



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 314 341**

51 Int. Cl.:
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04101437 .4**
96 Fecha de presentación : **21.03.1994**
97 Número de publicación de la solicitud: **1438970**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.07.2004**

54 Título: **Métodos para inhibir la enfermedad asociada a VIH utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra células T citotóxicas autodestructivas.**

30 Prioridad: **19.03.1993 US 33405**
13.12.1993 US 165751

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2009

73 Titular/es: **D. Allen Allen**
200 W. DeVargas Street, Suite 1
Sante Fe, New Mexico 87501, US

72 Inventor/es: **Allen, D. Allen**

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 314 341 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 inhibir la enfermedad asociada a VIH utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra células T citotóxicas autodestructivas.

5

Campo técnico

La presente invención se refiere de manera general a condiciones patológicas humanas asociadas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y más particularmente a la utilización de anticuerpos monoclonales dirigidos contra linfocitos T citotóxicos autodestructivos o contra sus componentes líticos con el fin de inhibir o tratar enfermedades provocadas o relacionadas con el VIH.

10

Antecedentes de la invención

Varios virus producen infecciones latentes en el hombre y se pueden reactivar produciendo enfermedades recurrentes o persistentes. Una de tales enfermedades es el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). El HIV se asocia con una enfermedad catastrófica progresiva en determinados primates, incluyendo el hombre. Las personas infectadas por VIH experimentan una proliferación de cierto tipo de glóbulos blancos conocidos como linfocitos T citotóxicos (LTC). El estadio final de esta enfermedad se conoce comúnmente como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

15

Es bien conocido en la técnica que los signos y síntomas clínicos del SIDA se deben principalmente a un pérdida profunda de todos los linfocitos marcados con los antígenos CD3 y CD4 (linfocitos T CD4+). También es generalmente aceptado que el agente infeccioso del SIDA es el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Aunque el VIH infecta y destruye las células CD4+, el número de células infectadas no explica adecuadamente la pérdida profunda e indiscriminada de estas células que ocurre en los individuos infectados por VIH. Los expertos en este campo han sugerido que la autoinmunidad podría desempeñar un papel en la patogénesis del SIDA. Sin embargo, pocos han imaginado la existencia de linfocitos T citotóxicos (LTC) patogénicos.

20

Más bien, es aceptado generalmente por los expertos en la materia que los LTC son beneficios para las personas infectadas por VIH debido a que se cree que los LTC ayudan a controlar la infección, es decir, se cree que los LTC son pronosticadores que retrasan la progresión del SIDA. Kilmas *et al.*, *Phase I Trial of Adoptive Therapy with Purified CD8 Cells in HIV Infection, Int. Conf. AIDS*, 19-24 de julio de 1992; Resumen n° POB 3446, por ejemplo, han descrito la infusión de LTC en el flujo sanguíneo de pacientes infectados por VIH como método experimental de tratamiento. Este tipo particular de infusión se dirigió contra las colonias expandidas mitogénicamente de células autólogas CD8+ del paciente-huésped, una población de linfocitos que incluye los LTC.

25

30

Sin embargo, Zarling *et al.*, *HIV-Infected Humans, But Not Chimpanzees, Have Circulating Cytotoxic T-Lymphocytes That Lyse Uninfected CD4+ Cells, J. Immunol.* 144:2992-2998 (1990), han demostrado que los individuos infectados por VIH presentaban LTC autodestructivo anti-CD4 en la sangre circulante que lisaban células CD4+ sanas no infectadas. No se encontraron tales LTC en la sangre de individuos seronegativos para el VIH. Además, no se encontraron tales LTC o tales células suicidas en la sangre de chimpancés infectados por VIH. Esto es significativo porque la infección por VIH se manifiesta como una colonización no patogénica de la sangre y de los tejidos en el chimpancé.

35

Breve resumen de la invención

Los estudios de vacunas para el VIH han demostrado que la reducción de los LTC provoca un incremento en el conteo de CD4 del huésped. La presente invención se basa en la deducción de que, en primer lugar, el motivo de que se reduzca el número de CD4 como resultado de la infección por VIH es que, entre los diversos tipos de LTC, debe existir un LTC autodestructivo anti-CD4. De esta manera, el LTC maladaptativo sintetizado por el hombre es el factor que transforma la infección por VIH en una enfermedad catastrófica. Esto lo corrobora el trabajo de Zarling *et al.*, quienes descubrieron que debido a que la infección por VIH no conduce a ninguna enfermedad grave en el chimpancé, es la célula suicida y autodestructiva anti-CD4, y no el VIH mismo, el directamente responsable de la enfermedad que se asocia a la infección por HIV en el hombre.

