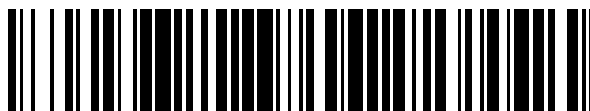


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 435**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/7088** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)  
**A61K 47/00** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04700289 .4**  
96 Fecha de presentación: **06.01.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1583506**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.10.2005**

54 Título: **Vacuna en forma de gotas oculares que contiene copolímero 1 para inmunización terapéutica**

30 Prioridad:  
**07.01.2003 US 438310 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.08.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.08.2012**

73 Titular/es:  
**YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT CO.,  
LTD.  
THE WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE P.O.  
BOX 95  
76100 REHOVOT, IL**

72 Inventor/es:  
**EISENBACH-SCHWARTZ, Michal;  
BAKALASH, Sharon y  
FULGA, Valentin**

74 Agente/Representante:  
**Arias Sanz, Juan**

ES 2 386 435 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

Vacuna en forma de gotas oculares que contiene copolímero 1 para inmunización terapéutica.

**Campo de la invención**

5 La presente invención está en el campo de la Inmunología y se refiere a una vacuna en forma de gotas oculares que comprende Copolímero 1 como agente activo para su uso en un procedimiento de inmunización terapéutica de un mamífero de acuerdo con la reivindicación 1, en particular para neuroprotección en el sistema nervioso central (SNC) o en el sistema nervioso periférico (SNP) después de una lesión, enfermedad, trastorno o afección o para proteger las células del SNC y del SNP de la toxicidad del glutamato.

10 **Abreviaturas:** **BSA:** albúmina de suero bovina; **AFC:** adyuvante de Freund completo; **SNC:** sistema nervioso central; **Cop 1:** Copolímero 1, acetato de glatirámico; **FCS:** suero de ternero fetal; **IFA:** adyuvante de Freund incompleto; **IOP:** presión intraocular; **PBM:** proteína básica de mielina; **SN:** sistema nervioso; **PBS:** solución salina tamponada con fosfato; **SNP:** sistema nervioso periférico; **CGR:** células ganglionares retinianas.

**Antecedentes de la invención**

15 El sistema nervioso comprende el sistema nervioso central y el sistema nervioso periférico. El sistema nervioso central (SNC) está compuesto por el cerebro y la médula espinal; el sistema nervioso periférico (SNP) consiste en todos los otros elementos neurales, a saber los nervios y ganglios fuera del cerebro y médula espinal.

20 El daño al sistema nervioso puede derivar de una lesión traumática, tal como traumatismo penetrante o traumatismo contuso, o de una enfermedad, trastorno o afección, incluyendo pero sin limitarse a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, neuropatía diabética, glaucoma, demencia senil e isquemia.

25 Los trastornos neurodegenerativos están comúnmente asociados con la pérdida neuronal en curso en el SNC. Tras la pérdida de neuronas causada por factores de riesgo primarios, la pérdida de neuronas adicional ("secundaria") está mediada por compuestos propios, tales como glutamato, óxido nítrico o especies reactivas de oxígeno, que exceden sus concentraciones fisiológicas. Estos compuestos están implicados en diversos tipos de trastornos neurológicos y lesiones del SNC agudas. Es interesante destacar que los componentes destructivos comunes a enfermedades neurodegenerativas se han identificado en enfermedades autoinmunes tales como esclerosis múltiple; en esta enfermedad, el daño de mielina en el SNC está acompañado de pérdida neuronal subsiguiente.

30 El glaucoma es una neuropatía óptica de progresión lenta con un incidencia alta en la población de edad avanzada (1 % aproximadamente). Hasta hace poco, se asociaba con una gran presión intraocular (IOP) y por lo tanto los intentos se han centrado en frenar la progresión de la enfermedad por fármacos antihipertensivos. A lo largo de los años, ha llegado a ser patente que el glaucoma es una familia de enfermedades y no todas están asociadas con presión. Además, ha llegado a estar claro que incluso cuando la enfermedad está asociada con presión, la última se puede reducir a normal e incluso por debajo de los valores normales y la degeneración puede continuar. Un debate en curso entre trabajadores clínicos ha cuestionado si la degeneración continua en pacientes glaucomatosos, a pesar de los valores normales de IOP, es un reflejo de la existencia de factores de riesgo adicionales además de la presión o un reflejo de la vulnerabilidad incrementada de las neuronas y fibras que quedan y así de la necesidad incrementada de reducir IOP por debajo de los valores normales.

40 Nosotros hemos sugerido en 1996 que el mecanismo que subyace a la pérdida de visión progresiva en el glaucoma es similar a aquel que ocurre en cualquier daño agudo del sistema nervioso o en cualquier enfermedad neurodegenerativa del SNC (Schwartz et al., 1996). De acuerdo con esta propuesta, además del factor de riesgo primario, por ejemplo presión, hay un proceso en curso de degeneración que afecta a neuronas que evitaron el suceso primario (Schwartz et al., 1996; Schwartz y Yoles, 2000a y 2000b). Este proceso está mediado por compuestos que emergieron como un resultado del evento primario o por déficit como un resultado del factor de riesgo primario, todo lo cual crea un ambiente hostil para las neuronas adyacentes al daño primario.

45 Nosotros hemos observado recientemente que en las condiciones neurodegenerativas causadas por daños mecánicos (axotomía) o bioquímicos (glutamato, estrés oxidativo), el sistema inmunitario juega un papel crítico. Así, se ha encontrado que las células T activadas que reconocen un antígeno del sistema nervioso (SN) promueven regeneración nerviosa o confieren neuroprotección, como se describe por ejemplo en la Publicación PCT N.º: WO 99/60021. Más específicamente, las células T reactivas a proteína básica de mielina (PBM) están mostrando ser neuroprotectoras en modelos de ratas de nervio óptico parcialmente triturado (Moalem et al., 1999) y de lesión medular (Hauben et al., 2000). Hasta hace poco, se había pensado que el sistema inmune excluía a las células inmunitarias de participar en la reparación del sistema nervioso central. Fue bastante sorprendente descubrir que las células T activadas específicas del SN podrían utilizarse para promover regeneración nerviosa o para proteger el tejido del sistema nervioso de degeneración secundaria que puede seguir al daño causado por lesión o por enfermedad del SNC o del SNP.

55 Se observó adicionalmente por los presentes inventores que las condiciones estresantes en el SNC aprovechan la

5 respuesta inmune adaptativa hacer frente al estrés y que esta respuesta está controlada genéticamente. Así, la tasa de supervivencia de las células del ganglio retiniano (CGR) en ratones o ratas adultos después de lesión por aplastamiento del nervio óptico o de inyección intravítrea de una dosificación tóxica de glutamato se mostró que era hasta dos veces más alta en cepas que son resistentes a enfermedades autoinmunes del SNC que en cepas susceptibles. Se encontró que la diferencia es atribuible a una respuesta de células T autoinmunes beneficiosas que se provocó espontáneamente después del daño del SNC en las cepas resistentes, pero no en las susceptibles. Así, la tasa de supervivencia de las neuronas como resultado de un daño tal es más alta cuando se provoca la respuesta de la célula T dirigida contra ella, siempre que esté bien regulada. En otras palabras, se demostró que se provoca una respuesta autoinmune protectora para oponerse a las condiciones estresantes así como para proteger al animal de las consecuencias del daño. Se observó adicionalmente que en animales con una capacidad dañada para regular una respuesta tal, o en animales desprovistos de células T maduras (como resultado de haber sufrido timectomía en el nacimiento), la capacidad para hacer frente a las condiciones estresantes se reduce. Por consiguiente, la tasa de supervivencia de las neuronas tras el daño del SNC en estos animales es significativamente menor que en animales dotados con un mecanismo eficaz para montar respuesta mediada por células T autoinmune protectora (Kipnis et al., 15 2001).

20 Estudios más recientes en nuestro laboratorio de los autores de la presente invención han mostrado que la neuroprotección autoinmune es el mecanismo de defensa fisiológico del cuerpo despertado cuando ocurre daño del SNC (Kipnis et al., 2001; Yoles et al., 2001). Los autores de la presente invención demostraron que la IOP incrementada difiere entre cepas (Bakalash et al., 2002) y que esta diferencia está vinculada a la capacidad de aprovechar una respuesta inmune con un resultado beneficioso. Los autores de la presente invención mostraron adicionalmente que en ausencia de células T maduras (por timectomía neonatal), la resistencia relativa a la elevación de IOP pierde su rasgo beneficioso y viceversa, cuando los esplenocitos de una cepa resistente se transfieren pasivamente a una cepa susceptible combinada con MHC, el efecto neuroprotector se reanuda (Bakalash et al., 2002). Se ha mostrado adicionalmente por el grupo de los autores de la presente invención que la vacunación pasiva con células T también es efectiva en daños agudos tales como aplastamiento del nervio óptico o contusión de la médula espinal (Kipnis et al., 2001; Moalem et al., 1999).

