



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 356 158**

51 Int. Cl.:
A61K 38/36 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05008693 .3**
96 Fecha de presentación : **21.04.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1593390**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.11.2005**

54 Título: **Concentrados de proteínas plasmáticas terapéuticos que contienen factor von Willebrand en calidad de multímeros de elevado peso molecular.**

30 Prioridad: **05.05.2004 EP 04010721**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.04.2011

73 Titular/es: **CSL BEHRING GmbH**
Emil-von-Behring-Strasse 76
35041 Marburg, DE

72 Inventor/es: **Hauser, Hans-Peter y**
Walter, Olaf

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 356 158 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**Concentrados de proteínas plasmáticas terapéuticos que contienen factor von willebrand en calidad de multímeros de elevado peso molecular**

5 El uso de concentrados de proteínas plasmáticas que contienen VWF con una elevada proporción de multímeros de elevado peso molecular previene una diátesis hemorrágica y reduce la pérdida de sangre pre-, peri- y post-operativa en síndromes de von Willebrand adquiridos, preferiblemente en enfermedades cardiovasculares que requieren procesos quirúrgicos, especialmente las que requieren una circulación extracorpórea.

Campo de la invención:

10 La presente invención se refiere al uso profiláctico y terapéutico de concentrados de proteínas plasmáticas que contienen factor von Willebrand (VWF) con una elevada proporción de multímeros de elevado peso molecular para prevenir una diátesis hemorrágica en el síndrome de von Willebrand adquirido (VWS- siglas en inglés), preferiblemente el VWS de tipo 2A tal como en enfermedades cardiovasculares, en especial estenosis aórtica, o durante la circulación extracorpórea (ECC - siglas en inglés).
15 Mediante el uso profiláctico de concentrados adecuados de VWF se puede minimizar el número de episodios hemorrágicos y la pérdida de sangre durante los procesos quirúrgicos tales como cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (ECC).

Antecedentes de la invención:

20 Los seres humanos han desarrollado un sistema hemostático complicado, diseñado para mantener a la sangre en un estado fluido bajo condiciones fisiológicas, pero presto para reaccionar frente a una lesión vascular al sellar el defecto en la pared del vaso. Las primeras etapas de este proceso de sellado, denominado hemostasis primaria, implica la unión de plaquetas, medida por VWF, al sitio de la lesión del vaso. Las reacciones incluyen la adhesión de plaquetas al extremo cortado de un vaso sanguíneo, la extensión de plaquetas adherentes sobre la superficie expuesta del subendotelio, la
25 secreción de constituyentes de plaquetas almacenados y la formación de grandes agregados de plaquetas. En un proceso denominado hemostasis secundaria, la membrana de las plaquetas se vuelve disponible para la adsorción y concentración de factores de coagulación de la sangre, dando como resultado la formación de una red de fibrina que refuerza al tapón de plaquetas, por lo demás frágil.

30 El VWF juega un papel esencial en las primeras etapas de la hemostasis primaria. El VWF no se une al endotelio intacto sino que se fija, a través de su receptor de colágeno, al subendotelio expuesto. Esta fijación conduce a un despliegue de VWF que lleva a su dominio A1 a una conformación capaz de unirse a plaquetas GP1b. Mientras que el VWF puede también interactuar con otros receptores plaquetarios tales como GPIIb/IIIa, y mientras que las plaquetas pueden adherirse al subendotelio también a través de otros receptores tales como receptores de colágeno específicos en condiciones de una alta
35 velocidad de cizalla que se produce, por ejemplo, en vasos estenosados, la interacción entre VWF-A1 y plaquetas GP1b, es esencial para amarrar las plaquetas al endotelio dañado. Después de unir las plaquetas a través de GPIb a VWF-A1, el receptor GPIIb/IIIa queda expuesto sobre la superficie de las plaquetas, el cual se une al fibrinógeno y conduce a la subsiguiente agregación de plaquetas.