40

El papel destructivo del linfocito T citotóxico autodestructivo anti-CD4 se supera de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención a través de la utilización de anticuerpos monoclonales dirigidos contra uno o más antígenos particulares de la célula agresora autodestructiva anti-CD4 o contra los antígenos en los componentes líticos producidos por tal célula agresora. A través de la infusión de anticuerpos monoclonales particulares dirigidos contra tales antígenos, los linfocitos T citotóxicos autodestructivos anti-CD4, o como podría ser el caso, sus componentes líticos, son eliminados de la sangre circulante del paciente-huésped para evitar que un paciente seropositivo para el VIH desarrolle el SIDA o para curar la enfermedad misma si la enfermedad ha avanzado suficientemente hacia el SIDA.

45

De esta manera, es un objetivo fundamental de la presente invención proporcionar un medicamento para prevenir y/o curar la enfermedad del SIDA mediante la eliminación o retirada de los LTC autodestructivos anti-CD4, o sus componentes líticos, de la sangre circulante de un paciente infectado por VIH a través de la infusión de anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos presentados por tales células o por sus componentes líticos.

50

55

Se proporcionan estos y otros objetivos de la invención en un método que transforma el VIH en una infección no grave. Esto se consigue neutralizando o retirando las células suicidas y autodestructivas anti-CD4 de la sangre circulante de un individuo infectado por VIH o que está en riesgo de tal infección.

5 Lo anterior resume algunos de los objetivos más pertinentes de la presente invención. Estos objetivos deben interpretarse como meramente ilustrativos de algunas de las características y aplicaciones más prominentes de la invención. Se pueden conseguir muchos otros resultados beneficiosos aplicando la invención dada a conocer de una manera diferente o modificando la invención como se describirá. Por lo tanto, resultarán evidentes otros objetivos y la invención se pondrá más claramente de manifiesto haciendo referencia a la descripción detallada siguiente de la forma de reali-
10 zación preferida.

Breve descripción de los dibujos

15 Para una comprensión más completa de la presente invención y de sus ventajas, se debe hacer referencia a la siguiente descripción detallada, considerada conjuntamente con los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 es una representación esquemática de la patogénesis del SIDA que muestra el papel de los LTC auto-destructivos anti-CD4 en la progresión de la enfermedad del VIH hacia el SIDA; y

20 La figura 2 es una representación esquemática de un anticuerpo monoclonal S6F1 unido a un antígeno S6F1 sobre el LTC autodestructivo.

Descripción detallada

25 Brevemente, a título de antecedentes, es bien conocido que los linfocitos T citotóxicos ("LTC") son glóbulos blancos que eliminan otras células. Si un LTC elimina células foráneas (tal como bacterias, hongos, virus, cáncer o similares) se considera un linfocito T citotóxico normal. Por otra parte, si el LTC elimina células sanas del cuerpo al que pertenecen las células, se considera un linfocito T citotóxico "autodestructivo". En ambos casos, tales células funcionan típicamente destruyendo la membrana celular de la célula diana utilizando uno o más "componentes líticos",
30 que son compuestos químicos conocidos. El proceso de rotura de la célula diana se denomina "lisis".

Los LTC pertenecen a un grupo de linfocitos que portan un antígeno CD8. Los estudios de vacunas para el VIH han demostrado que la reducción de los LTC provoca que se incremente el conteo de CD4 del paciente-huésped. A partir de esta evidencia, en la actualidad se reconoce que el motivo de que en primer lugar disminuya el conteo de CD4
35 como resultado de la infección por VIH es que, entre los LTC, debe existir un LTC autodestructivo anti-CD4. De esta manera, el SIDA está causado no por la infección misma, sino por unos glóbulos blancos producidos en respuesta a la infección.

