestágeno (17HPC, P4 y MPA) cuando se usa la dosis baja de dexametasona. La Imáx mejora de desde el 9% hasta el 33%. La figura 3 representa los efectos del progestágeno (%Imáx) en la reversión de la resistencia a los esteroides: comparación de 17HPC, P4 y MPA con dosis bajas de dexametasona (10^{-10} M). La figura 4 muestra los efectos del progestágeno (%Imáx) en la reversión de la resistencia a los esteroides: comparación de 17HPC, P4 y MPA bajo dosis altas de dexametasona (10^{-6} M).

60 65 Los efectos en la reversión de la resistencia a los corticosteroides se observan cuando se usa la dosis alta de dexametasona (figura 4). Cada agente de progestágeno tiene su propio patrón de dosis-respuesta. Entre los tres fármacos sometidos a prueba, 17HPC tiene los mejores efectos de tratamiento, es decir, la tasa de mejora más alta (18%) y consistencia en todos los niveles de dosis (16-18%).

El progestágeno (por ejemplo, 17HPC, P4 y MPA) tiene por tanto el efecto sorprendente e inesperado de revertir la resistencia a los glucocorticoides y mejorar la sensibilidad a los glucocorticoides en los fumadores de cigarrillos. El progestágeno, por tanto, puede utilizarse para tratar enfermedades de resistencia a los glucocorticoides inducidas por el tabaquismo, tales como, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Ejemplo 3. 17HPC revierte la resistencia a los corticosteroides entre fumadores masculinos.

- 65 Se cultivaron PBMC (10^6 células/ml) estimuladas con IL-2 (13 ng/ml) e IL-4 (6,5 ng/ml) en placas de 96 pocillos durante 48 horas y posteriormente se estimularon con 17HPC (10^{-10} M, 10^{-7} M y 10^{-5} M) durante 12 horas antes de exponerse

con o sin tres dosis de dexametasona (10^{-10} M, 10^{-18} M y 10^{-6} M) durante 1 hora, y luego posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂ (n=11). Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA.

5 La figura 5 muestra que la adición de IL-2 e IL-4 redujo significativamente la sensibilidad a los esteroides a las tres concentraciones de dexametasona. La mejora de la inhibición por la dexametasona de la liberación de IL-2 inducida por la PHA se logra mediante la adición de 17HPC. 17HPC revierte la insensibilidad a los glucocorticoides en un patrón de dosis-respuesta. 17HPC restaura por tanto la sensibilidad a los corticosteroides. Por ejemplo, el nivel de IL-2 inducido por PHA con dexametasona 10^{-10} M, pero sin 17HPC fue de 2364 pg/ml frente a supresión de citocinas significativamente mejorada de 2119, 1805 y 1595 pg/ml después de añadir 17HPC a 10^{-10} M, 10^{-7} M y 10^{-5} M respectivamente (p< 0,05 en ambos grupos de 17HPC 10^{-7} M y 10^{-5} M).

10 La figura 6 muestra respuestas individuales antes y después del tratamiento con 17HPC cuando se administró la dosis alta de dexametasona 10^{-6} M. Diez de 11 sujetos tenían una mejora de más del 10% (en % de inhibición máxima de dexametasona) después del tratamiento con 17HPC, y solo un sujeto (n.º 6) no tenía mejora (p < 0,05 en la prueba de Chi cuadrado para los tres grupos de dosis de 17HPC). 17HPC revierte por tanto la resistencia a los esteroides y los patrones de respuesta individuales.

Ejemplo 4. Patrones de respuesta individuales con tres agentes de progestágeno: 17HPC, P4 y MPA

15 20 El ejemplo 3 anterior mostró que el progestágeno revierte la resistencia a los corticosteroides entre fumadores masculinos. Las figuras 7-9 comparan los patrones de respuesta individuales con tres agentes de progestágeno: 17HPC, P4 y MPA con la misma dosis de dexametasona 10^{-10} M:

25 25 Los resultados representados en la figura 7 muestran que 9 de los 11 sujetos tenían una mejora de más del 10% en la inhibición máxima de dexametasona después de recibir una dosis de 17HPC, lo que concuerda con los resultados presentados en la figura 6.

30 30 Los resultados representados en la figura 8 muestran que 6 de cada 8 sujetos tenían una mejora de más del 10% en la inhibición máxima de dexametasona después de recibir una dosis de progesterona natural, que es similar a 17HPC.

35 35 Los resultados representados en la figura 9 muestran que el tratamiento con MPA conduce a un patrón de respuesta total diferente: una respuesta "dividida". Un subgrupo tenía una gran mejora de hasta el 58% mientras que otro subgrupo presentó un empeoramiento de la sensibilidad a los corticosteroides, una reducción de hasta el 88%.

40 40 Ejemplo 5. El progestágeno (por ejemplo, 17HPC) mejora la sensibilidad a los corticosteroides en un estado no resistente a los esteroides

45 Para determinar el efecto del tratamiento de adición de 17HPC sobre la sensibilidad a los glucocorticoides simultáneamente, se sembraron en placa PBMC (10^6 células/ml) en placas de 96 pocillos y se estimularon con 17HPC (de 10^{-11} M a 10^{-5} M) durante 12 horas antes de exponerse con o sin diluciones en serie de dexametasona (de 10^{-12} M a 10^{-6} M) durante 1 hora, y posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂. Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA. Los valores de Cl₅₀ se calcularon usando un modelo sigmoideo (BioDataFit). El valor (IL-2=734) del control negativo (es decir, célula + PHA sin dexametasona o 17HPC) se estableció artificialmente como dexametasona-¹⁸M o 17HPC-¹⁷ M (es decir, suponiendo una concentración de fármaco de \approx 0 M) para ajustarse al modelo sigmoideo cuando se calcula la Cl₅₀ de dexametasona y Cl₅₀ de 17HPC (N=14).

50 50 Los efectos de 17HPC sobre la sensibilidad a la dexametasona medida por la inhibición de IL-2 en fumadores se muestran en la tabla 1 y la figura 10. La figura 10 muestra que el efecto de adición de 17HPC es la mejora de la sensibilidad a los esteroides. 17HPC, especialmente a concentraciones inferiores, potencia significativamente la sensibilidad a los esteroides medida por la Cl₅₀ de dexametasona, que mejora desde Cl₅₀= 7,5 (solo dexametasona) hasta 10,2-12,0 (dexametasona + 17HPC) (p=0,0052 en ANOVA). La dosis superior de 17HPC (a 17HPC 10^{-5} M) tuvo efecto mínimo o nulo.

