



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 268 071**

⑤1 Int. Cl.:
A61K 35/12 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧6 Número de solicitud europea: **02759995 .0**
⑧6 Fecha de presentación : **13.09.2002**
⑧7 Número de publicación de la solicitud: **1427428**
⑧7 Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2004**

⑤4 Título: **Vesículas naturales que mimetizan la apoptosis y uso de las mismas en tratamiento médico.**

③0 Prioridad: **18.09.2001 US 323818 P**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2007

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2007

⑦3 Titular/es: **Vasogen Ireland Limited**
Shannon Airport House
Shannon, County Clare, IE

⑦2 Inventor/es: **Bolton, Anthony, E. y**
Mandel, Arkady

⑦4 Agente: **Arias Sanz, Juan**

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

Vesículas naturales que mimetizan la apoptosis y uso de las mismas en tratamiento médico.

Campo de la invención

Esta invención se refiere al uso de vesículas biológicas naturales que presentan fosfatidilserina en su superficie de membrana externa.

Antecedentes de la invención

Se reconocen dos mecanismos de muerte celular en el organismo, necrosis y apoptosis. La apoptosis es el procedimiento de muerte celular programada, descrito por Kerr y col. en 1992 [Kerr, J. F. R., Wyllie A. H., Curie, A. R. (1992)], "Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics". "British Journal of Cancer 26: 239-257", por el cual se mantienen en equilibrio dinámico los niveles de los distintos sistemas orgánicos y tejidos en el organismo ya que división celular continua se equilibra mediante la muerte celular. Las células que sufren apoptosis frecuentemente muestran cambios morfológicos distintivos tales como disminución del volumen celular pronunciada, modificación de los citoesqueletos dando como resultado burbujas en la membrana pronunciadas, una condensación de la cromatina y degradación del ADN en fragmentos de tamaño oligonucleosomal. Tras estos cambios morfológicos, una célula apoptótica puede dividirse en un número de fragmentos pequeños conocidos como cuerpos apoptóticos, que consisten esencialmente en cuerpos unidos a la membrana que contienen orgánulos intactos, cromatina, etc. Normalmente las células apoptóticas y los cuerpos apoptóticos se eliminan rápidamente del organismo mediante fagocitosis principalmente mediante macrófagos y células dendríticas, antes de que puedan llegar a ser lisadas y liberar sus contenidos intracelulares potencialmente pro-inflamatorios.

Los macrófagos que han ingerido células apoptóticas y/o cuerpos apoptóticos parecen inhibir la producción de citocina pro-inflamatoria (Fadok y col., 1998) y además pueden regular a la baja una respuesta Th-1 en el sistema inmune de un paciente tras la inyección de células o cuerpos apoptóticos, o tras la inyección de células susceptibles a apoptosis acelerada, en la fagocitosis de las mismas.

Durante la apoptosis, la fosfatidilserina llega a estar expuesta externamente en la membrana de la célula [Fadok, V. A., Voelker, D. R., Campbell, P. A., Cohen, J. J., Bratton, D. L., Henson, P. M. (1992), "Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages", Journal of Immunology 148:2207-2216] y esta fosfatidilserina expuesta se une a receptores específicos para mediar la absorción y eliminación de células apoptóticas en mamíferos [Fadok, V. A., Bratton, D. L., Rose, D. M., Pearson, A., Exekewitz, R. A. B., Henson, P. M. (2000), "A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells", Nature 405:85-90]. La expresión en superficie de fosfatidilserina en células es un procedimiento reconocido de identificación de células apoptóticas.

La solicitud de patente internacional PCT/EP99/03.136, publicación n° WO99/58.645, inventores Greig, M. Y Barthaleyns, J., describe cuerpos apoptóticos derivados de células tumorales humanas recuperados de la biopsia del tumor de un paciente e indu-

cidos a apoptosis, que proporcionan antígenos eficaces reconocidos por el sistema inmune. Se recuperan para ofrecer oportunidades en inmunoterapia anticancerosa para mejorar las respuestas celular y humoral específicas frente a tumores.