La figura 1 es una representación esquemática de lo que se piensa que consiste la patogénesis del SIDA. Como
40 se puede observar en dicha figura, la infección por VIH conduce a la destrucción de las células CD4 a través de la infección y multiplicación de nuevos viriones del VIH. Este proceso genera una señal inmunológica que provoca la proliferación de linfocitos T citotóxicos autodestructivos anti-CD4. Tal como se muestra en la figura 1, estas células portan diversos antígenos conocidos, incluyendo, sin limitación, S6F1, DR, CD8, LFA-1, ICAM y TCR-1. Estas células también incluyen uno o más componentes líticos, que son compuestos químicos utilizados para atacar a la célula
45 diana; tales componentes líticos también incluyen antígenos. Los LTC autodestructivos anti-CD4 o sus componentes líticos destruyen las células CD4 sanas activadas. De esta manera, probablemente el SIDA está causado no por la infección misma sino por los glóbulos blancos producidos en respuesta a la infección.

La presente invención vence la acción destructiva de los LTC autodestructivos anti-CD4 o de sus componentes líti-
50 cos mediante la infusión de anticuerpos monoclonales en el flujo sanguíneo del paciente-huésped. Como es conocido en la técnica, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo fabricado a partir de una célula, de manera que todos los anticuerpos resultantes son iguales. El proceso estándar de producción de anticuerpos monoclonales se describe en, por ejemplo, *Immunology III*, por Joseph A. Bellanti (W.B. Sanders, 1985), en las páginas 99-100. Evidentemente, el método particular para producir los anticuerpos monoclonales no se limita a dicha técnica y se prevé que cualquier téc-
55 nica para producir tales anticuerpos se encuentre dentro de la práctica de la invención. Los anticuerpos están diseñados para dirigirse hacia un antígeno particular del LTC autodestructivo anti-CD4 o hacia un antígeno de los componentes líticos producidos por tal LTC.

Con referencia a la figura 2, se muestra una representación del método particular de tratamiento. Como se puede
60 observar, los anticuerpos monoclonales dirigidos contra un antígeno específico, en este caso el antígeno S6F1 del LTC autodestructivo anti-CD4, son producidos de una manera convencional y se infunden en el flujo sanguíneo del paciente-huésped. Se muestra el anticuerpo monoclonal particular unido al antígeno. Tal apareamiento avisa al sistema inmunológico y desencadena una respuesta inmunológica conocida con el fin de provocar que el organismo intente eliminar la célula del flujo sanguíneo. De esta manera, se destruye la célula LTC autodestructiva anti-CD4. Se utilizaría
65 un mecanismo similar si los anticuerpos monoclonales particulares se dirigiesen hacia un antígeno en un componente lítico producido por la célula LTC.

ES 2 314 341 T3

Según la invención, se dirigen anticuerpos monoclonales a uno o más de los antígenos de la célula LTC o a sus componentes líticos. Bajo algunas circunstancias, puede resultar preferido limitar el tipo de anticuerpos monoclonales a unos antígenos específicos determinados. O puede resultar preferido tratar primero al paciente con un anticuerpo monoclonal particular y después utilizar otro anticuerpo monoclonal a continuación. De esta manera, por ejemplo, debido a que muchas células (aparte de los LTC) portan el antígeno CD8, puede ser deseable limitar la utilización de los anticuerpos monoclonales CD8 hasta que se consiga una mejora inicial en el sistema inmunológico del paciente a través de alguna otra diana antigénica. La presente invención pretende cubrir todas tales variaciones en la secuencia y alcance de cómo se infusionan los anticuerpos monoclonales particulares.

Aunque sin intención de ser limitativo, los anticuerpos monoclonales se infusionan preferentemente una vez al día durante un periodo de entre 45 minutos y una hora. La cantidad de anticuerpos debería ser típicamente de aproximadamente 0,1 miligramos por kilogramo de peso corporal del paciente. El régimen diario se repite preferentemente durante aproximadamente 10 a 14 días o hasta que se obtenga una respuesta inmunológica efectiva. En su utilización en el presente documento, una respuesta inmunológica efectiva significa típicamente que la proporción CD4/CD8 del paciente retorna a niveles normales aceptables. Una respuesta inmunológica efectiva también incluye obtener una mejora en la proporción CD4/CD8 del paciente. Aunque diferentes laboratorios tienen diferentes normas, habitualmente esto significará una proporción de aproximadamente 1:1. Después, pueden ser necesarios tratamientos de mantenimiento, dependiendo del curso de la infección o enfermedad. Preferentemente, deberían medirse los fenotipos linfocíticos del paciente diariamente durante el régimen de tratamiento con el fin de realizar un seguimiento del progreso del tratamiento. Aunque sin intención de ser limitativo, típicamente se utiliza como soporte para los anticuerpos monoclonales un portador adecuado, tal como solución lactato de Ringer o solución salina normal. La infusión puede llevarse a cabo utilizando una bomba de infusión convencional de fabricación conocida.