Tabla 1. Efecto de 17HPC en la mejora de la sensibilidad a los corticosteroides (media de IL-2 pg/ml y CI₅₀)

Dexametasona	Dexametasona solo	17HPC 10 ⁻¹¹ M	17HPC 10 ⁻¹⁰ M	17HPC 10 ⁻⁷ M	17HPC 10 ⁻⁵ M	CI50 de PR2005
0	734,6692754	448,2208447	420,6095024	466,3103053	225,5846837	6,434401
10 ⁻¹² M	371,7410856	275,1887924	132,298398	111,5503515	176,2274866	10,92452
10 ⁻¹⁰ M	312,6599339	164,3874069	177,7437283	104,5164134	138,578293	11,64492
10 ⁻⁸ M	398,132707	167,8640405	173,5466553	229,3011166	136,1965467	6,242864
10 ⁻⁶ M	160,6293856	9,050299835	27,18227874	9,914185277	24,6061311	N/D
CI50 de dexametasona	7,509749	12,01514	10,20306	N/D	7,595664	

Ejemplo 6. El progestágeno (por ejemplo, 17HPC) tiene efectos de ahorro de esteroides significativo

- 5 Para determinar el efecto del tratamiento de adición de 17HPC sobre el ahorro de glucocorticoides simultáneamente, se sembraron en placa PBMC (10^6 células/ml) en placas de 96 pocillos y se estimularon con 17HPC (de 10^{-11} M a 10^{-5} M) durante 12 horas antes de exponerse con o sin diluciones en serie de dexametasona (de 10^{-12} M a 10^{-6} M) durante 1 hora, y luego posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂. Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA. Se calculó el % de inhibición de la estimulación con PHA de IL-2 (pg/ml) mediante 17HPC y/o dexametasona (dexametasona) en PBMC. El valor (IL-2=734,7) del control negativo (es decir, célula + PHA sin tratamiento con fármaco) se estableció como inhibición del cero %, y todos los demás valores de % de inhibición se derivaron de la fórmula: (1 - (nivel de IL-2 de tratamiento/714,5) x 100%, (N=14) (nota: 714,5 ng/ml (IL-2 inducida por PHA) fue el valor medio de los 14 sujetos).
- 10 15 La adición de 17HPC puede lograr una eficacia similar usando una dosis inferior de corticosteroides (tabla 2). El porcentaje de supresión de las liberaciones de IL-2 por dosis superiores de dexametasona 10^{-6} M (Imáx) en fumadores sanos es del 78%. El tratamiento "de adición" de 17HPC reducirá significativamente el requisito de dosis de dexametasona. La tabla 2 muestra que la adición de las dosis bajas de 17HPC (10^{-11} M o 10^{-10} M) logrará un efecto antiinflamatorio similar ($\geq 78\%$ de inhibición de IL-2) en comparación con dexametasona 10^{-6} M), es decir, usando solo de 1/1.000 a 1/100.000 de la dosis original de dexametasona, un efecto sustancial de ahorro de esteroides. Por tanto, 20 la adición de 17HPC puede prevenir individuos en riesgo de desarrollar respuestas refractarias o resistencia o exacerbaciones o tolerancia a los corticosteroides, así como mejorar los perfiles de seguridad.

Tabla 2. Efecto de adición de 17HPC: Efectos de ahorro de esteroides medida mediante el % de inhibición de la estimulación por PHA de IL-2

	Dexametasona solo	17HPC 10 ⁻¹¹ M	17HPC 10 ⁻¹⁰ M	17HPC 10 ⁻⁷ M	17HPC 10 ⁻⁵ M
Dexametasona 0 M	0%	39%	43%	37%	69%
Dexametasona 10 ⁻¹² M	49%	63%	82%	85%	76%
Dexametasona 10 ⁻¹⁰ M	57%	78%	76%	86%	81%
Dexametasona 10 ⁻⁸ M	46%	77%	76%	69%	81%
Dexametasona 10 ⁻⁶ M	78%	99%	96%	99%	97%

Los valores representan el % de inhibición de la estimulación por PHA de IL-2 (pg/ml) por 17HPC solo, dexametasona solo y 17HPC más dexametasona a diferentes concentraciones en el modelo de PBMC.

Ejemplo 7. La adición de progestágeno (por ejemplo, 17HPC) conduce a una mejor sensibilidad al tratamiento, y la combinación de 17HPC con dexametasona da como resultado efectos sinérgicos.

Para determinar el efecto del tratamiento de adición de 17HPC sobre el ahorro de glucocorticoides simultáneamente, 5 se sembraron en placa PBMC (10^6 células/ml) en placas de 96 pocillos y se estimularon con 17HPC (de 10^{-11} M a 10^{-5} M) durante 12 horas antes de exponerse con o sin diluciones en serie de dexametasona (de 10^{-12} M a 10^{-6} M) durante 1 hora, y luego posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas a 37°C, el 5% de CO₂. Los niveles de IL-2 se 10 cuantificaron usando ELISA. Se calculó el % de inhibición de la estimulación por PHA de IL-2 (pg/ml) por 17HPC y/o dexametasona (dexametasona) en PBMC. El valor (IL-2=734,7) del control negativo (es decir, célula + PHA sin tratamiento con fármaco) se estableció como inhibición del cero %, y todos los demás valores de % de inhibición se 15 derivaron de la fórmula: (1 - (nivel de IL-2 de tratamiento/714,5) x 100%, (N=14).

El efecto antiinflamatorio máximo de la dexametasona es una inhibición del 78% de la producción de IL-2 inducida por 15 PHA a 10^{-6} M. El tratamiento 'de adición' de 17HPC produce una sensibilidad significativamente mejor y da como resultado casi el 100% de supresión de IL-2 inducida por PHA (figura 11). La figura 11 representa por tanto una mejor sensibilidad al tratamiento con la adición de 17HPC.

Además, la combinación de 17HPC con dexametasona aumenta de manera constante los efectos antiinflamatorios de 20 la dexametasona, y es mejor que sus usos de manera individual. La figura 12 muestra que la combinación conduce a un efecto sinérgico, con mejoras del 25-37% en la eficacia de la dexametasona. La figura 12 representa por tanto los efectos sinérgicos de la combinación de 17HPC con dexametasona.

Ejemplo 8. La adición de otros compuestos de progestágeno (por ejemplo, P4 y MPA) muestra efectos similares en la 25 potenciación de la sensibilidad a los glucocorticoides

Para determinar el efecto del tratamiento de adición de acetato de medroxiprogesterona (MPA) y de progesterona natural (P4) sobre el ahorro de glucocorticoides simultáneamente, se sembraron en placa PBMC (10^6 células/ml) en placas de 96 pocillos y se estimularon con P4 o MPA (10^{-10} M, 10^{-8} M y 10^{-5} M) durante 12 horas antes de exponerse con o sin dexametasona (de 10^{-11} M a 10^{-8} M) durante 1 hora, y posteriormente con PHA (15 μ g/ml) durante 24 horas 30 a 37°C, el 5% de CO₂ (n=6 para las combinaciones de P4 o MPA + dexametasona). Los niveles de IL-2 se cuantificaron usando ELISA. Se calculó el % de inhibición de la estimulación por PHA de IL-2 (pg/ml) por P4, o MPA, y/o dexametasona (dexametasona) en PBMC. El valor (IL-2=765) del control negativo (es decir, célula + PHA sin tratamiento con fármaco, n=25) se estableció como inhibición del cero %, y todos los demás valores de % de inhibición 35 se derivaron de la fórmula: (1 - (nivel de IL-2 de tratamiento/765) x 100%.

La tabla 3 y la tabla 4 muestran que tanto P4 como MPA tienen efectos similares en la potenciación de la sensibilidad 40 a los glucocorticoides, tales como efectos de ahorro de esteroides y sinérgicos de la combinación. Por ejemplo, el porcentaje de supresión de liberaciones de IL-2 por dexametasona 10^{-8} M mejora desde el 67% hasta el 96% cuando se añade MPA 10^{-8} M (P= 0,035 en prueba de la T apareada). La adición de la dosis baja de o bien P4 o bien MPA (10^{-10} M) logrará un efecto antiinflamatorio similar (\geq 86% de inhibición de IL-2) en comparación con dexametasona 10^{-6} M), es decir, usando solo 1/100 de la dosis original de dexametasona, un efecto significativo de ahorro de esteroides.