30 Intentar impulsar una respuesta tal anti-antígenos propios como una manera de proteger neuronas de afecciones dañinas ha revelado que el antígeno de vacunación debería estar derivado de compuestos que residan en el sitio de la lesión. Así, el uso del antígeno propio derivado de una proteína de unión interfotorreceptora (IRBP), el péptido más abundante en el ojo (Bakalash et al., 2002; Mizrahi et al., 2002), dio como resultado protección de las CGR tanto en cepas susceptibles como en cepas resistentes. En contraste, el uso de los péptidos derivados de compuestos que residen en la mielina asociados con el nervio óptico no conduce a ningún beneficio para las células del ganglio retiniano que sufren de daño elevado por IOP.

35 Intentar diseñar una vacunación para glaucoma que impulse el sistema inmune sin riesgo de provocar una enfermedad autoinmune, los autores de la presente invención eligen centrarse en el Copolímero 1 y han mostrado que es neuroprotector para el glaucoma cuando se da con un adyuvante (Bakalash et al., 2002; Schori et al., 2001; Schwartz y Kipnis, 2002; documento WO 01/52878; documento WO 01/93893). Cop-1 reacciona de forma cruzada inmunológicamente con una amplia variedad de células T autorreactivas. De acuerdo con ello, su actividad es reminiscente de aquella de ligando de péptido alterado, un auto-péptido que se ha alterado y como resultado ha perdido la patogenicidad (documento WO 02/055010; Kipnis y Schwartz, 2002).

40 Copolímero 1, también llamado Cop 1 o acetato de glatirámico, es un copolímero aleatorio sintético no patógeno compuesto de los cuatro aminoácidos: L-Glu, L-Lys, L-Ala y L-Tyr, con una fracción molecular promedio de 0,141, 0,338, 0,427 y 0,095, respectivamente y un peso molecular promedio de 4.700-11.000. COPAXONA® (una marca comercial de Teva Pharmaceutical Industries Ltd., Petach Tikva, Israel), el nombre comercial para el acetato de glatirámico, es actualmente un fármaco aprobado en muchos países para el tratamiento de la esclerosis múltiple. Se tolera muy bien con solamente reacciones adversas secundarias. Aunque el tratamiento con Cop 1 por ingestión o inhalación se describe en el documento US 6.214.791, la única vía de administración de Cop 1 para los pacientes de esclerosis múltiple es por inyección subcutánea diaria.

50 Recientemente se ha encontrado que en modelos animales Cop 1 proporciona un efecto beneficioso para varios trastornos adicionales. Así, Cop 1 suprime el rechazo inmunitario manifestado en la enfermedad de injerto contra huésped (GVHD) en caso de un trasplante de médula ósea (Schlegel et al., 1996; US 5.858.964), así como en el rechazo de injerto en el caso de un trasplante de órganos sólidos (Aharoni et al., 2001). Cop 1 y copolímeros y péptidos relacionados con Cop 1 se han descrito en el documento WO 00/05250 para tratar enfermedades autoinmunes.

55 Los documentos WO 01/52878 y WO 01/93893 de los presentes solicitantes revelan que Cop 1, péptidos y polipéptidos relacionados con Cop 1 y células T activadas con ellos protegen células del SNC de la toxicidad del glutamato y evitan o inhiben degeneración neuronal o promueven regeneración nerviosa en el SNC y el SNP. El documento WO 01/93828 revela que Cop 1 se puede usar para tratamiento de trastornos del SNC. Ninguna de estas publicaciones revela inmunización por administración de gotas oculares que contengan Cop 1.

60 Se han descrito vacunas para aves de corral para administración como gotas oculares que comprenden un virus vivo

o ADN recombinante que codifica proteínas inmunogénicas de agentes infecciosos para la prevención de enfermedades víricas en animales aviares (Mukibi-Muka et al., 1984; Sharma, 1999; Russell y Mackie, 2001).

### Sumario de la invención

5 Ahora se ha encontrado, de acuerdo con la presente invención, que el Copolímero 1, cuando se administra como una vacuna en forma de gotas oculares, provoca una respuesta inmune dependiente de células T necesaria para neuroprotección en el SNC o en el SNP, como se ejemplifica por protección de las células ganglionares retinianas (CGR) contra muerte inducida por elevación de presión (IOP) aguda o crónica.

La presente invención se refiere así, en un aspecto, a una vacuna en forma de gotas oculares que comprende como un agente activo Copolímero 1 para su uso en un procedimiento terapéutico de acuerdo con la reivindicación 1.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de Copolímero 1 para la elaboración de una vacuna en forma de gotas oculares.

La vacuna en forma de gotas oculares de acuerdo con la invención es particularmente útil para la inmunización terapéutica de un mamífero, en particular de seres humanos, para neuroprotección para tratar la degeneración neuronal causada por una lesión, enfermedad, trastorno o afección en el sistema nervioso central (SNC) o en el sistema nervioso periférico (SNP), para evitar o inhibir degeneración secundaria neuronal que puede seguir de otro modo a una lesión primaria en el SNC, para promover la regeneración nerviosa en el SNC o en el SNP después de un daño, enfermedad, trastorno o afección, o para proteger células del SNC y del SNP de toxicidad del glutamato.

15 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición para su uso en el procedimiento de inmunización terapéutica para tratar degeneración neuronal causada por una lesión, enfermedad, trastorno o afección en el sistema nervioso central (SNC) o en el sistema nervioso periférico (SNP), para evitar o inhibir degeneración neuronal secundaria que puede de otro modo seguir a una lesión primaria en el SNC, para promover regeneración nerviosa en el SNC o en el SNP después de una lesión, enfermedad, trastorno o afección o para proteger al SNC y al SNP de la toxicidad de glutamato, que comprende inmunizar un individuo en necesidad de una vacuna en forma de gotas oculares que comprenda Copolímero 1 en una cantidad eficaz para tratar, evitar o inhibir dicha degeneración neuronal causada por dicha lesión, enfermedad, trastorno o afección en el individuo.

20 En la vacuna en forma de gotas oculares de la invención, el agente activo puede administrarse sin un adyuvante, por ejemplo en solución salina o en solución salina tamponada con fosfato (PBS), o puede administrarse con un adyuvante soluble tal como una citocina, por ejemplo IL-2, IL-12, GM-CSF o IFN- $\gamma$  y similares.

### Breve descripción de las figuras

30 **La fig. 1** muestra que el Copolímero 1 (Cop-1) tiene un efecto duradero en proteger a las CGR de muerte inducida por IOP en un modelo crónico.

**Las fig. 2A-2B** muestran que la inmunización con 500  $\mu$ g de Cop-1 sin adyuvante (2A) en el día 7 después del primer láser (2B) protege a las RCG de muerte inducida por IOP en un modelo crónico.

35 **Las fig. 3A-3B** muestran que el efecto de Cop-1 es dependiente de células T. El tratamiento de IOP elevada en animales no timectomizados con Cop-1 fue más eficaz que en los animales timectomizados (3A) y más efectivo que el fármaco brimonidina de glaucoma (3B).

40 **Las fig. 4A-4B** muestran que Cop-1 aplicado en gotas oculares protege de muerte de las CGR inducida por IOP en un modelo crónico. Cinco gotas de 1 mg de Cop-1 dada cada una a intervalos de 5 minutos se aplicaron inmediatamente después (4A) o 7 días después (4B) de la elevación de IOP en un modelo crónico de elevación de IOP. Las retinas se escindieron 3 semanas más tarde.

**Las fig. 5A-5B** muestran que Cop-1 protege CGR contra elevación de IOP transitoria aguda cuando se administra subcutáneamente (5A) o como gotas oculares (5B).

### Descripción detallada de la invención

45 Como se usa en el presente documento, los términos "Copolímero 1", "Cop 1", "Cop-1", y "acetato de glatirámico" se usan cada uno intercambiamente.