Resumen de la invención

Según la presente invención, se usan vesículas biológicas naturales con membranas que presentan fosfatidilserina en su superficie de membrana externa en la fabricación de un medicamento para aliviar los síntomas de (i) enfermedades inflamatorias, así como de (ii) enfermedades mediadas por células T, enfermedades de disfunción endotelial o enfermedades por expresión de citocina inapropiada en los que están implicadas citocinas pro-inflamatorias o antiinflamatorias. Tales vesículas, al administrarse a un paciente mamífero, mimetizarán el proceso de apoptosis con la consiguiente regulación a la baja de citocinas pro-inflamatorias y/o regulación al alza de citocinas antiinflamatorias. Las células inmunes pueden envolver las entidades en un procedimiento *in vivo* parecido a la apoptosis, con la consiguiente regulación de bajada de citocinas pro-inflamatorias y/o regulación al alza de citocinas antiinflamatorias. Por consiguiente, estas vesículas biológicas naturales pueden usarse con propósitos terapéuticos, para tratamiento o profilaxis de un amplio intervalo de enfermedades de mamíferos en las que estén implicadas citocinas pro-inflamatorias o antiinflamatorias.

Breve referencia al dibujo

La figura adjunta es una representación gráfica de los resultados del ejemplo experimental específico siguiente, concretamente un gráfico de la hinchazón total de la oreja en un modelo de ratón debido a la inflamación (hipersensibilidad por contacto) en animales tratados según la invención y animales de control.

Descripción de las formas de realización preferidas

Las vesículas naturales con membranas usadas en la presente invención son vesículas que presentan fosfatidilserina (FS) en sus superficies de membrana externa. Con la introducción adecuada al organismo del mamífero, por ejemplo mediante inyección intramuscular, las células presentadoras de antígeno tales como macrófagos y células dendríticas parecen buscar las vesículas inyectadas y los grupos de FS de las membranas de las mismas interactúan con los receptores de FS en las células presentadoras de antígeno, dando como resultado un procedimiento similar a la apoptosis de envolver las vesículas con la consiguiente regulación de bajada de citocinas inflamatorias y/o regulación al alza de citocinas antiinflamatorias.

Vesículas biológicas naturales preferidas específicas que presentan FS en una superficie de membrana externa, de interés particular en la presente invención, incluyen las siguientes:

Exosomas, que son microvesículas obtenidas de células cultivadas y que pueden también producirse *in vivo*, por ejemplo, durante la maduración de reticulocitos (véase Trams y col., *Biochimica et Physica Acta*, (1981) 645:63-70; y también Johnstone, *Biochem. Cell. Biol.*, (1982) 70:179-190);

Prostasomas, que son orgánulos extracelulares vesiculares encontrados en plasma seminal (véase Rooney y col., *J. Exp. Med.*, (Mayo 1993) 177:1409-1420);

Vesículas de membrana desprendida de forma in-

ducida o espontánea, es decir, vesículas de membrana desprendida a partir de células como resultado de inducción usando detergentes tales como lisofosfatidilcolina o espontáneamente (véase Feber y col., *Biochimica et Biophysica Acta*, (1980) 595:244-256; también Emerson y col., *The Journal of Immunology*, (agosto 1981) 127(2):482-486);

Procoagulante unido a vesículas de membrana plasmática, es decir actividad similar a la tromboplastina asociada a vesículas de membrana, que se encuentra por ejemplo en fluido de lavado broncoalveolar y derivado de macrófagos alveolares (véase Lyberg y col., *Eur. Respir. J.*, (1990) 3:61-67);

Eritrocitos con pérdida de asimetría de fosfolípidos, es decir eritrocitos con distribución transbica de fosfolípidos aleatoria, simétrica; estos pueden producirse, por ejemplo, mediante el aumento de los niveles de Ca^{++} intracelular (véase Pradham y col., *Molecular Membrane Biology* (1994) 11:181-188);