Tabla 3. Efectos de la adición de acetato de medroxiprogesterona (MPA) sobre la potenciación de la sensibilidad a los glucocorticoides (media de IL-2 pg/ml y % de inhibición de la producción de IL-2 inducida por PHA)

		MPA 10 ⁻¹⁰ M	MPA 10 ⁻⁸ M	MPA 10 ⁻⁵ M
PHA	765,0 (0,0%)	206,1 (73%)	166,9 (78%)	39,8 (95%)
DEXAMETASONA 10E -11M	216,1 (72%)		129,1 (83%)	
DEXAMETASONA 10E -8M	251,6 (67%)	44,7 (94%)	29,2 (96%)	12,3 (98%)
DEXAMETASONA 10E -6M	109,6 (86%)			

Tabla 4. Efectos de adición de progesteronona natural (P4) sobre la potenciación de la sensibilidad a los glucocorticoides (media de IL-2 pg/ml y % de inhibición de la producción de IL-2 inducida por PHA)

		P4 10 ⁻¹⁰ M	P4 10 ⁻⁸ M	P4 10 ⁻⁵ M
PHA	765,0 (0,0%)	506,9 (34%)	486,2 (36%)	113,8 (85%)
DEXAMETASONA 10E -11M	216,1 (72%)		100,8 (87%)	
DEXAMETASONA 10E -8M	251,6 (67%)	59,6 (92%)	91,4 (88%)	81,2 (89%)
DEXAMETASONA 10E -6M	109,6 (86%)			

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende un progestágeno seleccionado del grupo que consiste en caproato de 17[alfa]-OH progesterona, progesterona natural, acetato de medroxiprogesterona y una combinación de los mismos para su uso en un método para el tratamiento de la resistencia a los glucocorticoides en un sujeto que experimenta uno o varios de asma resistente a los glucocorticoides, artritis reumatoide refractaria, enfermedad inflamatoria del intestino refractaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda, fibrosis pulmonar intersticial y fibrosis quística, en la que el sujeto no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual; en la que el progestágeno se administra antes, simultáneamente con o después de la administración de glucocorticoide.
2. Composición farmacéutica que comprende progestágeno para el uso según la reivindicación 1, en la que el progestágeno se administra por vía sistémica o local administrado mediante un método seleccionado del grupo que consiste en administración parenteral, intravenosa, pulmonar, oral, rectal, bucal, transdérmica, intravaginal, aplicación local, aplicación tópica, inyección subcutánea, intraperitoneal, intraarterial e intramuscular.
3. Kit que comprende
 - (i) una composición farmacéutica, en el que la composición farmacéutica comprende un progestágeno seleccionado del grupo que consiste en caproato de 17[alfa]-OH progesterona, progesterona natural, acetato de medroxiprogesterona y una combinación de los mismos, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, y
 - (ii) un glucocorticoide;para su uso en un método para el tratamiento de la resistencia a los glucocorticoides en un sujeto que no tiene antecedentes de exacerbación relacionada con el ciclo menstrual, en el que el sujeto está experimentando uno o varios estados resistentes a los glucocorticoides seleccionados de asma resistente a los glucocorticoides, artritis reumatoide refractaria, enfermedad inflamatoria del intestino refractaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y síndrome de dificultad respiratoria aguda, fibrosis pulmonar intersticial y fibrosis quística.