También se revelan "Cop 1 o un péptido o polipéptido relacionado con Cop-1" que se desean para incluir cualquier péptido o polipéptido, incluyendo un copolímero aleatorio, que reaccione funcionalmente con proteína básica de mielina (PBM) y sea capaz de competir con PBM en el MHC de clase II en la presentación de antígenos.

50 También se revela un copolímero aleatorio que comprende una cantidad adecuada de un aminoácido cargado positivamente tal como lisina (K) o arginina (R), en combinación con un aminoácido cargado negativamente (preferentemente en una cantidad menor) tal como ácido glutámico (E) o ácido aspártico (D), opcionalmente en combinación con un aminoácido neutro no cargado, tal como alanina (A) o glicina (G), que sirven como una carga

y opcionalmente en combinación con un aminoácido adaptado para conferir al copolímero propiedades inmunogénicas, tal como un aminoácido aromático como tirosina (Y) o triptófano (W).

También se revelan copolímeros compuestos de L- o D-aminoácidos o mezclas de los mismos. Como se conoce por aquellos expertos en la técnica, los L-aminoácidos aparecen en la mayoría de las proteínas naturales. Sin embargo, los D-aminoácidos están comercialmente disponibles y pueden estar sustituidos por algunos de los o por todos los aminoácidos usados para fabricar los copolímeros usados en la presente invención. La presente invención contempla el uso de copolímeros que contienen tanto D-aminoácidos como L-aminoácidos, así como copolímeros que constan esencialmente bien de L-aminoácidos o bien de D-aminoácidos.

También se revelan copolímeros aleatorios de tres o cuatro aminoácidos que comprenden un aminoácido seleccionado a partir de cada uno de los cuatro grupos siguientes: (a) lisina (K) y arginina (R); (b) ácido glutámico (E) y ácido aspártico (D); (c) alanina (A) y glicina (G); y (d) tirosina (Y) y triptófano (W).

También se revela un copolímero que comprende una combinación de los aminoácidos tirosina, ácido glutámico, alanina y lisina, designado en el presente documento poli-YEAK, de carga eléctrica positiva total neta y es lo más preferentemente Copolímero 1, de la siguiente relación molar de los aminoácidos: aproximadamente 0,14 de ácido glutámico, aproximadamente 0,43 de alanina, aproximadamente 0,10 de tirosina y aproximadamente 0,34 de lisina. Puede ser un copolímero de peso molecular bajo o de peso molecular alto siendo un polipéptido de aproximadamente 15 a aproximadamente 100, preferentemente de aproximadamente 40 a aproximadamente 80, aminoácidos de longitud. El copolímero tiene un peso molecular promedio de aproximadamente 2.000-40.000 Da, preferentemente de aproximadamente 2.000-13.000 Da, más preferentemente de aproximadamente 4.700-13.000 Da, lo más preferentemente de aproximadamente 5.000-9.000 Da y mayoritariamente preferido de aproximadamente 6.000-8.000 Da. Este copolímero preferido, Cop 1, está lo más preferentemente en forma de su sal de acetato conocida por el nombre genérico acetato de glatirámico. Los intervalos de peso molecular preferido y los procedimientos para fabricar una forma preferida de Cop1 se describen en la Patente de los EE.UU. N.º: 5.800.808 los contenidos completos de la cual por la presente se incorporan por referencia en su totalidad como si se revelaran totalmente en el presente documento.

También se revela un polipéptido relacionado con Cop 1 que es un copolímero aleatorio que contiene cuatro aminoácidos diferentes, cada uno de uno diferente de los grupos (a) a (d), pero excluyendo Cop 1. La actividad mostrada por Copolímero 1 se espera que permanezca si una o más de las siguientes sustituciones se hace en la composición aminoacídica del copolímero: ácido aspártico (D) por ácido glutámico (E), glicina (G) por alanina (A), arginina (R) por lisina (K) y triptófano (W) por tirosina (Y).

También se describen los copolímeros descritos en el documento WO 00/05250 y otros copolímeros de aminoácidos sintéticos tales como copolímeros de cuatro aminoácidos aleatorios descritos por Fridkis-Hareli et al. (2002) como candidatos para el tratamiento de la esclerosis múltiple, a saber copolímeros (14-, 35- y 50-meros) que contienen los aminoácidos fenilalanina, ácido glutámico, alanina y lisina (poli-FEAK), o tirosina, fenilalanina, alanina y lisina (poli-YFAK) y cualquier otro copolímero similar a descubrirse que pueda considerarse un antígeno universal similar a Cop 1.

También se revela un copolímero que contiene una combinación de tres aminoácidos distintos cada uno de uno diferente de tres grupos de los grupos (a) a (d). Estos copolímeros se refieren en el presente documento como terpolímeros.

Los terpolímeros revelados en el presente documento contienen tirosina (Y), alanina (A) y lisina (K), designados en lo sucesivo poli-YAK. La fracción molar promedio de los aminoácidos en estos terpolímeros puede variar. Por ejemplo, la tirosina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,250; la alanina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,3-0,6; y la lisina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,1-0,5, pero preferentemente las proporciones molares de tirosina, alanina y lisina son aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,54 a aproximadamente 0,35. El peso molecular promedio de poli-YAK es aproximadamente 2.000-40.000 Da, preferentemente aproximadamente 3.000-35.000 Da, más preferentemente aproximadamente 5.000-25.000 Da. Es posible sustituir arginina (R) por lisina (K), glicina (G) por alanina (A), y/o triptófano (W) por tirosina (Y).

También se revelan los terpolímeros que contienen tirosina (Y), ácido glutámico (E) y lisina (K), designados en lo sucesivo poli-YEK. La fracción molar promedio de los aminoácidos en estos terpolímeros puede variar: el ácido glutámico puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,300; la tirosina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,250 y la lisina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,3-0,7, pero preferentemente las proporciones molares de tirosina, alanina y lisina son aproximadamente 0,26 a aproximadamente 0,16 a aproximadamente 0,58. El peso molecular promedio de poli-YEK es aproximadamente 2.000-40.000 Da, preferentemente aproximadamente 3.000-35.000 Da, más preferentemente aproximadamente 5.000-25.000 Da. Es posible sustituir arginina (R) por lisina (K), ácido aspártico (D) por ácido glutámico (E), y/o triptófano (W) por tirosina (Y).

También se describen los terpolímeros que contienen lisina (K), ácido glutámico (E) y alanina (A), designados en lo

sucesivo poli-KEA. La fracción molar promedio de los aminoácidos en estos polipéptidos puede variar también. Por ejemplo, el ácido glutámico puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,300, la alanina en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,600 y la lisina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,2-0,7, pero preferentemente las proporciones molares de ácido glutámico, alanina y lisina son aproximadamente 0,15 a aproximadamente 0,48 a aproximadamente 0,36. El peso molecular promedio de YEK es aproximadamente 2.000-40.000 Da, preferentemente aproximadamente 3.000-35.000 Da, más preferentemente aproximadamente 5.000-25.000 Da. Es posible sustituir arginina (R) por lisina (K), ácido aspártico (D) por ácido glutámico (E), y/o glicina (G) por alanina (A).

También se revelan los terpolímeros que contienen tirosina (Y), ácido glutámico (E) y alanina (A), designados en lo sucesivo poli-YEA. La fracción molar promedio de los aminoácidos en estos polipéptidos puede variar. Por ejemplo, la tirosina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,250; el ácido glutámico puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,300; y la alanina puede estar presente en una fracción molar de aproximadamente 0,005-0,800, pero preferentemente las proporciones molares de ácido glutámico, alanina y tirosina son aproximadamente 0,21 a aproximadamente 0,65 a aproximadamente 0,14. El peso molecular promedio de poli-YEA es aproximadamente 2.000-40.000 Da, preferentemente aproximadamente 3.000-35.000 Da y más preferentemente aproximadamente 5.000-25.000 Da. Es posible sustituir triptófano (W) por tirosina (Y), ácido aspártico (D) por ácido glutámico (E), y/o glicina (G) por alanina (A).

Los terpolímeros se pueden preparar por cualquier procedimiento disponible para un experto en la técnica, por ejemplo como se describe en las publicaciones mencionadas anteriormente WO 01/52878 y WO 01/93893.