Plaquetas activadas, plaquetas con actividad procoagulante, que se asocian con la reorientación de FS desde la zona interna a la externa de la bicapa de membrana de la plaqueta (véase Bevers y col., *Biochimica et Biophysica Acta* (1983) 736:57-66); y

Micropartículas derivadas de plaquetas, que son vesículas membranosas o micropartículas liberadas de membranas de plaquetas tras la activación de las plaquetas (véase Gilbert y col., *The Journal of Biological Chemistry*, (16 de septiembre de 1991) 266 (26):17.261-17.268).

Las más preferidas entre las vesículas citadas para su uso en la presente invención son fantasmas eritrocitarios vueltos del revés, que expresan FS en la superficie externa y glóbulos rojos drepanocíticos, que expresan FS en la superficie como parte de la patología (véase Schroit y col., *Biol. Cell* (1984) 51:227-238).

Se proporcionan y se administran a pacientes vesículas biológicas naturales que presentan FS en una superficie de membrana externa que tienen la propiedad de mimetizar células apoptóticas y/o cuerpos apoptóticos ya que son fagocitadas por leucocitos del sistema inmune del paciente con los efectos beneficiosos acompañantes tales como inhibición de la liberación de citocinas pro-inflamatorias y/o promoción de la liberación de citocinas antiinflamatorias. Estas vesículas naturales son cuerpos tridimensionales que tienen formas y dimensiones que comprenden desde aquellas parecidas a células de mamíferos a formas y dimensiones que se aproximan a las de cuerpos apoptóticos producidos por apoptosis de células de mamíferos y tienen grupos FS en las superficies de membrana externa de las mismas.

Como se cita anteriormente, se sabe que la FS expuesta en la membrana externa de una célula juega un papel clave en la eliminación de linfocitos apoptóticos por macrófagos. En macrófagos está presente un receptor para FS. Un "receptor de fosfatidilserina" o "receptor FS" es un receptor en una célula presentadora de antígeno (CPA), tal como un macrófago, cuya actividad se bloquea mediante fosfatidilserina soluble, monomérica u oligomérica. Se contempla que el receptor FS pueda estar presente también en otras CPA, tales como células dendríticas y células B.

En una forma de realización preferida en particular, las vesículas biológicas naturales que presentan FS en una superficie de membrana externa son fantasmas eritrocitarios. Los eritrocitos (glóbulos rojos)

en su estado natural tienen FS en las superficies internas de la membrana celular. Si están vacías de hemoglobina y otros contenidos celulares, se conocen como "fantasmas eritrocitarios" y comprenden efectivamente una vesícula vacía de una membrana eritrocitaria. Estos fantasmas pueden darse la vuelta mediante medios físicos/químicos tales como sometimiento a tensión oxidativa, sometimiento a energía sonora y similares, mediante procedimientos conocidos en la técnica, de modo que presenten FS en la superficie externa de la membrana mientras que mantienen forma vesicular e integridad de membrana. En Steck, T. L., 1974 "Preparation of impermeable inside-out and right-side out vesicles from erythrocyte membranes", en: *Method in Membrane Biology*, Kom, E. D. Ed., Plenum Press, Nueva York 2, 245-281, se describen procedimientos para preparar fantasmas eritrocitarios vueltos del revés.