FIG. 1

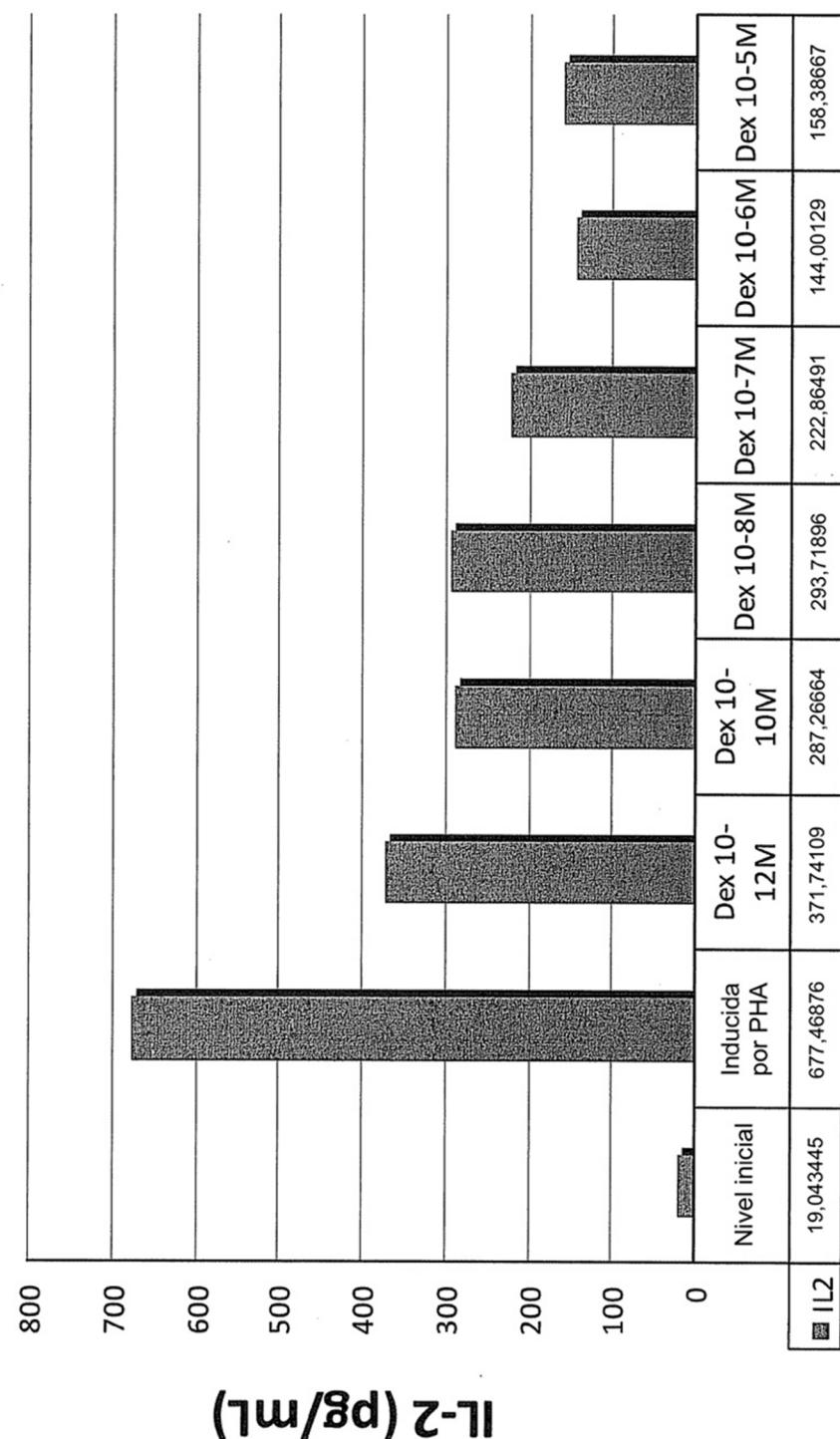


FIG. 2

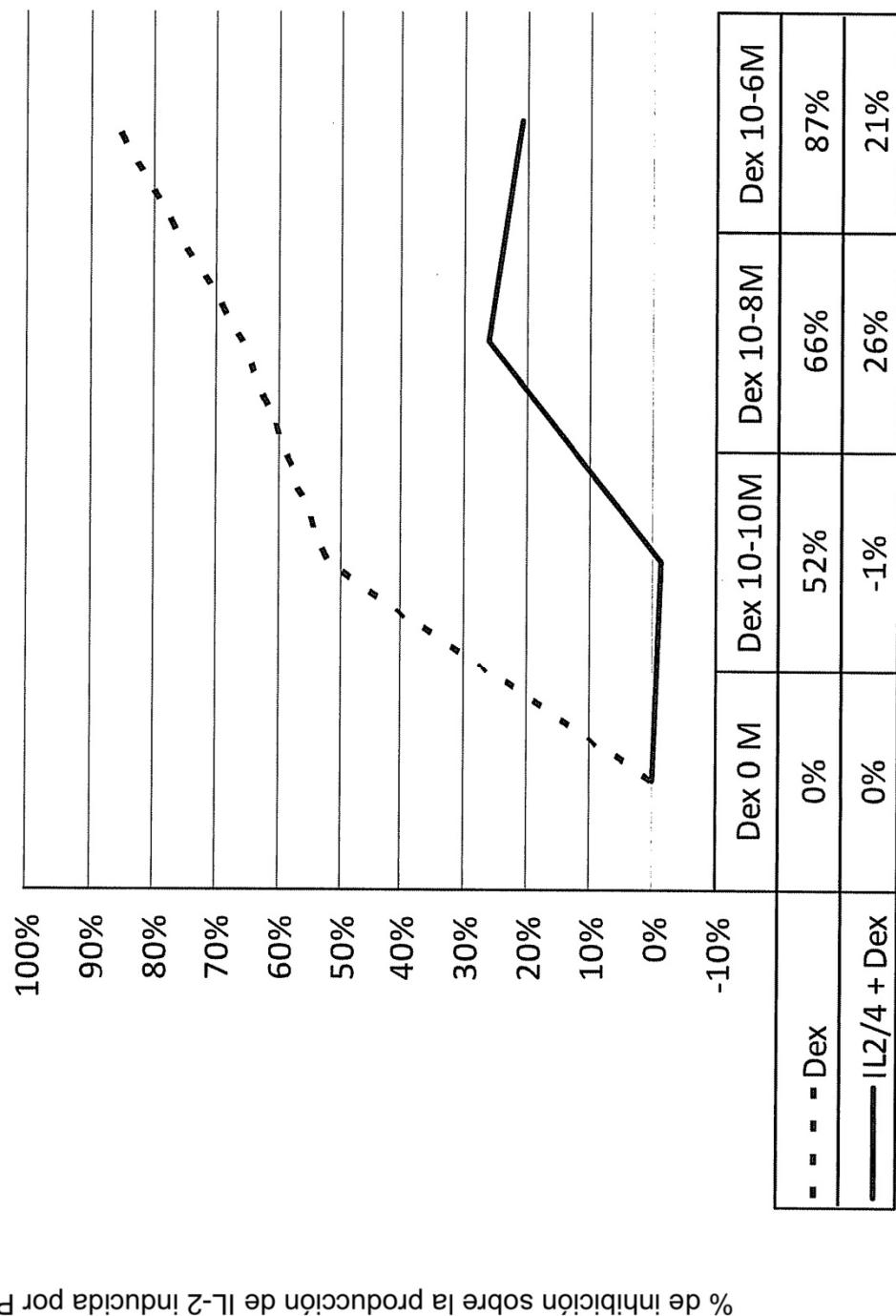


FIG. 3