Como se conocen restos de unión de Cop 1 a moléculas de HLA-DR asociadas a EM, se pueden preparar fácilmente polipéptidos de secuencia fija y se pueden probar para unión al surco de unión a péptidos de las moléculas de HLA-DR según se describe en Fridkis-Hareli et al. (1999). Ejemplos de tales péptidos son aquellos descritos en el documento WO 005249. Treinta y dos de los péptidos descritos específicamente en dicha solicitud se reproducen en la Tabla 1 más adelante (SEC ID N.º: 1 a N.º: 32). Estos son péptidos 15-meros que comprenden los 4 aminoácidos alanina, ácido glutámico, lisina y tirosina (péptidos 2, 3, 5-32) o solamente los 3 aminoácidos alanina, lisina y tirosina (péptidos 1, 4). Tales péptidos y otros péptidos similares se espera que tuvieran una actividad similar a Cop 1 y están comprendidos dentro de la definición de péptidos o polipéptidos relacionados con Cop 1 descrita en el presente documento.

30

**Tabla 1**

<b>SEC ID N°</b>	<b>Secuencia de péptido</b>
<b>1</b>	<b>AAAYAAAAAKAAAA</b>
<b>2</b>	<b>AEKYAAAAAKAAAA</b>
<b>3</b>	<b>AKEYAAAAAKAAAA</b>
<b>4</b>	<b>AKKYAAAAAKAAAA</b>
<b>5</b>	<b>AEAYAAAAAKAAAA</b>
<b>6</b>	<b>KEAYAAAAAKAAAA</b>
<b>7</b>	<b>AEYAAAAAKAAAA</b>
<b>8</b>	<b>AAEYAAAAAKAAAA</b>
<b>9</b>	<b>EKAYAAAAAKAAAA</b>
<b>10</b>	<b>AAKYAAAAAKAAAA</b>
<b>11</b>	<b>AAKYAEAAAAKAAAA</b>
<b>12</b>	<b>EAAYAAAAAKAAAA</b>
<b>13</b>	<b>EKKYAAAAAKAAAA</b>

(continuación)

<b>SEC ID Nº</b>	<b>Secuencia de péptido</b>
14	EAKYAAAAAAKAAAA
15	AEKYAAAAAAAAAAAA
16	AKEYAAAAAAAAAAAA
17	AKKYAAAAAAAAAAAA
18	AKKYAEAAAAAAAAAA
19	AEAYKAAAAAAAAAAAA
20	KEAYAAAAAAAAAAAA
21	AEEYKAAAAAAAAAAAA
22	AAEYKAAAAAAAAAAAA
23	EKAYAAAAAAAAAAAA
24	AAKYEAAAAAAAAAAAA
25	AAKYAEAAAAAAAAAAAA
26	EKKYAAAAAAAAAAAA
27	EAKYAAAAAAAAAAAA
28	AEYAKAAAAAAAAAAAA
29	AEKAYAAAAAAAAAAAA
30	EKYAAAAAAAAAAAAA
31	AYKAEAAAAAAAAAAAA
32	AKYAEAAAAAAAAAAAA

La presente invención se refiere a una vacuna en forma de gotas oculares y al uso terapéutico de la misma según se define en las reivindicaciones 1 a 18.

Entre las enfermedades, trastornos y afecciones que pueden tratarse de acuerdo con la invención están una demencia senil incluyendo enfermedad de Alzheimer, un síndrome parkinsoniano incluyendo enfermedad de Parkinson, parálisis del nervio facial (de Bell), corea de Huntington, una enfermedad de neuronas motoras incluyendo esclerosis lateral amiotrófica, una enfermedad priónica incluyendo la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Alper, enfermedad de Batten, síndrome de Cockayne, enfermedad de cuerpos de Lewy, estado de mal epiléptico, síndrome del túnel carpiano, hernia de disco intervertebral, deficiencia vitamínica tal como deficiencia de vitamina B, epilepsia, amnesia, ansiedad, hiperalgesia, psicosis, convulsiones, estrés oxidativo, tolerancia y dependencia a opiáceos, una enfermedad autoinmune tal como esclerosis múltiple (EM), o una neuropatía periférica relacionada con una enfermedad tal como polineuropatía amiloide, neuropatía diabética, neuropatía urémica, polineuropatía porfírica, hipoglucemia, síndrome Sjogren-Larsson, neuropatía sensorial aguda, neuropatía atáxica crónica, cirrosis biliar, amiloidosis primaria, enfermedades pulmonares obstructivas, acromegalia, síndromes de malabsorción, policitemia vera, gammopatías de IgA e IgG, complicaciones de diversos fármacos tales como nitrofurantoína, metronidazol, isoniazida y toxinas tales como alcohol u organofosfatos, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, ataxia telangiectasia, ataxia de Friedreich, adrenomielseuropatía, neuropatía axonal gigante, enfermedad de Refsum, enfermedad de Fabry, lipoproteinemia, neuropatía óptica anterior no arterítica, degeneración macular relacionada con la edad, un trastorno retiniano tal como degeneración retiniana o una enfermedad asociada con presión intraocular anormalmente elevada tal como glaucoma.

Como se menciona en la sección Antecedentes de la invención, los autores de la presente invención han sugerido en 1996 que quizás en glaucoma, como en cualquier daño agudo al sistema nervioso o en cualquier enfermedad neurodegenerativa del SNC, exista un proceso en curso de degeneración que afecte a neuronas que evitaron el evento primario, por ejemplo elevación de la presión (Schwartz et al., 1996). Este proceso está mediado por compuestos que emergieron como resultado del evento primario o por déficit como resultado del factor de riesgo

primario, todo lo cual crea un ambiente hostil para las neuronas adyacentes al daño primario (Schwartz et al., 1996; Schwartz y Yoles, 2000a y 2000b). El reconocimiento de que tales procesos pueden tener lugar en glaucoma, anima a los autores de la presente invención a buscar una terapia que, si se da en cualquier momento, pueda parar la progresión de la degeneración.

- 5 Es más, desde 1996 se han hecho intentos por todo el mundo para identificar mediadores de toxicidad para encontrar caminos que bloqueen, eludan o eliminen estos mediadores, o para encontrar formas de hacer a las neuronas que quedan más tolerantes al medio hostil creado por aquellas que ya han degenerado.

Nuestro grupo descubrió hace aproximadamente cuatro años que el nervio óptico herido o la retina dañada suministra señal de estrés al sistema inmune sistémico e incorpora su ayuda para conducir a una provocación de respuesta de células T dirigida contra antígenos abundantes que residen en el sitio del estrés. La especificidad de la respuesta inmune es una manera de llevar células T al sitio de la lesión. Una vez activadas, tales células T sirven como una fuente de citocinas y factores neurotróficos que afectan localmente microglía, astrocitos y quizás incluso neuronas. En el curso de sus estudios los autores de la presente invención se han dado cuenta de que una respuesta inmune tal es necesaria básicamente para ayudar al cuerpo a hacer frente a las condiciones perjudiciales y en condiciones morbosas, como en traumatismo, necesitan potenciarse (Moalem et al., 1999; Schori et al., 2001 y 2002; Kipnis et al., 2000).

Hemos descubierto diversas maneras de potenciar exitosamente la respuesta inmune dependiente de células T para proteger el nervio dañado de su ambiente hostil. Una protección sin riesgo se encontró por el uso de un compuesto que presenta reacción cruzada con una afinidad baja con un amplio espectro de autoantígenos. Un compuesto de este tipo es Copolímero 1 o acetato de glatirámico. Este compuesto tiene una enorme ventaja que es un fármaco aprobado para pacientes con esclerosis múltiple y así no lleva el riesgo de causar una enfermedad autoinmune (Schori et al., 2001 y 2002; Kipnis et al., 2000).

Como se describe en nuestras solicitudes previas WO 01/52878 y WO 01/93893, se encontró que el Copolímero 1 emulsionado en adyuvante es protector para las CGR contra IOP elevada en un modelo crónico de IOP elevada. Aquí los autores de la presente invención descubrieron que Cop-1 es lo suficientemente fuerte y así puede provocar una respuesta inmune intensiva que puede proteger de forma efectiva contra las consecuencias de IOP tanto en modelos agudos como en modelos crónicos de IOP. De forma interesante, Cop-1, cuando se administra en un régimen usado para enfermedad de EM crónica, es decir inyección repetida diaria, elimina el beneficio de una inyección individual, corroborando la opinión de que los requerimientos para enfermedad autoinmune y para enfermedad neurodegenerativa son diferentes (Schwartz y Kipnis, 2002; Kipnis y Schwartz, 2002). Mientras que la anterior necesita supresión y la posterior necesita activación inmunitaria, las dos pueden satisfacerse si alguien adopta un enfoque de inmunomodulación.