40 El VWF se produce en células del endotelio y en megacariocitos en forma de un prepropéptido con una longitud de 2813 aminoácidos, que consiste en un péptido señal de 22 aminoácidos, un propéptido de 741 aminoácidos y un VWF maduro de 2050 aminoácidos.

45 Después de la escisión del péptido señal en el retículo endoplásmico, se forma un puente disulfuro C-terminal entre dos monómeros de VWF. Durante el transporte ulterior a través de la vía secretora, se añaden cadenas laterales de hidratos de carbono enlazadas a 12 N y enlazadas a 10 O. De manera más importante, un propéptido con una longitud de 741 aminoácidos se separa por escisión por parte de la enzima furina en el aparato de Golgi tardío y dímeros de VWF se multimerizan a través de puentes disulfuro N-terminales. El propéptido, así como los multímeros de alto peso molecular de VWF (VWF-HMWM – siglas en inglés) se almacenan en los cuerpos de Weibel-Pallade de células endoteliales o en los gránulos α de plaquetas.

50 Una vez secretado en el plasma, la proteasa ADAMTS13 escinde al VWF dentro del dominio A1 de VWF. Por lo tanto, el VWF del plasma consiste en una gama completa de multímeros que oscilan entre multímeros sencillos de 500 kDa a multímeros que consisten en hasta más de 20 dímeros de un peso

molecular superior a 10.000 kDa. Con ello, los VWF-HMWM tienen la actividad hemostática más intensa, la cual se puede medir en la actividad del cofactor de ristocetina (VWF:RCo). Cuanto más alta sea la relación de VWF:RCo/antígeno de VWF, tanto mayor será la cantidad relativa de multímeros de elevado peso molecular. Alternativas para la determinación del contenido en VWF-HMWM es la determinación de la relación del ensayo de unión a colágeno de VWF (VWF:CB – siglas en inglés) a antígeno de VWF que también disminuye cuando faltan los VWF-HMWM, o la elevación del tiempo de cierre en el analizador de la función plaquetaria PFA-100 o un análisis de multímeros basado en gel.

Defectos en el VWF son la causa en la enfermedad de von Willebrand (VWD – siglas en inglés) que se caracteriza por un fenotipo de hemorragia más o menos pronunciado. La VWD tipo 3 es la forma más grave en la que falta por completo el VWF. La VWD tipo 1 se refiere a una pérdida cuantitativa de VWF y su fenotipo puede ser muy suave. La VWD tipo 2 se refiere a defectos cualitativos del VWF y puede ser tan grave como la VWD tipo 3. La VWD tipo 2 tiene muchas subformas, estando algunas de ellas asociadas con la pérdida o la disminución de multímeros de elevado peso molecular. El síndrome de von Willebrand tipo 2a (VWS-2a) se caracteriza por una pérdida tanto de multímeros intermedios como grandes. VWS-2B se caracteriza por una pérdida de multímeros del peso molecular más elevado.

La invención se refiere al descubrimiento sorprendente de que un VWS adquirido, que conduce a una diátesis hemorrágica, especialmente en enfermedades cardiovasculares (p. ej. estenosis aórtica), la pérdida de sangre se puede reducir o evitar mediante la administración de concentrados de proteínas plasmáticas que contienen VWF con una elevada proporción de multímeros de elevado peso molecular.

La asociación de fenómenos de hemorragia con enfermedades cardíacas ha sido discutida en varias publicaciones en el pasado.

- Heyde (N Engl J Med. 1958; 259:196) describió una asociación no explicada de estenosis aórtica con fenómenos de sangría gastrointestinal (Síndrome de Heyde).