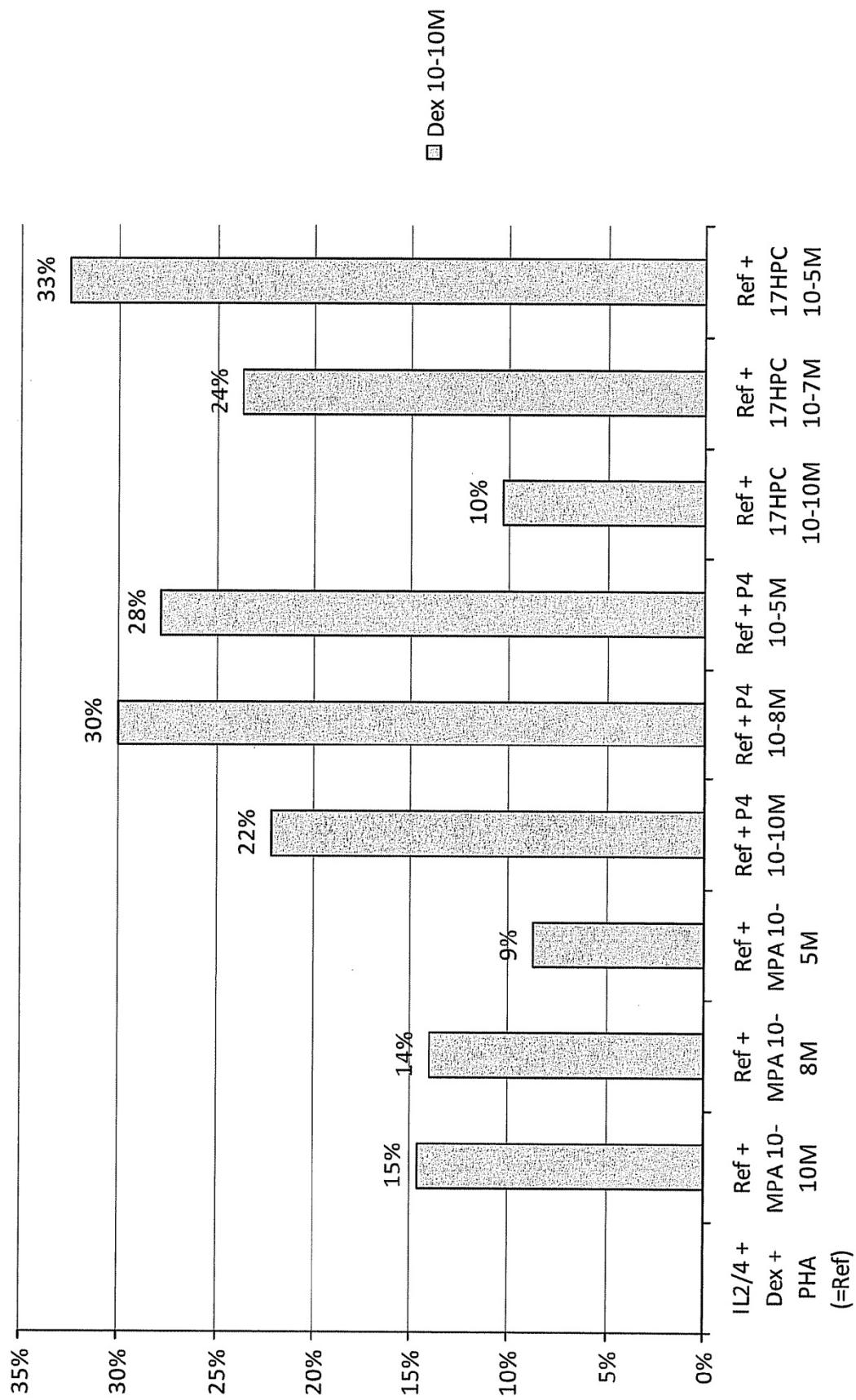


FIG. 4

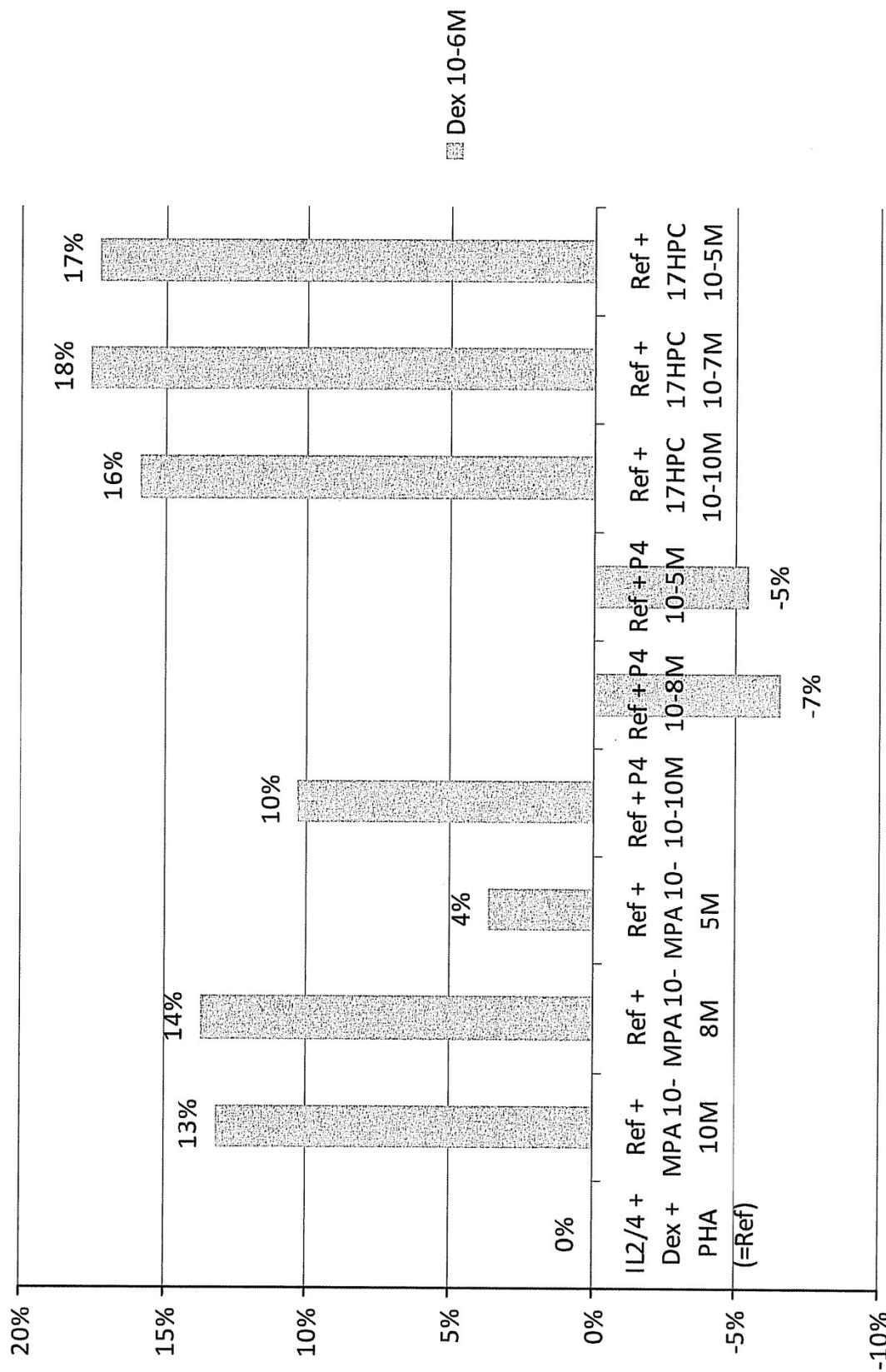


FIG. 5