Tal como se ha discutido anteriormente, la presente invención explota de esta manera la idea de que es el componente inmunogénico de la infección por VIH la que resulta en la progresión del VIH hasta una enfermedad fatal. La importancia de la presente invención es que proporciona un método para eliminar los LTC maladaptativos (o sus componentes líticos) que transforman la infección por VIH en el SIDA. De esta manera, de acuerdo con la invención la enfermedad por VIH puede transformarse a partir de una infección no grave y puede evitarse que la infección por VIH se convierta en una enfermedad grave, si se neutralizan o si se eliminan las células suicidas y/o sus componentes líticos de un individuo infectado por VIH o en riesgo de tal infección.

De esta manera, el método transforma la infección por VIH a través de la infusión de anticuerpos monoclonales dirigidos contra LTC autodestructivos o contra sus componentes líticos. Este enfoque reconoce que los anticuerpos monoclonales tienen un efecto directo y específico en la erradicación de la presencia de antígenos específicos en el cuerpo. De acuerdo con la invención, una dosis necesaria pero suficiente de anticuerpos monoclonales se infunde en el flujo sanguíneo hasta que se han eliminado o neutralizado los LTC autodestructivos y se ha curado la enfermedad VIH, o hasta que los LTC autodestructivos son incapaces de proliferar y de esta manera se ha evitado la enfermedad VIH.

40 *Experimentación*

Un paciente infectado por virus del VIH durante aproximadamente diez años había estado recibiendo tratamiento de inyección de sus propias células T con el fin de conseguir una elevación bifásica de la proporción CD4/CD8. El paciente había respondido a tales inyecciones durante un periodo de aproximadamente quince meses de tratamiento. Durante ese tiempo, el paciente también había recibido ddI durante aproximadamente dos años. Sin embargo, dada el estadio avanzado de la enfermedad del paciente, ambos tratamientos ya no proporcionaban resultados positivos. De hecho, podía cultivarse el VIH a partir de sus células sanguíneas incluso después de diluir su sangre hasta aproximadamente una parte por cada 3.120. Incluso a tal dilución, la antigenemia p24, que es una medida de actividad del VIH, era bastante elevada, de aproximadamente 300 pg/ml.

A continuación, se trató al paciente de acuerdo con el método de la presente invención. En particular, se le administraron 68 mg de anticuerpos anti-S6F1 durante un periodo de 14 días. Los 68 mg correspondían a 1 mg/kg de peso corporal del paciente. Unos pocos días después de completar el tratamiento, el virus del SIDA ya no podía cultivarse a partir de las células sanguíneas circulantes del paciente. De esta manera, el tratamiento de acuerdo con la presente invención reduce la carga viral en la sangre circulante de los pacientes con infección por VIH de largo plazo.

La velocidad con la que desaparecieron las células infecciosas de la sangre circulante del paciente sugiere que algún tipo de fagocito podría haber destruido las células infectadas. De hecho, el paciente experimentó un incremento marcado de monocitos durante el tratamiento y el médico responsable pensó en ese momento que estos monocitos podrían estar destruyendo las células infectadas. Sin embargo, el efecto antiviral también podría deberse al bloqueo de la ruta de adhesión necesaria para la comunicación entre las células que presentan los antígenos, haciendo de esta manera que las células infectadas por VIH fueran no infecciosas.

Dependiendo de la progresión de la enfermedad en el individuo y de otros factores, el intervalo de dosificación varía entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1,0 mg/kg de peso corporal para un paciente tratado de acuerdo con la presente invención.

ES 2 314 341 T3

Una realización alternativa de la presente invención también sirve como medida preventiva para los trabajadores de la salud. En particular, un individuo infectado por VIH que requiera procedimientos médicos o dentales invasivos, se somete a tratamiento de acuerdo con la presente invención previamente a la cirugía o a tales procedimientos. De esta manera, se reduce el número de células infecciosas en la sangre circulante del individuo infectado por VIH, protegiendo de esta manera a los trabajadores de la salud implicados en procedimientos quirúrgicos al reducir la probabilidad de que se expongan al VIH.