Hay dos tipos generales de fantasmas eritrocitarios, concretamente fantasmas blancos, en los que la hemoglobina se elimina de los glóbulos rojos sin ruptura significativa de la membrana y fantasmas resellados, en los que la membrana se abre, se extraen los contenidos de la célula y después la membrana se vuelve a ensamblar y sellar. En el procedimiento de la presente invención, puede usarse uno de los dos tipos, o una mezcla de los dos. La preparación de fantasmas blancos se describe en Schow, G., y Passow, H. *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 2, n° 2, 15 de diciembre de 1973, págs. 197-217. La preparación de fantasmas resellados se describe en Bodemann, H. y Passow, H., *J. Membrane Biol.*, 8, 1-26 (1972) y Rohling, O. y Neidhart, B., *Anal. Chem.* 1999, 71, 1077-1082. El origen de los fantasmas eritrocitarios para la presente invención debería ser el mismo o la misma paciente, o un donante compatible. Pueden usarse también glóbulos rojos compatibles de líneas celulares cultivadas.

El uso de plaquetas activadas constituye también una forma de realización preferida de la presente invención. Se sabe que fosfolípidos tales como FS de la membrana plasmática de plaquetas humanas no se distribuyen de manera homogénea entre las dos mitades de la bicapa de membrana. En plaquetas no activadas, FS esta presente casi exclusivamente en la zona interna de la bicapa. La activación de las plaquetas, por ejemplo mediante acción simultánea de trombina y colágeno, provoca que la FS se exponga en la superficie externa de la membrana. Dichas plaquetas activadas son útiles en los procedimientos de la presente invención.

Las vesículas biológicas naturales que presentan FS en una superficie de membrana externa pueden administrarse al paciente mediante cualquier medio adecuado que las ponga en contacto operativo con componentes activos del sistema inmune del paciente. Preferentemente, las vesículas están constituidas en una suspensión líquida en un líquido biocompatible tal como solución salina fisiológica y administradas al paciente vía intra-arterial, intravenosa o más preferentemente vía intramuscular o subcutánea.

Las dosis a administrar de vesículas biológicas naturales que presentan FS en una superficie de membrana externa variarán dependiendo de la naturaleza de la enfermedad del mamífero que se pretenda tratar y de la identidad y características del paciente. Es importante que la cantidad eficaz de vesículas no sea perjudicial para el paciente. Las dosis y regímenes ne-

cesarios son bien conocidos para el médico encargado apropiado. Si se usa la administración vía intraarterial, intravenosa, subcutánea o intramuscular de una suspensión líquida de vesículas, se prefiere administrar, para cada dosis, aproximadamente 0,1-50 ml de líquido, que contenga una cantidad de vesículas de membrana que lleven FS naturales según la invención generalmente equivalente a 1%-1000% del número de células que se encuentran normalmente en un volumen equivalente de la misma sangre o el número de cuerpos apoptóticos que puedan generarse de ellas. Generalmente, el número de tales cuerpos por inyección está en el intervalo de aproximadamente 500 a aproximadamente 20.000.000. El número puede, sin embargo, ser cualquiera de 500 a aproximadamente 2×10^9 y preferentemente de 10.000 a aproximadamente 2×10^9 .

Aunque no se pretende que el ámbito de la presente invención tenga que limitarse a algunas teorías en particular de su forma de funcionamiento, la siguiente se ofrece como una explicación provisional, para un mejor entendimiento de los modos y medios por los que puede ponerse en práctica la invención. Se postula que las células presentadoras de antígeno del sistema inmune del paciente, en particular células presentadoras de antígeno expertas (CPA), que incluyen macrófagos y células dendríticas, absorben las vesículas biológicas naturales que presentan FS en una superficie de membrana externa, de manera similar al modo en el que las absorberían células apoptóticas y cuerpos apoptóticos. Al haber absorbido las vesículas, las CPA inducen una respuesta antiinflamatoria que promueve un cambio en la población de células Th con un incremento en la proporción de células Th2 y/u otras poblaciones de células reguladoras/antiinflamatorias (por ejemplo células Tr1) y una disminución en las células Th1. Las células Th2 y otras células reguladoras segregan citocinas antiinflamatorias tales como interleucina-10, importante para reducir la inflamación.