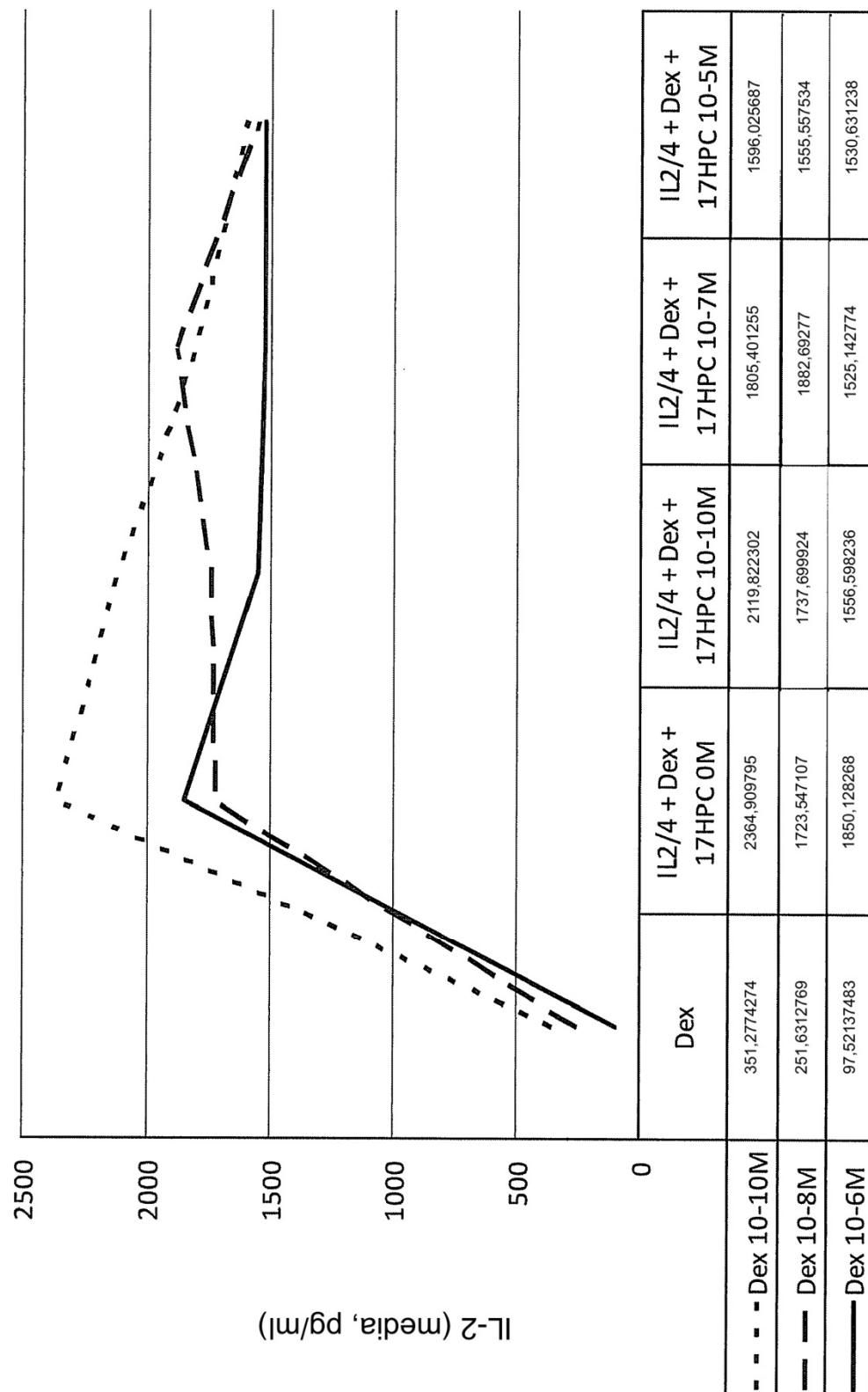


FIG. 6

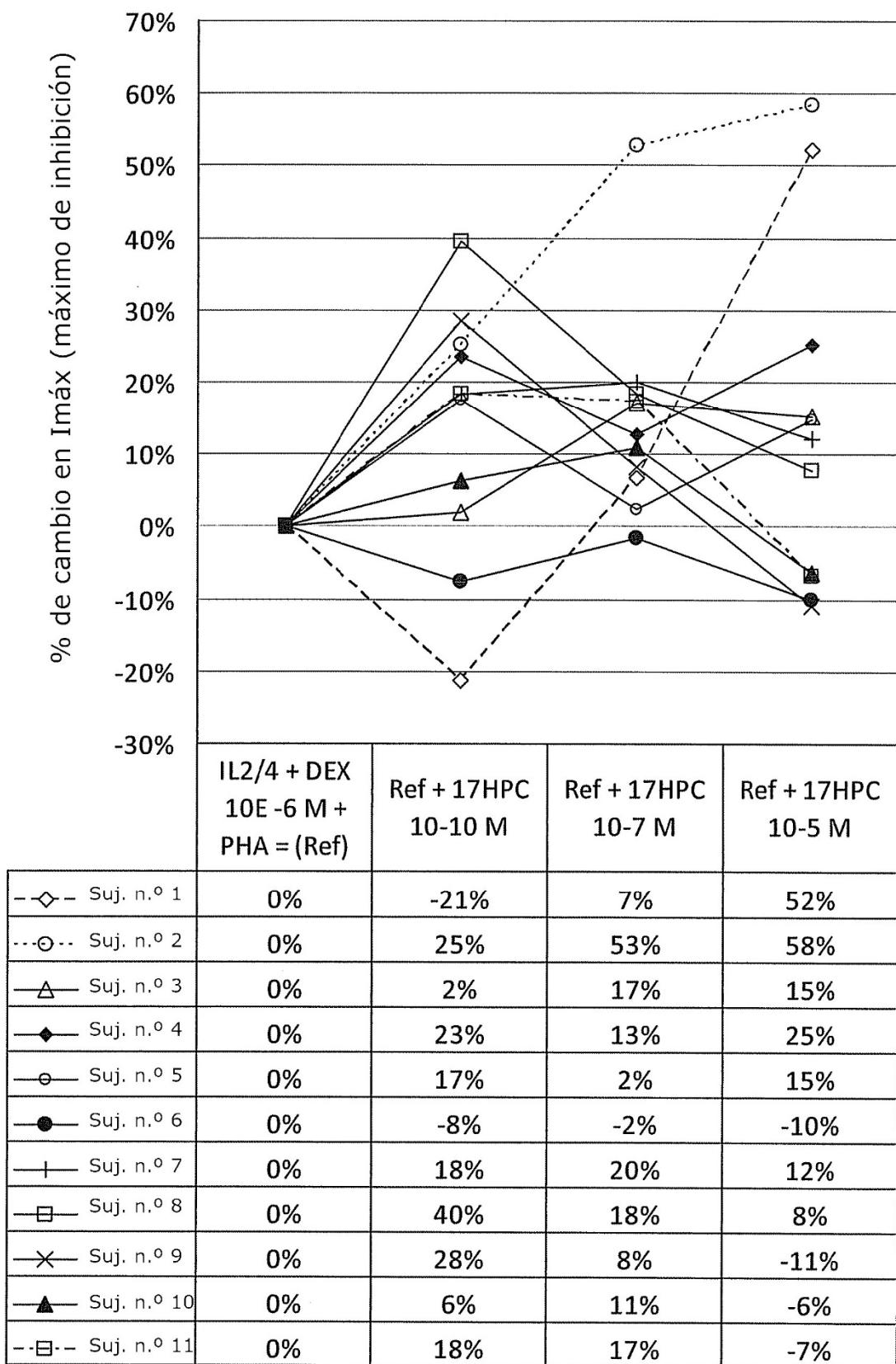


FIG. 7

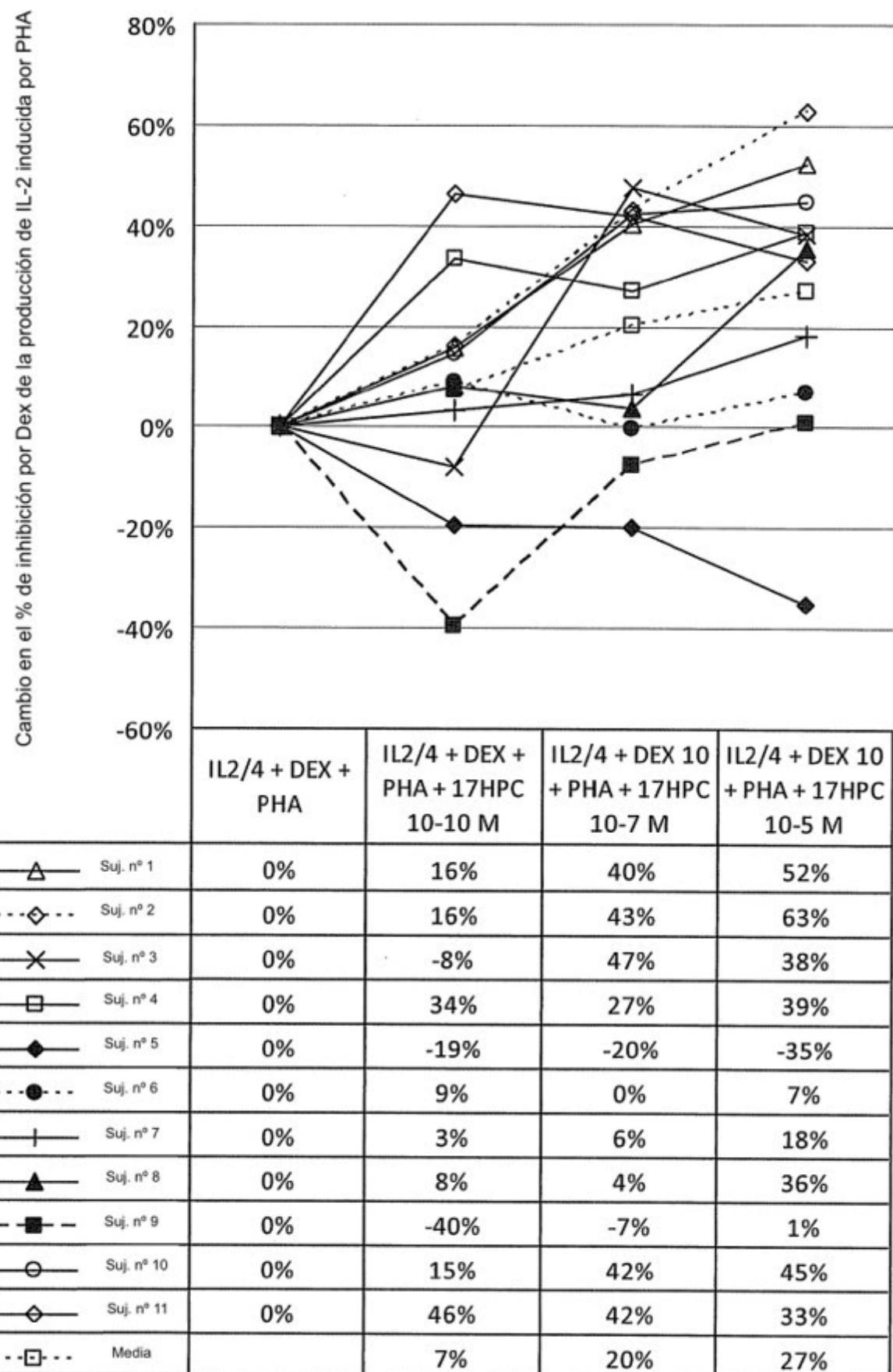