Otra característica que llegó a estar clara en los experimentos de la presente solicitud es que la intervención, en casos de pérdida de CGR asociada con IOP alta, es efectiva en cualquier momento en detener la progresión de la enfermedad. El hecho de que en el modelo crónico de la IOP, la interacción fue más efectiva en el día 7 que en el día 0, sugiere que la pérdida de RCG no se inicia inmediatamente después de la elevación de la presión, a diferencia del modelo agudo, en el que la elevación de IOP es tan alta que la muerte ocurre mucho antes.

Esa protección por vacunación con Cop-1 no está mediada por el fármaco Cop-1 en sí mismo, sino por la respuesta inmunitaria que ello provoca, llegando a ser evidente cuando no se observó ningún efecto en animales deprimidos en células T. Esto explica por qué no hay ninguna necesidad de administración diaria del fármaco para neuroprotección, como es a menudo el caso con compuestos farmacológicos que su eliminación del cuerpo es rápida y hay una necesidad de mantener el fármaco. La administración del compuesto, sin embargo, es necesaria periódicamente para mantener un nivel óptimo de las células T necesarias para la protección de la degeneración en curso.

El modo en que Cop-1 es protectora en glaucoma es provocando la respuesta de células T. Las células T provocadas se alojan en el ojo en el que ellas encuentran microglía que puede presentar el mismo autoantígeno que reside en el ojo con el que ellas pueden reaccionar de forma cruzada. Las células T activadas son la fuente de citocinas y de factores neurotróficos necesarios para la protección. Los estudios *in vitro* de los autores de la presente invención han sugerido que las células T activadas pueden regular al alza racimo de genes en microglía que puede hacer frente al estrés y también genes que están asociados con su actividad tamponante.

Otros estudios revelaron que el compuesto que puede neutralizar el compuesto tóxico en el ojo podría desarrollarse como una terapia para glaucoma. Entre tales compuestos están antagonistas de NMDA, inhibidores de NO sintetasa. Ya que el glaucoma como cualquier otra enfermedad neurodegenerativa no es una enfermedad de compuesto individual se sugiere que con el fin de conseguir una protección global alguien ha de combinar varios fármacos. La ventaja de la vacunación de acuerdo con la invención está en el hecho de que ella estimula el modo del propio cuerpo de conseguir deshacerse del estrés y de que ella provoca actividad de las células inmunes que es específica de sitio, pero no específica de daño y así puede proteger de una amplia variedad de amenazas.

De acuerdo con la presente invención, se encontró un tratamiento individual con gotas oculares de Cop 1 como una



terapia efectiva en proteger las CGR contra pérdida de CGR inducida por IOP en modelos de rata de glaucoma agudos y crónicos. En vista de las publicaciones anteriores por los autores que muestran el efecto neuroprotector de Cop 1 cuando se inyecta a los animales, fue muy sorprendente descubrir que Cop 1 confiere neuroprotección sistémicamente cuando se administra como gotas oculares.

- 5 En una realización preferida de la invención, la vacuna de gotas oculares que comprende Copolímero 1 se usa para tratar glaucoma, a saber para detener la progresión del glaucoma, una enfermedad neurodegenerativa del nervio óptico. Como se menciona anteriormente, la elevación de la presión intraocular (IOP) está asociada a menudo con glaucoma crónico o agudo. Sin embargo, muy a menudo, la reducción de la presión es insuficiente para detener la progresión de la enfermedad. Se encuentran elementos de autodestrucción asociados con la progresión de la enfermedad. Aquí los autores de la presente invención muestran que una única vacunación con Cop 1, dada en gotas oculares (o subcutáneamente, por comparación) es suficiente para rescatar RCG de pérdidas inducidas por IOP. Además, los autores de la presente invención encontraron que en el modelo crónico de la enfermedad, el tratamiento retardado (7 días) es tan efectivo como el tratamiento inmediato en el modelo crónico de IOP. Se proporciona evidencia de que el tratamiento, bien con las gotas oculares o bien sistémicamente, no es efectivo directamente pero está mediado por el sistema inmune. No se logró ningún efecto en animales deprimidos en células T, sin embargo el efecto de las gotas oculares se alcanza cuando se dan contralateralmente al sitio con la presión elevada en el ojo. Los resultados y la vía de inmunización pueden implementarse inmediatamente para el desarrollo clínico.

- 20 De acuerdo con la presente invención, el copolímero preferido para usar como el agente activo de la invención es Cop 1, más preferentemente en forma de su sal de acetato conocida por la denominación genérica acetato de glatirámico. La dosificación de Cop 1 a administrarse se determinará por el médico de acuerdo con la edad del paciente y fase de la enfermedad y se puede elegir a partir de un intervalo de 0,1 a 1.000 mg, preferentemente a partir de un intervalo de 10-80 mg, más preferentemente 20-60 mg, aunque cualquier otra dosificación adecuada está abarcada por la invención.

- 25 Para pacientes con esclerosis múltiple, la administración puede hacerse diariamente en una o más dosis, preferentemente desde una hasta tres dosis diarias en un total de 0,1 a 1.000 mg, preferentemente en un intervalo de 10-80 mg, más preferentemente 20-60 mg, o en días alternos, pero cualquier otra dosificación adecuada está prevista por la invención de acuerdo con la afección del paciente. Para pacientes de esclerosis no múltiple, la dosificación de Cop 1 es como se indica anteriormente en una frecuencia periódica, por ejemplo, al menos una vez por semana, a al menos una vez al mes o al menos una vez cada 2 o 3 meses, o menos frecuentemente, pero cualquier otro intervalo adecuado entre las inmunizaciones está previsto por la invención de acuerdo con la afección del paciente.

## Ejemplos

### Materiales y procedimientos

- 35 **(i) Animales.** Las ratas de Lewis y de Sprague-Dawley (SPD) machos adultos endogámicos (8 semanas; peso promedio 300 g) se suministraron por el Centro de Cría de Animales en The Weizmann Institute of Science (Rehovot, Israel). Las ratas se mantuvieron en una habitación de luz y temperatura controlada y se emparejaron por edad y se pesaron antes de cada experimento. Todos los animales se manejaron de acuerdo con las regulaciones formuladas por el IACUC (Comité de Cuidado y Uso de Animales Internacional).

- 40 **(ii) Inducción de presión intraocular alta de forma crónica (IOP).** El bloqueo de drenaje acuoso causa un incremento en IOP, que da como resultado la muerte de las RCG (Bakalash et al., 2002; Schori et al., 2001; Jia et al., 2000a; Levkovitch-Verbin et al., 2002). Se logró un aumento en IOP en los ojos derechos de las ratas como sigue. Las ratas se anestesiaron profundamente por inyección intramuscular de clorhidrato de ketamina (50 mg/kg) y clorhidrato de xilazina (0,5 mg/kg). Una lámpara de hendidura que emite irradiación de láser de argón azul-verde (Haag-Streit, Koniz, Suiza) se usó tratando el ojo derecho de la rata anestesiada con 80 a 120 aplicaciones dirigidas hacia tres de las cuatro venas episclerales y hacia 270° del plexo limbal. El haz de láser se aplicó con una energía de 1 W durante 0,2 segundos, produciendo un tamaño de punto enfocado de 100 µm en las venas episclerales y de 50 µm en el plexo limbal. En una segunda sesión de láser 1 semana más tarde, se usaron los mismos parámetros, salvo que el tamaño de punto enfocado fue de 100 µm en todas las aplicaciones. La irradiación se dirigió hacia todas las cuatro venas episclerales y hacia 360° del plexo limbal (Schori et al., 2001).

- 45 **(iii) Inducción de presión intraocular alta aguda.** Se logró un incremento en IOP en los ojos derechos de ratas profundamente anestesiadas (50 mg/kg de clorhidrato de ketamina, 0,5 mg/kg de clorhidrato de xilazina, inyectados intramuscularmente) añadiendo una aguja de calibre 30 conectada a un tubo de polietileno y una bolsa de infusión de solución salina normal (0,9 %). La bolsa de infusión se situó un metro por encima de la cabeza de la rata, creando una circulación de bucle cerrado. Se indujo la IOP alta durante exactamente 1 hora después de lo que la aguja se retiró del ojo y el agujero se autoselló.