Varios autores publicaron el uso de desmopresina para tratar hemorragias asociadas con la cirugía cardíaca con resultados conflictivos. Ozkisacik et al. 2001, J Cardiovasc Surg 42: 741-7) encontraron que un grupo de pacientes sometidos a una derivación cardiopulmonar, tratados con desmopresina, no diferían con respecto a la pérdida de sangre, así como con respecto al número de transfusiones sanguíneas del grupo testigo, a pesar de que el grupo con desmopresina tenía elevados niveles de VWF. Dado que la desmopresina determina un ligero aumento o una caída transitoria de la presión arterial y un incremento compensatorio en la frecuencia cardíaca, no se recomienda para la terapia en cirugía cardíaca y en pacientes con insuficiencia arterial coronaria.

- Warkentin et al. (Lancet, 1992 340: 35-7) propuso que una válvula en la arteria estenótica podría conducir a una deficiencia reversible de los multímeros más mayores de VWF, un defecto equivalente a VWS-2 a.

Pareti et al. (Circulation 2000, 102:1290-1295) encontraron que la corrección de la estenosis de válvula aórtica conduce a una agregación incrementada de plaquetas inducida por cizalla con un aumento concomitante en VWF-HMWM. Pareti encontró que en pacientes de corazón con una tendencia a la sangría, el modelo de VWF HMWM era anormal con respecto a aquellos pacientes sin una tendencia a la sangría, pero, a pesar de estos datos, concluye que el tratamiento de complicaciones hemorrágicas en pacientes de corazón con concentrados adecuados de VWF para normalizar los niveles en plasma de multímeros de VWF grandes pudiera ser beneficioso, sin indicar datos que demuestren la eficacia de un tratamiento de este tipo.

- Veyradier et al. (Thromb. Haemost. 2000, 84: 175-82) enumera como una de las causas del VWS adquirido, el elevado estrés de cizalla debido a la estenosis aórtica. Como opción terapéutica, se sugiere el reemplazo de la válvula. La infusión de desmopresina y concentrado de VWF puede ser sólo en parte eficaz y puede considerarse como insuficiente sola debido a la corta semivida del VWF.

- Veyradier et al. (Gastroenterology, 2001, 120: 346-353) añaden una prueba adicional al enlace entre la sangría digestiva y la pérdida de VWF HMWM, dado que 8 de 9 pacientes con angiodisplasia sangrante gastrointestinal tenían niveles reducidos de multímeros VWF-HMW.

- Vincentelli et al., (NEJM 2003, 349: 343-349) muestran que en una fase tan temprana como 3 horas después del reemplazo de la válvula vuelven a aparecer VWF-HMWM. Los autores también relacionan la elevada diátesis hemorrágica a la pérdida de VWF-HMWM debido a las altas velocidades de

cizalla provocadas por la estenosis aórtica y prosiguen señalando que las posibilidades terapéuticas para el control de la hemorragia son limitadas y recomiendan un reemplazo de la válvula como mejor opción terapéutica.

- 5 • Warkentin (Transfusion Medicine Reviews 2003, 17: 272-286) discute las opciones terapéuticas de una sangría aguda, secundaria a la angiodisplasia, en enfermedades cardiovasculares. Se discute el uso de somatostatina, octreotida y rFVIIa. El autor establece que en la indicación enfermedad cardiovascular existe poca experiencia con terapias tradicionales para la VWD, tal como desmopresina y concentrados de FVIII/ VWF y prosigue señalando que los concentrados de factores son relativamente deficientes en los VWF-HMWM y, por lo tanto, pueden proporcionar, en todo caso, un beneficio mínimo.

10 En conclusión, la técnica anterior sugiere que altas velocidades de cizalla debidas a la estenosis vascular conducen a una pérdida preferencial de VWF-HMWM, dando como resultado un fenotipo de hemorragia similar al de VWS-2A. Hasta la fecha, no se ha demostrado prevención fructuosa de la diátesis hemorrágica con concentrados de VWF. Por lo tanto, en la técnica anterior tampoco se encuentra enseñanza alguna sobre la selección de pacientes, dosificación, modalidad de tratamiento (bolo, dosis repetidas, infusión continua y la frecuencia y duración) para la prevención de diátesis hemorrágicas de este tipo con concentrados de VWF.