FIG. 8

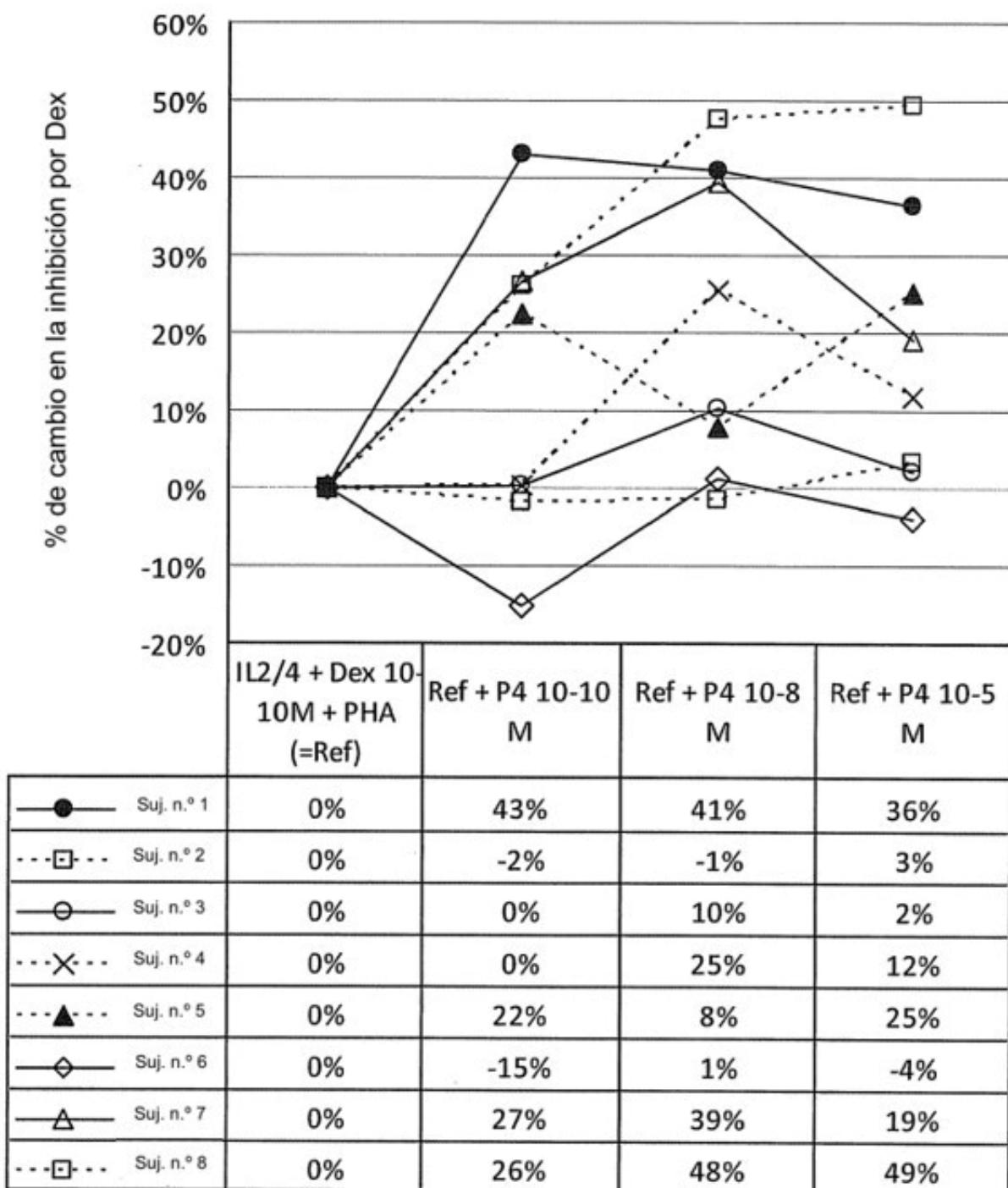


FIG. 9

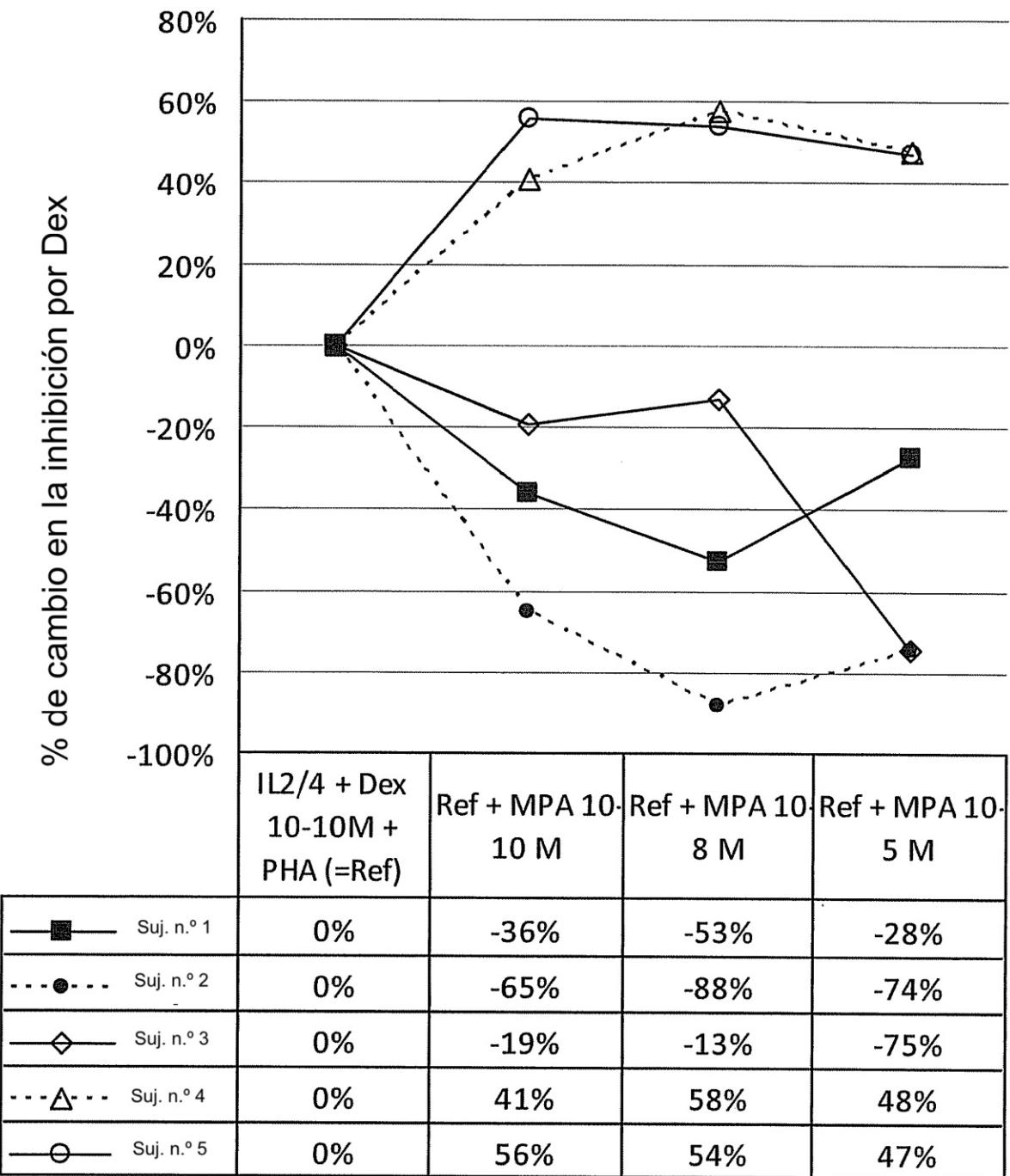