Los expertos en la materia deberían apreciar que las realizaciones específicas que se han expuesto anteriormente pueden utilizarse fácilmente como base para modificar o diseñar otras técnicas o procedimientos para llevar a cabo los mismos propósitos de la presente invención. Así, por ejemplo, pueden utilizarse otros vehículos o técnicas de administración de los anticuerpos monoclonales al flujo sanguíneo.

Las afirmaciones siguientes se refieren a la invención pero no forman parte de las reivindicaciones de la presente solicitud.

1. Anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno LFA-1 en el linfocito T citotóxico o sus componentes líticos, para eliminar los linfocitos T citotóxicos CD4 específicos o sus componentes líticos de la sangre circulante del paciente huésped y para prevenir que un paciente huésped con el virus de la inmunodeficiencia humana desarrolle el SIDA.

2. Anticuerpos monoclonales como los descritos en 1, en los que son infundidos por lo menos una vez al día.

3. Anticuerpos monoclonales como los descritos en 2, en los que la infusión es continua sobre una base diaria hasta que se obtiene una proporción CD4/CD8 aceptable.

4. Anticuerpos monoclonales como los descritos en 1, en los que se infunden aproximadamente 0,1 miligramos de anticuerpos monoclonales por cada 1,0 kilogramo de peso corporal del paciente huésped.

ES 2 314 341 T3

REIVINDICACIONES

5 1. Utilización de un anticuerpo monoclonal contra LFA-1 presente en las células T citotóxicas, anti-CD4, autodestructivas portadoras del antígeno CD8, en la preparación de un medicamento para mejorar la proporción CD4/CD8 de un paciente con VIH.

10 2. Utilización según la reivindicación 1, en la que el medicamento es administrado de manera que devuelva la proporción CD4/CD8 de los pacientes a la normal.

10 3. Utilización según la reivindicación 1, en la que la proporción CD4/CD8 deviene 1:1.

15 4. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el medicamento resulta adecuado para la infusión intravenosa.

15 5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el medicamento es infundido por lo menos una vez al día.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