15 Debido a turbulencias mecánicas, la circulación extracorpórea (ECC), también utilizada en la cirugía cardiaca, puede, per se, añadirse a la pérdida de VWF-HMWM. Además, se ha demostrado que la interacción de la sangre con las superficies sintéticas de la máquina corazón-pulmón durante la ECC aumenta la activación de plaquetas y, por lo tanto, la liberación de gránulos alfa. Por lo tanto, en la fase post- operativa inmediata, estas organelas de almacenamiento están agotadas de VWF y ya no pueden contribuir en la hemostasis primaria. Además, la infusión de protamina para neutralizar heparina después de cirugía cardiaca afecta negativamente a la unión de VWF a las plaquetas (Barstad et al. 2000, Thromb Haemost 83: 334-7). Todos estos mecanismos influyen negativamente sobre la hemostasis primaria y se añaden al efecto beneficioso de la infusión profiláctica pre-, peri- y post-operativa de concentrados de VWF en la cirugía cardiaca.

20 La esencia de esta invención es que, sorprendentemente, se ha encontrado que siguiendo determinados criterios de selección de pacientes, profilaxis y directrices de tratamiento, los concentrados de VWF se pueden utilizar con éxito para prevenir una diátesis hemorrágica y para reducir la pérdida de sangre pre-, peri- y post-operativa en síndromes de von Willebrand adquiridos, preferiblemente en enfermedades cardiovasculares que requieren procesos quirúrgicos, especialmente las que requieren una circulación extracorpórea.

25 Dado que es necesario reconstituir el contenido normal de HMWM-VWF, no todos los concentrados de VWF son igualmente bien adecuados para la prevención de la hemorragia en las indicaciones descritas. Por ejemplo, Humate®/Haemate® (Aventis Behring GmbH, Emil-von-Behring-Straße 76, 35041 Marburg, Alemania), ha demostrado tener un contenido de VWF-HMWM del 83%-94%, en comparación con el 100% de los VWF-HMWM en plasma sanguíneo humano normal, mientras que otros concentrados de VWF actualmente disponibles en el comercio contienen solamente 3,9% a 35,9% de HMWM-VWF en comparación con el 100% de HMWM- VWF en plasma sanguíneo humano normal (Metzner et al., Haemophilia 1998, Walter et al. J. Thromb. Haemst. 2003). Por lo tanto, con respecto a la presente invención, se prefieren concentrados de VWF que no contengan más del 75%, de forma menos preferida aquellos que contengan más del 50%, e incluso menos preferiblemente aquellos que contengan menos del 50% de los VWF-HMWM en comparación con el 100% de HMWM-VWF en plasma sanguíneo humano normal.

45 **Descripción detallada de la invención**

La invención concierne a prevenir o tratar una diátesis hemorrágica debida al VWS adquirido asociado con una pérdida concomitante de VWF-HMWM y/o a una interacción de GPIb-VWF de plaquetas deteriorada en condiciones clínicas, preferentemente enfermedades cardiovasculares o renales, de preferencia aquellas que requieren una ECC y/o una administración de sulfato de protamina, aplicando determinadas directrices en la selección de pacientes dispuestos a someterse a una terapia de este tipo:

50 En estados clínicos que conducen a una pérdida específica de los VWF-HMWM, p. ej. mediante altas velocidades de cizalla no fisiológicas tales como en enfermedades cardiovasculares adquiridas (p. ej. en la estenosis valvular) o heredadas (p. ej. defecto septal ventricular (VSD - siglas en inglés), ductus arterioso patente (PDA - siglas en inglés)), los pacientes se pueden seleccionar, a modo de un ejemplo no

limitante, en estenosis aórtica suave, de modo que tengan un gradiente medio de 0-25 mm de Hg, en estenosis aórtica moderada, de 25-50 mm de Hg, y en estenosis aórtica grave, >50 mm de Hg. Alternativamente, los pacientes se pueden seleccionar al seleccionar pacientes con una pérdida de los VWF-HMWM diagnosticada por