- 55 **(iv) Medida de la presión intraocular.** La mayoría de los agentes anestésicos causan una reducción en IOP (Jia et al., 2000b), excluyendo así medida fiable. Para obtener medidas de presión exactas mientras que la rata estuvo en

un estado tranquilo, los autores de la presente invención inyectaron a la rata intraperitonealmente (i.p.) con 10 mg/ml de acepromacina, un fármaco sedante que no reduce IOP y midieron la presión en ambos ojos 5 minutos después con un tonómetro (Tono-Pen XL; Automated Ophthalmics, Ellicott City, MD, EE.UU.), después de aplicar Localin a la córnea. Debido al efecto comunicado de medicamentos anestésicos en IOP medido por Tono-Pen (Jia et al., 2000b), la presión sanguínea se midió siempre al mismo tiempo después de la inyección de acepromacina y se registró el promedio de 10 medidas tomadas de cada ojo. Se tomaron medidas en diferentes ocasiones (cada 2 días durante 3 semanas), todas a la misma hora del día. El ojo contralateral no tratado sirvió como el control.

**(v) Valoración anatómica de daño retinal causado por el incremento en IOP.** El tinte neurotrazador hidrófilo dextrano tetrametilrodamina (Rodamina Dextrano; (Molecular Probes, Eugene, OR, EE.UU.)) se aplicó directamente dentro de la parte intraorbital del nervio óptico. Solamente los axones que sobreviven a IOP elevada y siguen siendo funcionales con cuerpos celulares vivos pueden captar el tinte y manifestar CGR marcadas. Las ratas se mataron 24 horas más tarde y sus retinas se escindieron, se montaron por completo y se preservaron en paraformaldehído al 4 %. La CGR se contaron en aumento de x800 en un microscopio de fluorescencia (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania). A partir de cada retina se contaron cuatro ámbitos, todos con el mismo diámetro (0,076 mm) y a la misma distancia desde el disco óptico (Kipnis et al., 2001; Yoles et al., 2001). Los ojos de las ratas no tratadas se usaron como un control. CGR se contaron por un observador quien estaba ciego con respecto a la identidad de las retinas.

**(vi) Inmunización activa con Cop 1 y adyuvante.** Las ratas bien con incremento inducido por láser en IOP o bien con elevación aguda de IOP se inmunizaron con Cop 1 (100 µg) (Teva Pharmaceutical Industries Ltd., Petach Tikva, Israel) emulsionado en 2,5 mg/ml de AFC en un volumen total de 100 µl (Kipnis et al., 2000). Cada animal se vacunó subcutáneamente en la raíz de la cola.

**(vii) Inmunización activa con Cop 1 y sin ningún adyuvante.** Se dio Cop-1 en PBS en concentraciones diferentes y en puntos temporales diferentes después del daño primario subcutáneamente. La administración tópica de Cop-1 se hizo después sumergiendo la sustancia en PBS a una concentración de 20 mg/ml. Puesto que cada gota fue de 50 µl, se administró 1 gota cada 5 minutos para un total de 5 gotas en 25 minutos.

#### **Ejemplo 1. La vacunación con Cop-1 protege CGR de muerte inducida por IOP cuando se da sin vehículo**

Estudios anteriores han mostrado que Cop 1 emulsionada en un adyuvante protege contra muerte de CGR inducida por IOP. Aquí se examinó si el efecto es de duración prolongada en un modelo crónico.

Los animales se sometieron a elevación unilateral de IOP y se inmunizaron en el día del tratamiento de láser (induciendo elevación de IOP). Las ratas se sometieron a elevación crónica de IOP en el día de la primera irradiación láser. Los animales se dividieron en 4 grupos: dos grupos recibieron Cop-1 emulsionado en AFC y dos grupos recibieron PBS en AFC. De un grupo de animales tratados con Cop-1 las retinas se escindieron 3 semanas después y el segundo grupo recibió Cop-1 2, 6 y 9 semanas más tarde. De este grupo, las retinas se escindieron 12 semanas después de la primera irradiación láser. De los dos grupos tratados con PBS-AFC, uno se analizó para supervivencia de CGR 3 semanas después de la primera irradiación láser y uno recibió inyección adicional de PBS-AFC a 2, 6 y 9 semanas después del láser y las retinas se escindieron 12 semanas después del primer láser. Los resultados se muestran en la **fig. 1**. La valoración del número de CGR supervivientes 3 y 12 semanas más tarde ha revelado una diferencia significativa entre las ratas control y las ratas inmunizadas con Cop-1 y las ratas inmunizadas con PBS, incluso 12 semanas tras la iniciación de la elevación de IOP. El efecto beneficioso de Cop-1 (expresada como % de muerte de CGR) se vio a las 3 semanas ( $12,6 \pm 5$  frente a  $45,7 \pm 8$ ,  $n = 7$ ) y a las 12 semanas ( $33,7 \pm 1,4$  frente a  $57,2 \pm 6,3$ ,  $n = 5$  y  $4$ , respectivamente). Así, 12 semanas después de la primera irradiación láser hubo pérdida adicional de CGR en relación a 3 semanas después (desde el 45,7 % a las 3 semanas hasta el 57,20 % en 12 semanas). Sin embargo la vacunación redujo la pérdida a las 12 semanas después del primer láser al 33,7 %. Parece que algunas pérdidas fueron inevitables pero algunas fueron susceptibles para protección incluso tanto tiempo como 12 semanas después de que IOP se elevara primero.

#### **Ejemplo 2. Inmunización con Cop-1 sin adyuvante**

Dado que Cop-1 es un compuesto de peso molecular alto con epítopos múltiples, los autores de la presente invención consideran la posibilidad de que pueda ser inmunogénico incluso sin adyuvante.

En un primer experimento, las ratas se sometieron a elevación de IOP y recibieron inyección subcutánea de diferentes dosificaciones de Cop-1 libre de adyuvante en diversas dosificaciones (100, 250, 500 y 1000 µg) en el primer día de tratamiento con láser; los animales control recibieron PBS. Los resultados se representan en la **fig. 2A** y muestran que el efecto óptimo podría lograrse con 500 µg de Cop-1 inyectados por vía subcutánea a la rata; la dosificación mayor o menor fue menos eficaz. El grupo tratado con 500 µg mostró el efecto más alto:  $26,6 \pm 10$  % de la muerte de CGR según se compara con  $44 \pm 6$  % de la muerte de CGR en el grupo tratado con 100 µg y  $50,5 \pm 8$  % de muerte de CGR en el grupo tratado con 250 µg. En todos los grupos se incluyeron 4-6 animales.

En otro experimento, los autores de la presente invención examinaron también el ritmo y la frecuencia y encontraron que la inyección en el día 7 más que en el día 0 después de elevación de IOP fue más efectiva, mientras que la inyección repetida bien a intervalos de una semana o bien diariamente, fue menos efectiva. Las ratas se sometieron a IOP y recibieron 500 µg de Cop-1 libre de adyuvante bien inmediatamente después del primer láser (0), o bien una

semana después (7) o bien tanto en el día 0 como en el día 7 (0, 7) o bien diariamente durante 7 días consecutivos comenzando el día 0 (0-7). El grupo control recibió PBS. Las retinas se escindieron 3 semanas más tarde. Los resultados se representan en la **fig. 2B** y muestran que el % de muerte de CGR fue el más bajo en el grupo que recibió una inyección individual en el día 7 y el más alto en el grupo que recibió inyecciones diarias durante 7 días (19,1 ± 4,7 frente a 41,4 ± 6, p < 0,01).

El efecto de Cop-1 libre de adyuvante se probó también 6 semanas después de que la IOP se elevara primero. Se comprobó que dos inyecciones -una en el día 0 y la segunda 3 semanas más tarde- fueron más efectivas que una inyección individual después de 3 semanas, sugiriendo que la vacunación se sincronizaría con la cinética de la muerte, de otro modo sería menos efectiva. Dado que la muerte empieza con anterioridad a 3 semanas después de que la IOP se eleve primero, es menos efectiva si la primera inyección se da 3 semanas después de que la IOP se eleve primero.

### Ejemplo 3. El efecto de Cop-1 es dependiente de células T

Verificando que el efecto de Cop-1 está realmente mediado por el sistema inmune y no actúa como un fármaco local, los autores de la presente invención administraron Cop-1 a animales deprimidos en células T en los que IOP estaba elevada.