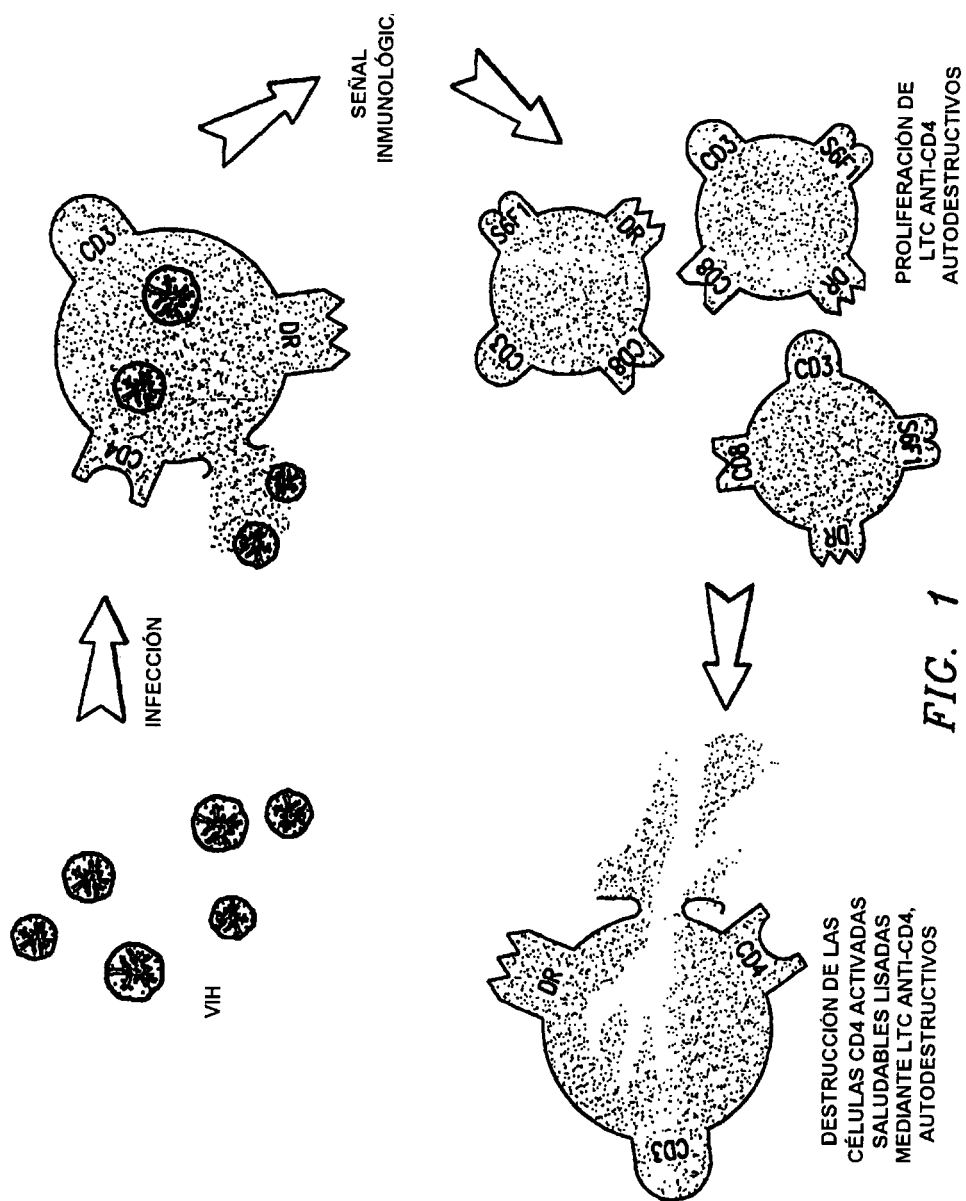


FIG. 1

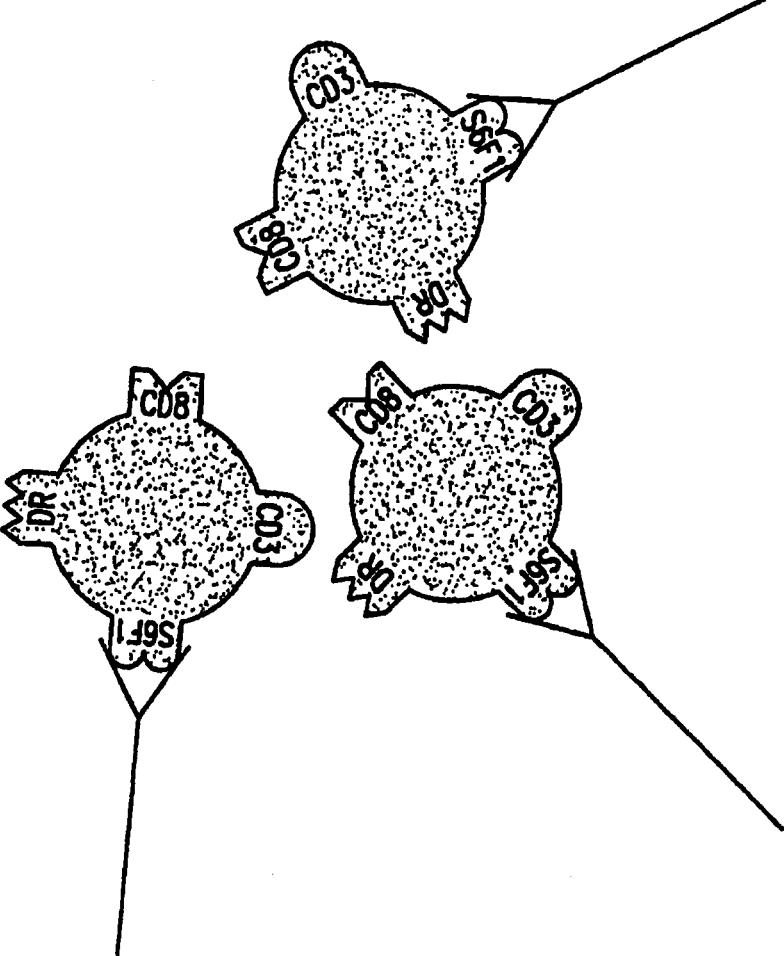


FIG. 2