La presente invención está indicada para su uso en profilaxis y tratamiento de una amplia variedad de enfermedades de mamíferos en las que está implicada la función de células T, inflamación, disfunción endotelial y expresión de citocina inapropiada. Puede seleccionarse para el tratamiento un paciente que tenga, se sospeche que tenga, o sea propenso en particular a contraer dicha enfermedad. "Tratamiento" significa una reducción en los síntomas tal como, pero sin limitarse a, una disminución en la gravedad o número de síntomas de la enfermedad en particular o limitar además el progreso de los síntomas de la enfermedad.

Respecto a las enfermedades por la función de las células T (mediadas por células T), estas son enfermedades autoinmunes que incluyen diabetes, esclerodermia, psoriasis y artritis reumatoide. La invención está indicada para el uso con reacciones alérgicas inflamatorias, enfermedades de reacción a trasplante de órganos o células e infecciones microbianas que causen aumento de las reacciones inflamatorias. Está también indicada para usar como preacondicionamiento frente a ingestión de venenos, exposición a productos químicos tóxicos, daño por radiación y exposición a sustancias irritantes transportadas por aire o transportadas por agua, etc, que causan daño por inflamación. Está indicada también para enfermedades inflamatorias, alérgicas y mediadas por células T de órganos internos tales como riñón, hígado, corazón, etc.

Respecto a enfermedades que suponen expresión de citocina inapropiada para las que está indicada la presente invención, estas incluyen enfermedades neurodegenerativas. Las enfermedades neurodegenerativas, que incluyen síndrome de Down, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson, se asocian con niveles aumentados de ciertas citocinas, que incluyen interleucina-1 β (IL-1 β) [véase Griffin WST, Stanley, L. C., Ling, C., White, L., Macleod, V., Perrot, L. HJ., White, C. L., Araoz, C., 1989). La interleucina 1 de cerebro y la inmunoreactividad S-100, están elevadas en síndrome de Down y enfermedad de Alzheimer (datos de la Academia Nacional de las Ciencias de EE. UU., 86:7611-7615; Mogi, M., Harada, M., Narabayashi, H., Inagaki, H., Minami, M. Nagatsu, T. (1996)). Los niveles de interleucina (IL)-1 beta, IL-1, IL-4, IL-6 y factor de crecimiento transformador alfa, están elevados en líquido cefalorraquídeo ventricular en parkinsonismo juvenil y enfermedad de Parkinson (Neuroscience Letters **211**: 13-16). Se ha mostrado también que IL-1 β inhibe la potenciación a largo plazo en el hipocampo [Murray, C. A., Lynch, M. A. (1998). Evidence that increased hippocampal expression of the cytokine interleukin-1 β is a common trigger for age and stress-induced impairments in long-term potentiation. Journal of Neuroscience **18**: 2974-2981]. La potenciación en el hipocampo a largo plazo es una forma de plasticidad sináptica y se considera generalmente como un modelo apropiado para la memoria y el aprendizaje [Bliss, T. V. P., Collinridge, G. L., (1993). A synaptic modelo f memory: long-term potentiation in the hippocampus, Nature **361**: 31-39]. Además, la expresión de citocina inapropiada en el cerebro se cree actualmente que está implicada en el desarrollo y progresión de enfermedades neurodegenerativas.

Además, la invención está indicada para el tratamiento y profilaxis de una amplia variedad de enfermedades neurodegenerativas y neurológicas de mamíferos, que incluyen síndrome de Down, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, demencia senil, depresión, esclerosis múltiple, enfermedad de Huntington, neuropatías periféricas, enfermedades de la médula espinal, enfermedades de las uniones neuropáticas, enfermedad desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatías que incluyen mononeuropatías, polineuropatías, neuropatía sensorial distal simétrica, enfermedades de las uniones neuromusculares, miastenias y esclerosis lateral amiotrófica.