En un primer experimento, las ratas adultas normales y las ratas adultas deprimidas en células T (como resultado de timectomía en el nacimiento) se sometieron a IOP elevada. Inmediatamente después de la elevación de IOP, los animales recibieron Cop-1, una inyección individual, o PBS, o brimonidina diariamente. Tres semanas después se escindieron las retinas y se contaron las CGR. Murió un menor porcentaje de CGR en animales no timectomizados que en animales timectomizados tras la elevación de IOP (34 ± 3 frente a 50,2 ± 3, p < 0,001, n = 6 y 5, respectivamente). Como se muestra en las **figuras 3A y 3B**, en los animales timectomizados tratados con el fármaco de glaucoma agonista del adrenergico  $\alpha_2$  brimonidina, la pérdida de CGR fue menor que en los animales timectomizados no tratados o que en las ratas timectomizadas tratadas con Cop-1 [38 ± 7 (n = 6) frente a 55 ± 5,2 (n = 5); p = 0,001]. El efecto de brimonidina y Cop-1 en animales no timectomizados con IOP elevada se muestra en la **fig. 3B**. El tratamiento en animales no timectomizados con Cop-1 fue más eficaz que brimonidina (23,5 ± 5,7 frente a 34,5 ± 3,51, p < 0,05). El % de muerte en el grupo control no tratado fue 47,9 ± 7,5. La no sinergia entre los dos tratamientos fue evidente.

Así, según lo esperado, la pérdida en animales deprimidos en células T fue más alta que en animales normales (50 % frente al 30 %). En segundo lugar, Cop-1 no redujo pérdida de CGR inducida por IOP en animales deprimidos en células T (55 % frente al 50 %). En contraste, el agonista de adrenergico  $\alpha_2$  usado como un control positivo, protegió de pérdida de CGR incluso en animales timectomizados (**fig. 3A**). Los autores de la presente invención también pusieron a prueba si hay una sinergia entre el agonista de adrenergico  $\alpha_2$  brimonidina y Cop-1 en proteger CGR de muerte inducida por IOP en animales normales. La **figura 3B** muestra que no hay ningún aditivo o sinergia entre los dos compuestos hasta el punto de la extensión de la protección de las CGR cuando se dan simultáneamente. Estos resultados muestran así que Cop-1 es un inmunógeno fuerte y puede proteger CGR de muerte inducida con IOP tras una inyección individual 7 días después de que IOP se eleve.

### Ejemplo 4. Gotas oculares de Cop-1 protegen CGR en un modelo de IOP crónica

Dado que la terapia de Cop-1 está mediada por células T y los autores de la presente invención han demostrado anteriormente que una inyección individual sin adyuvante es suficiente para manifestar protección, los autores de la presente invención exploran ahora la posibilidad de usar Cop-1 como gotas oculares sin adyuvante. Asumiendo que aproximadamente el 10 % de las gotas oculares entren en la sangre, los autores de la presente invención aplicaron gotas equivalentes a 5 mg de Cop-1 (diez veces los 500 µg óptimos que se encontró que son activos cuando se dieron subcutáneamente). Las gotas oculares de Cop-1 se dieron bien inmediatamente después (**fig. 4A**) o bien 7 días después (**fig. 4B**) de la elevación de IOP en un modelo crónico. La protección de Cop-1 con las gotas oculares fue tan efectiva como cuando se dan subcutáneamente, cuando se valoró 3 semanas después de elevación de la presión (p < 10<sup>-5</sup>; 103 CGR frente a 150 CGR).

### Ejemplo 5. Gotas oculares de Cop-1 protegen CGR de muerte inducida por IOP en un modelo de IOP aguda.

Los resultados de la IOP crónica alentaron a los autores de la presente invención a examinar si Cop-1 puede proteger de la pérdida de IOP inducida en un modelo agudo de glaucoma.

Los autores de la presente invención establecieron previamente un modelo bien calibrado de una elevación transitoria de IOP (1 hora para 5332,88 pascales (40 mm de Hg)) que dió como resultado dos semanas más tarde una pérdida de aproximadamente el 50 % de las CGR. La aplicación de Cop-1 sin adyuvante en este modelo agudo de elevación de IOP dió como resultado 2 semanas más tarde pérdida de solamente el 20 %.

Usando el modelo de elevación de IOP agudo en ratas de Lewis con un promedio de IOP de 7299,38 ± 1466,54 pascales (54,75 ± 11 mm de Hg), los autores de la presente invención vacunaron subcutáneamente (**fig. 5A**) o tópicamente (gotas oculares; **fig. 5B**) bien con Cop-1 o bien con vehículo (PBS). Se dió un total de 5 mg de Cop-1 a cada animal durante un tratamiento de 25 minutos inmediatamente después de una hora de la IOP elevada. La tasa

de muerte promedio dos semanas después de elevación de IOP fue del 58,58 %  $\pm$  7,42 (n = 4) en el grupo control y 31,12 %  $\pm$  3,22 en el grupo vacunado con Cop-1 (n = 4) (p < 0,001).

5 Parecía que las dos vías de administración fueron eficaces de forma similar en proteger CGR, como se valoró dos semanas después de que se elevase IOP. Probando que las gotas oculares proporcionaron una vía de inmunización y no un modo de aplicación de un fármaco local, los autores de la presente invención elevaron la presión en un ojo y aplicaron Cop-1 en gotas oculares al lado contralateral. Se obtuvo el mismo efecto que cuando se dan ipsilateralmente.

## REFERENCIAS

- 10 Aharoni R., Teitelbaum D., Arnon R., Sela M. Copolymer 1 inhibits manifestation of graft rejection. *Transplantation* **27**, 598 (2001).
- Bakalash, S., Kipnis, J., Yoles, E. & Schwartz, M. Resistance of retinal ganglion cells to an increase in intraocular pressure is immune-dependent. *Invest. Ophthalmol Vis. Sci.* **43**, 2648-2653 (2002).
- 15 Fridkis-Hareli M, Neveu JM, Robinson RA, Calle WS, Gauthier L, Wucherpfennig KW, Sela M, Strominger JL. Binding motifs of copolymer 1 to multiple sclerosis- and rheumatoid arthritis-associated HLA-DR molecules. *J Immunol* **162** (8): 4697-4704 (1999).
- Fridkis-Hareli M, Santambrogio L, Sistema N, Fugger L, Brosnan C, Strominger JL. Novel synthetic amino acid copolymers that inhibit autoantigen-specific T cell responses and suppress experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest* **109** (12): 1635-1643 (2002).
- 20 Hauben, E., Nevo, U., Yoles, E., Moalem, G., Agranov, E., Mor, F., Akselrod, S., Neeman, M., Cohen, I.R. y Schwartz, M. Autoimmune T cells as potential neuroprotective therapy for spinal cord injury. *Lancet* **355**: 286-287 (2000).
- Jia, L., Cepurna, W. O., Johnson, E. C. & Morrison, J. C. Patterns of intraocular pressure elevation after aqueous humor outflow obstruction in rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **41**, 1380-1385 (2000a).
- 25 Jia, L., Cepurna, W. O., Johnson, E. C. y Morrison, J. C. Effect of general anesthetics on IOP in rats with experimental aqueous outflow obstruction. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **41**, 3415-3419 (2000b).
- Kipnis, J. y Schwartz, M. Dual Action of Glatiramer Acetate (Cop-1) as a Treatment for Autoimmune Diseases and a Vaccine for Protective Autoimmunity after CNS Injury. *Trends Mol. Med.* **8**, 319-323 (2002).
- 30 Kipnis J, Yoles E, Porat Z, Cohen A, Mor F, Sela M, Cohen IR, Schwartz M. T cell immunity to copolymer 1 confers neuroprotection on the damaged optic nerve: possible therapy for optic neuropathies. *Proc. Natl. Acad. Sci. E E . U U .* **97**, 7446-7451 (2000).
- Kipnis J, Yoles E, Schori H, Hauben E, Shaked I, Schwartz M. Neuronal survival after CNS insult is determined by a genetically encoded autoimmune response. *J. Neurosci.* **21**, 4564-4571. (2001).
- 35 Levkovitch-Verbin H, Quigley HA, Martin KR, Valenta D, Baumrind LA, Pease ME. Translimbal laser photocoagulation to the trabecular meshwork as a model of glaucoma in rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **43**, 402-410. (2002).
- Mizrahi, T., Hauben, P. y Schwartz, M. The tissue-specific self-pathogen is the protective self-antigen: The case of uveitis. *J. Immunol.* **169**, 5971-5977 (2002).
- Moalem, G., Leibowitz-Amit R, Yoles E, Mor F, Cohen IR, Schwartz M. Autoimmune T cells protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy. *Nat. Med.* **5**, 49-55 (1999).
- 40 Mukibi-Muka G, Jones RC, Kibenge FS. Serological response and virus shedding of chickens inoculated with reovirus via different routes. *Res Vet Sci* **37** (2): 227-9 (1984).
- Russell PH, Mackie A. Eye-drop DNA can induce IgA in the tears and bile of chickens. *Vet Immunol Immunopathol* **80** (3-4): 327-32 (2001).
- 45 Schlegel PG, Aharoni R et al. A synthetic random copolymer with promiscuous binding to class II MHC molecules inhibits T-cell proliferative response to major and minor histocompatibility antigens in vitro and confers the capacity to prevent murine graft-versus-host disease in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* **93**, 5061 (1996).
- Schori, H., J. Kipnis, E. Yoles, E. WoldeMussie, G. Ruiz, L. A. Wheeler y M. Schwartz. Vaccination for protection of retinal ganglion cells against death from glutamate cytotoxicity and ocular hypertension: implications for glaucoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. E E . U U .* **98**, 3398-3403 (2001).
- 50 Schori, H., Lantner, F., Shachar, I. y Schwartz, M. Severe immunodeficiency has opposite effects on neuronal