- 5 o una relación de VWF:RCo/VWF:Ag de < 0,8 o, preferentemente, < 0,7, o incluso más preferentemente, < 0,6
- o una relación de VWF:CB/VWF:Ag de < 0,8 o, preferentemente, < 0,7, o incluso más preferentemente < 0,6
- 10 o un tiempo de cierre elevado en el PFA-100® (Dade Behring Diagnostics) utilizando el cartucho de colágeno/ADP de > 100 s (sangre citrada al 3,2%) o > 120 s (sangre citrada al 3,8%)
- o un análisis de multímeros basado en gel que muestra una proporción de VWF-HMWM menor que 80% o, preferentemente, menor que 70% o incluso más preferentemente menor que 60%.

- 15 Pacientes seleccionados de este tipo se pueden tratar mediante infusión intravenosa de un concentrado de VWF con una proporción de VWF-HMWM menor que 50% o, preferentemente, menor que 50% o, incluso más preferentemente, mayor que 75%.

- 20 La dosificación de VWF en estos pacientes debería conducir al menos a una VWF:RCo mayor que 70%, preferentemente mayor que 100% o incluso más preferentemente mayor que 150% con infusión continua (IC) o por medio de infusión de bolo con subsiguiente dosificación repetida con una VWF:RCo a niveles valle de más de 70% o, preferentemente de más de 100% o, incluso más preferentemente de más de 150% o, si un bolo inicial se combina con una subsiguiente IC, hasta niveles valle de más de 70% o, preferentemente más de 100%, o incluso más preferentemente más de 150%.

- 25 Administrar una dosis de este tipo de concentrados de VWF de modo pre-, peri- y post-operativa en cirugía elimina la causa de la pérdida específica de VWF-HMWM u otras aplicaciones de ECC mediante inyección de bolo, preferentemente dosificación repetida o incluso más preferentemente a modo de una infusión continua.

Ejemplo 1:

Pacientes con una estenosis aórtica que van a ser sometidos a cirugía para el reemplazo de la válvula se someten a los siguientes análisis:

- 30 1. Lo más preferiblemente, se considera apto para tratamiento a un paciente que tenga un gradiente de presión de > 50 mm de Hg. Para determinar el gradiente medio de la presión transvalvular, se utilizan sistemas ecocardiográficos u otros métodos adecuados.
2. Opcionalmente, pacientes con gradientes de presión de > 25 mm de Hg se seleccionan adicionalmente de acuerdo con análisis de multímeros de VWF
- 35 a. VWF:RCo/VWF:Ag (de acuerdo con el método descrito en Metzner et al; Haemophilia 1998, 4: 25-32)
- b. VWF:CB/VWF:Ag (de acuerdo con el método descrito en Neugebauer et al. Thromb Haemost 2002, 88: 871-2)
- c. tiempo de cierre elevado en PFA-100 en un cartucho de colágeno/ADP (Fressinaud et al., Blood, 1998 91:1325-31)
- 40 d. SDS-PAGE Ag (de acuerdo con el método descrito en Budde et al., Thromb Haemost 1990 63(2): 312-5)

Lo más preferiblemente, pacientes con

- a) una relación de VWF:RCo/ VWF:Ag < 0,6
- b) una relación de VWF:CB/ VWF:Ag < 0,6

c) un tiempo de cierre elevado del cartucho de colágeno/ADP en el PFA-100 de más de 100 s (sangre citrada al 3,2%) o más de 120 s (sangre citrada al 3,8%) ○

d) una proporción de los VWF-HMWM de menos de 60% en un análisis de multímeros basado en gel