En lo que respecta a enfermedades que suponen disfunción endotelial, la presente invención está indicada para el tratamiento y profilaxis de una amplia variedad de tales enfermedades de mamíferos que incluyen, pero no están limitadas a, enfermedades cardiovasculares, tales como aterosclerosis, enfermedad vascular periférica, fallo cardíaco congestivo, derrame cerebral, infarto de miocardio, angina de pecho, hipertensión, etc, enfermedades vasoespásticas tales como enfermedad de Raynaud, síndrome X cardíaco, migraña, etc y el perjuicio que resulta de la isquemia (daño isquémico o daño por isquemia-reperusión). En resumen, puede ser sustancialmente cualquier enfermedad que resulte de un funcionamiento inapropiado del endotelio.

La invención se describe además con propósitos ilustrativos en los siguientes ejemplos específicos. Ejemplo

Este ejemplo muestra el efecto de la inyección

de fantasmas eritrocitarios en la oreja hinchada en el modelo murino con hipersensibilidad por contacto (CHS). Este es un modelo preclínico bien conocido y bien aceptado de inflamación como resultado tras la regulación a la baja de células Th-1 o cambio de fenotipo Th-2.

Se prepararon los fantasmas a partir de sangre con citrato sódico obtenida de ratones sinérgicos. Se diluyó la sangre con un volumen igual de tampón fosfato isotónico salino helado (PBS) (300 mOsm). Después de centrifugación a 2000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente, se eliminan el plasma y la capa leuco-plaquetaria y se lava de nuevo 3 veces con PBS isotónico frío. Un 50% de la suspensión celular (v/v) se preparó en el tampón fosfato. Se llevó a cabo hemolisis añadiendo 1:15 tampón fosfato (20 mOsm). Esta solución se dejó en hielo durante 10 minutos. Se pusieron en libertad los fantasmas incubando las células a 37 grados C durante 40 minutos. Se centrifugaron después las células durante 5 minutos a 2000 rpm a temperatura ambiente y se volvieron a suspender en PBS isotónico.

Se consiguieron de Laboratorios Jackson ratones hembra BALB/c, 6-8 semanas de edad, que pesaban 22-25 g. Se prepararon fantasmas eritrocitarios según lo anterior.

Se asignaron algunos ratones al grupo A, control y no recibieron inyecciones. Otros ratones se asignaron al grupo B y recibieron inyecciones de suspensiones de fantasmas eritrocitarios.

Se llevaron a cabo los experimentos en 7 días. El día 1 tuvo lugar la sensibilización. Para los propósitos de sensibilización, ratones del grupo B recibieron sus inyecciones de fantasmas eritrocitarios durante el día 1 y fueron anestesiados usando inyección intraperitoneal (IP) de 0,2 ml de 5 mg/ml de pentobarbital sódico. Se pulverizó la piel del abdomen del ratón con

ETOH 70%. Se usó una cuchilla para eliminar aproximadamente 2,54 centímetros de diámetro de piel del abdomen. El área descubierta se pintó con 25 μ l de 2,4-dinitrofluorobenceno (DNFB) al 0,5% en acetona:aceite de oliva 4:1 usando una punta de pipeta. Los ratones control del grupo A se sensibilizaron de forma similar, en el mismo día.

En cada uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7, se inyectaron los ratones experimentales con fantasmas eritrocitarios suspendidos en solución salina fisiológica, el volumen de 50 μ l que contiene aproximadamente 600.000 cuerpos, inyección vía intramuscular (IM). El día 6, tras la inyección de cada día, se estimularon a los ratones con DNFB de la siguiente manera: se pintó la superficie dorsal de la oreja derecha con 10 μ l de DNFB 0,2% con una punta de pipeta y se pintó la oreja izquierda con 10 μ l del vehículo con una punta de pipeta.