FIG. 10

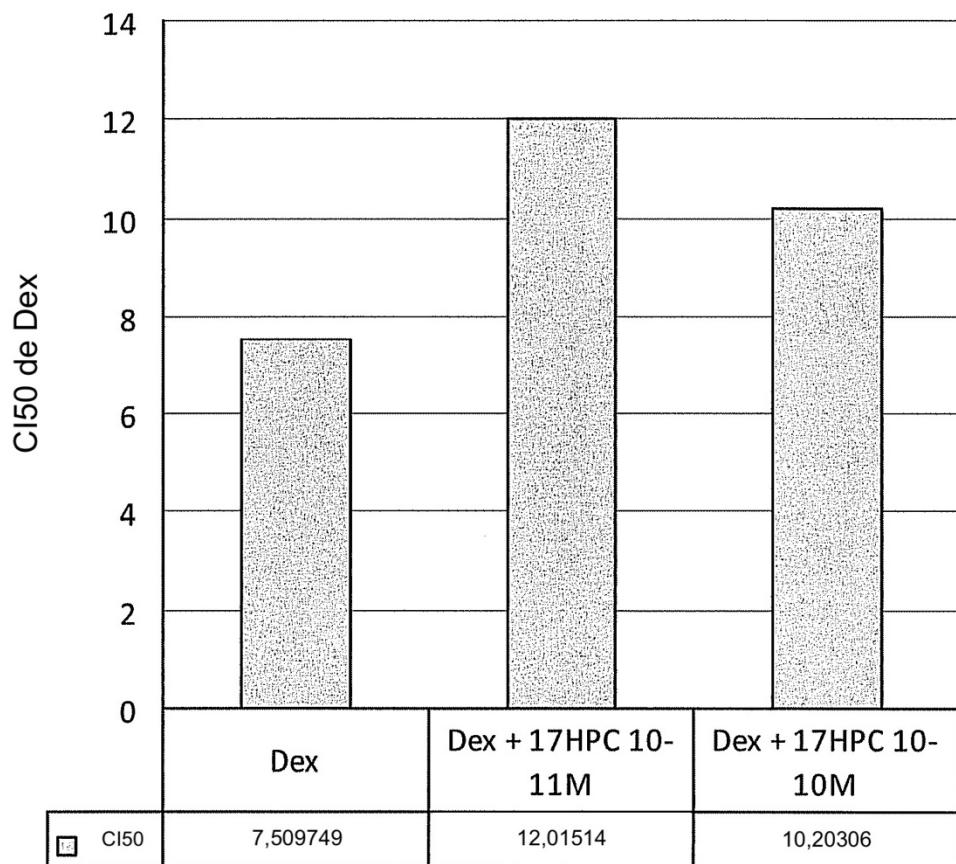


FIG. 11

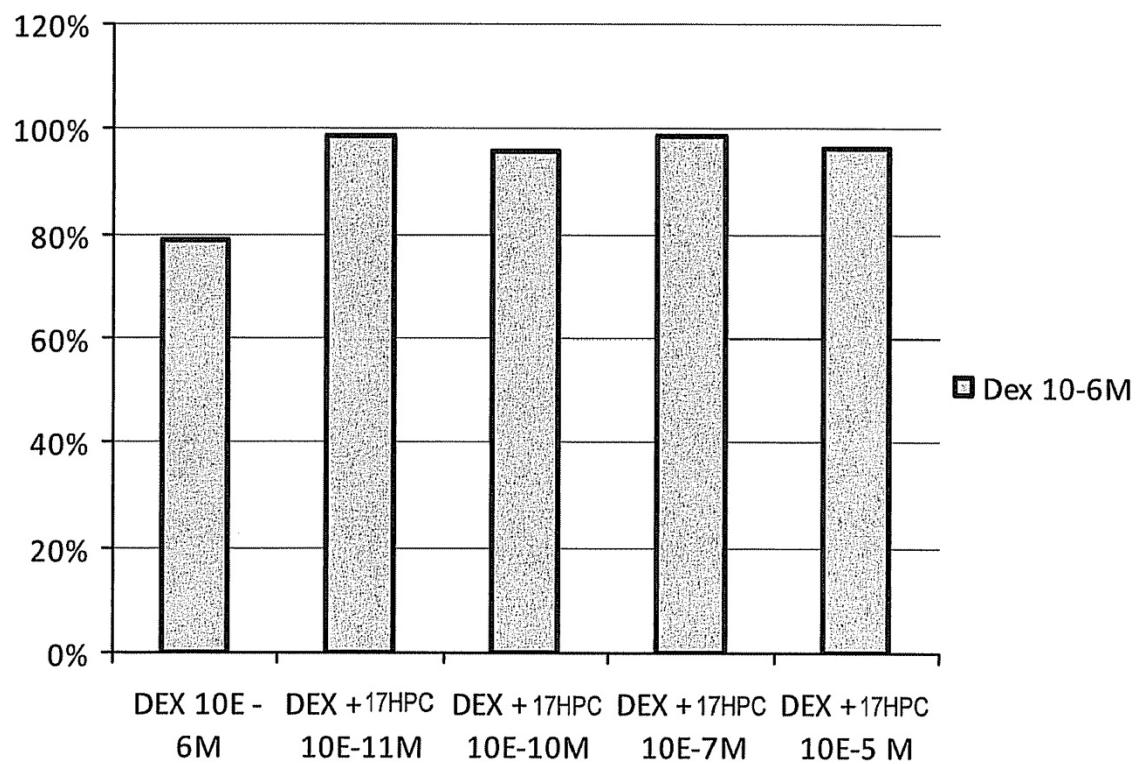


FIG. 12