- 5 se someten entonces a infusión continua (IC) de un concentrado de VWF adecuado dosificado a al menos una relación VWF:RCo de más del 70% o, preferiblemente, más del 100% o incluso más preferiblemente más del 150% con IC, o a modo de infusión de bolo, con una dosificación subsiguiente repetida con un nivel valle VWF:RCo de más del 70% o, preferentemente de más del 100%, o incluso más preferentemente de más del 150%, 30 minutos antes del comienzo de la intervención quirúrgica. La dosificación repetida después de la inyección inicial de bolo también puede ser reemplazada por una IC dosificada para mantener un nivel valle de más de 70% o, preferentemente más de 100%, o incluso más preferentemente más de 150%. La IC del concentrado de VWF adecuado se detiene aproximadamente 4 horas después del final de la intervención quirúrgica.
- 10

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Uso de concentrados de proteínas plasmáticas que contienen factor von Willebrand (VWF) con una elevada proporción de multímeros de elevado peso molecular, para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir una diátesis hemorrágica y para reducir la pérdida, pre- y post-operativa de sangre en síndromes de von Willebrand adquiridos en enfermedades cardiovasculares que requieren procesos quirúrgicos, en el que la proporción de multímeros de elevado peso molecular es mayor que 50% en comparación con el 100% de multímeros de elevado peso molecular en plasma sanguíneo humano normal.
- 10 2.- Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se seleccionan pacientes que tengan un estado clínico que genere altas velocidades de cizalla no fisiológicas, producidas por estenosis aórtica de suave a moderada a grave (0-25 mm de Hg, 25-50 mm de Hg y > 50 mm de Hg, respectivamente), así como un defecto septal ventricular, ductus arterioso patente u otros trastornos cardiovasculares heredados con gradientes significativos de presión
- 15 3.- Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se seleccionan pacientes que tienen
o una relación de VWF:RCo/VWF:Ag de < 0,8 o, preferentemente, < 0,7, o incluso más preferentemente < 0,6
o una relación de VWF:CB/VWF:Ag de < 0,8 o, preferentemente, < 0,7, o incluso más preferentemente < 0,6
o un tiempo de cierre elevado en el PFA-100® (Dade Behring Diagnostics) utilizando el cartucho de colágeno/ADP de > 100 s (sangre citrada al 3,2%) o > 120 s (sangre citrada al 3,8%)
o un análisis de multímeros basado en gel que muestra una proporción de VWF-HMWM menor que 80% o, preferentemente, menor que 70% o incluso más preferentemente menor que 60%.
- 20 4.- Uso de acuerdo de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la composición farmacéutica es adecuada para una infusión de bolo o para una infusión continua.
- 25 5.- Uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la composición farmacéutica es adecuada, además, para la subsiguiente dosificación repetida con un nivel valle de VWF:RCo mayor que 70%, o mayor que 100% o mayor que 150%, o para una infusión continua subsiguiente que mantiene un nivel valle mayor que el 70%, o mayor que el 100%, o mayor que el 150%.
- 30 6.- Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en enfermedades que requieren procesos o intervenciones utilizando la circulación extracorpórea para superar el deterioro y la pérdida de la calidad y cantidad de VWF relacionada con una circulación extracorpórea de este tipo.
- 35 7.- Uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la composición farmacéutica es adecuada para una infusión de bolo o una infusión continua.
- 40 8.- Uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la composición farmacéutica es adecuada, además, para la subsiguiente dosificación repetida con un nivel valle de VWF:RCo mayor que 70% o mayor que 100% o mayor que 150%.
- 9.- Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en estados patológicos en los que se utiliza protamina para neutralizar el efecto de la heparina.
- 10.- Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la composición farmacéutica es adecuada para una infusión de bolo o una infusión continua.
- 11.- Uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la composición farmacéutica es adecuada, además, para la subsiguiente dosificación repetida con un nivel valle de VWF:RCo mayor que 70% o mayor que 100% o mayor que 150%.