El día 7, 24 horas después de la estimulación, se midió el espesor de la oreja usando un micrómetro de resorte Peacock, estando los animales anestesiados localmente con halotano. Se usó el aumento en la inflamación de la oreja como una medida de la respuesta CHS. El dato se expresa como la diferencia entre el espesor de la oreja derecha tratada menos el espesor de la oreja izquierda tratada con el vehículo, en micrómetros. Los resultados se muestran en la figura adjunta, mostrando un gráfico de barras la inflamación de la oreja total (media de los animales en cada grupo). La barra A es el resultado del grupo de control, la barra B de esos animales tratados con las composiciones de fantasmas. La diferencia significativa entre los dos grupos experimentales se determinó mediante la prueba t de Student de dos colas. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. El grupo experimental B muestra mejora estadísticamente significativa (18%) sobre el grupo de control, que no recibió inyecciones.

REIVINDICACIONES

1. Uso en la fabricación de un medicamento para aliviar los síntomas de (i) enfermedades inflamatorias, así como de (ii) enfermedades mediadas por células T, enfermedades de disfunción endotelial o enfermedades por expresión de citocina inapropiada, en el que están implicadas citocinas pro-inflamatorias o antiinflamatorias, de vesículas biológicas naturales que presentan fosfatidilserina en su superficie de membrana externa.

2. Uso según la reivindicación 1 en el que las vesículas biológicas naturales se seleccionan entre exosomas, prostasomas, vesículas con membrana desprendida de forma inducida o espontánea, procoagulante unido a membrana plasmática de vesículas, fantasmas eritrocitarios vueltos del revés, glóbulos rojos drepanocíticos, eritrocitos con pérdida de asimetría de fosfolípidos, plaquetas activadas, plaquetas con actividad procoagulante y micropartículas derivadas de plaquetas.

3. Uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que las vesículas son fantasmas eritrocitarios vueltos del revés.

4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las vesículas se usan en

cantidades de $500-10^9$ por unidad de dosis.

5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad autoinmune en el paciente.

6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad neurodegenerativa en el paciente.

7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad por disfunción endotelial defectiva en el paciente.

8. Uso según la reivindicación 3, en el que los fantasmas eritrocitarios se usan en cantidades de $500-10^9$ por unidad de dosis.

9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para administración mediante inyección intramuscular.

10. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4 a 7 ó 9, en el que las vesículas biológicas naturales son plaquetas activadas.

11. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4 a 7 ó 9, en el que las vesículas biológicas naturales son glóbulos rojos drepanocíticos.

12. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4 a 7 ó 9, en el que las vesículas biológicas naturales son exosomas.

30

35

40

45

50

55

60

65

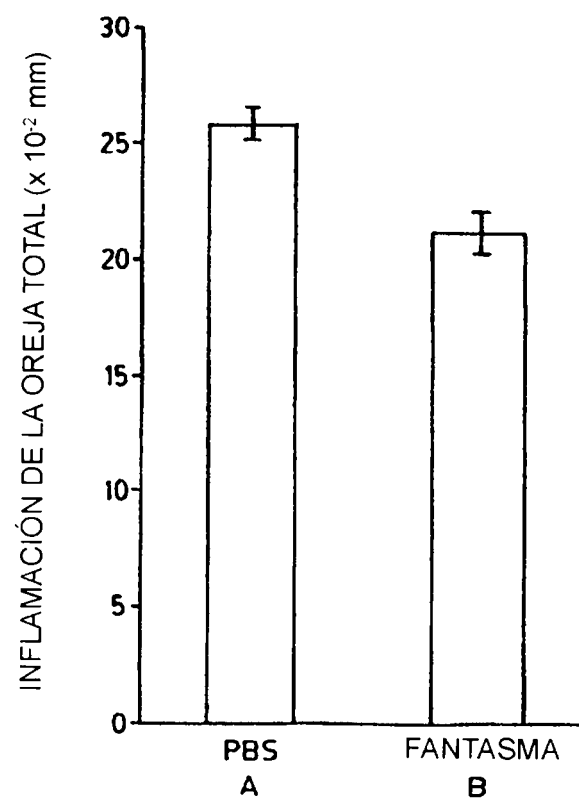


FIG. 1