survival in glutamate-susceptible and -resistant mice: Adverse effect of B cells. *J. Immunol.* **169**, 2861- 2865 (2002).

Schwartz, M., Belkin, M., Yoles, E. y Solomon, A. Potential treatment modalities for glaucomatous neuropathy: neuroprotection and neuroregeneration. *J. Glaucoma* **5**, 427-432 (1996).

5 Schwartz, M. y Kipnis, J. Multiple sclerosis as a by-product of the failure to sustain protective autoimmunity: A paradigm shift. *The Neuroscientist* **8**, 405-413 (2002).

Schwartz, M. y Yoles, E. Neuroprotection: a new treatment modality for glaucoma? *Curr. Opin. Ophthalmol.* **11**, 107-111 (2000a).

Schwartz, M. y Yoles, E. Self-destructive and self-protective processes in the damaged optic nerve: implications for glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **41**, 349-351 (2000b).

10 Sharma JM. Introduction to poultry vaccines and immunity. *Adv. Vet. Med.* **41**, 481-94 (1999).

Yoles E, Hauben E, Palgi O, Agranov E, Gothilf A, Cohen A, Kuchroo V, Cohen IR, Weiner H, Schwartz M. Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma. *J. Neurosci.* **21**, 3740-3748. (2001).

**Listado de secuencias**

<110> YEDA RESEARCH AND DEVELOPMENT CO. LTD.

15 EISENBACH-SHWARTZ, Michal  
 BAKALASH, Sharon  
 FULGA, Valentín

<120> VACUNA EN FORMA DE GOTAS OCULARES QUE CONTIENE COPOLÍMERO 1 PARA INMUNIZACIÓN TERAPÉUTICA

20 <130> PRON-026 PCT  
 <150> Documento US 60/438.310  
 <151> 2003-01-07  
 <160> 32  
 <170> PatentIn version 3.1

25 <210> 1  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Péptido sintético

<400> 1

35 **Ala Ala Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**  
**1 5 10 15**

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 2

10 **Ala Glu Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 3

<211> 15

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

20

<400> 3

**Ala Lys Glu Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

25

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 4

35

**Ala Lys Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

10 <400> 5

**Ala Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

15 <210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 6

25 **Lys Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 7

<211> 15

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

35

<400> 7

**Ala Glu Glu Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

<210> 8

5 <211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido sintético

<400> 8

**Ala Ala Glu Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**15 1 5 10 15**

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

25 <400> 9

**Glu Lys Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

30 <210> 10

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido sintético



<400> 10

**Ala Ala Lys Tyr Glu Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

5

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 11

15

**Ala Ala Lys Tyr Ala Glu Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 12

20

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25

<223> Péptido sintético

<400> 12

**Glu Ala Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala**

30

**1                    5                    10                    15**

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 13

5 **Glu Lys Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

<210> 14

<211> 15

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

15

<400> 14

**Glu Ala Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

20

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 15

30

**Ala Glu Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

<210> 16

35 <211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

5 <400> 16

**Ala Lys Glu Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

10 <210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 17

20 **Ala Lys Lys Tyr Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

<210> 18

<211> 15

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

30

<400> 18

**Ala Lys Lys Tyr Ala Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

35

<210> 19

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 19

10 **Ala Glu Ala Tyr Lys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 20

<211> 15

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

20

<400> 20

**Lys Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

25

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

30

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 21

35

**Ala Glu Glu Tyr Lys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

20

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

10 <400> 22

**Ala Ala Glu Tyr Lys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

15 <210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 23

25 **Glu Lys Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 24

<211> 15

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

35

<400> 24

**Ala Ala Lys Tyr Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 25

5 <211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Péptido sintético

<400> 25

**Ala Ala Lys Tyr Ala Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**15    1                    5                    10                    15**

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

20 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

25 <400> 26

**Glu Lys Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

30 <210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido sintético

<400> 27

**Glu Ala Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

5

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 28

15

**Ala Glu Tyr Ala Lys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 29

20

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

25

<223> Péptido sintético

<400> 29

30

**Ala Glu Lys Ala Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1                    5                    10                    15**

<210> 30

<211> 15

35

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 30

5

**Glu Lys Tyr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

<210> 31

10 <211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 31

**Ala Tyr Lys Ala Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**20 1 5 10 15**

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido sintético

30 <400> 32

**Ala Lys Tyr Ala Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala**

**1 5 10 15**

35



**REIVINDICACIONES**

1. Una vacuna para su uso en un procedimiento de inmunización terapéutica de un mamífero que comprende Copolímero 1, en el que la vacuna se administra en forma de gotas oculares para conferir de este modo neuroprotección sistémica en dicho mamífero.
- 5 2. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha vacuna comprende Copolímero 1 sin un adyuvante.
3. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha vacuna comprende Copolímero 1 con un adyuvante soluble.
4. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicho adyuvante soluble es una citocina.
- 10 5. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 4, en la que dicha citocina es IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$  o GM-CSF.
6. Copolímero 1 para su uso como una vacuna para la inmunización terapéutica de un mamífero, en la que la vacuna se administra en forma de gotas oculares para de este modo conferir neuroprotección sistémica en dicho mamífero.
- 15 7. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha vacuna es para tratar la degeneración neuronal causada por una lesión, enfermedad, trastorno o afección en el sistema nervioso central (SNC) o en el sistema nervioso periférico (SNP), para evitar o inhibir degeneración secundaria neuronal que puede de otro modo seguir a un daño primario en el SNC, para promover regeneración nerviosa en el SNC o en el SNP después de una lesión, enfermedad, trastorno o afección, o para proteger células del SNC y del SNP de la toxicidad del glutamato.
- 20 8. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha lesión es lesión de la médula espinal, traumatismo contuso, traumatismo penetrante, golpe o contragolpe cerebral, apoplejía hemorrágica, o apoplejía isquémica.
- 25 9. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicha enfermedad es una demencia senil incluyendo enfermedad de Alzheimer, un síndrome parkinsoniano incluyendo enfermedad de Parkinson, parálisis del nervio facial (de Bell), corea de Huntington, una enfermedad de neuronas motoras incluyendo esclerosis lateral amiotrófica, una enfermedad priónica incluyendo la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Alper, enfermedad de Batten, síndrome de Cockayne, enfermedad de cuerpos de Lewy, estado de mal epiléptico, síndrome del túnel carpiano, hernia de disco intervertebral, deficiencia vitamínica tal como deficiencia de vitamina B, epilepsia, amnesia, ansiedad, hiperalgesia, psicosis, convulsiones, estrés oxidativo, tolerancia y dependencia a opiáceos, una enfermedad autoinmune tal como esclerosis múltiple (EM), o una neuropatía periférica relacionada con una enfermedad tal como polineuropatía amiloide, neuropatía diabética, neuropatía urémica, polineuropatía porfírica, hipoglucemia, síndrome Sjogren-Larsson, neuropatía sensorial aguda, neuropatía atáxica crónica, cirrosis biliar, amiloidosis primaria, enfermedades pulmonares obstructivas, acromegalia, síndromes de malabsorción, policitemia vera, gammopatías de IgA e IgG, complicaciones de diversos fármacos tales como nitrofurantoína, metronidazol, isoniazida y toxinas tales como alcohol u organofosfatos, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, ataxia telangiectasia, ataxia de Friedreich, adrenomielloneuropatía, neuropatía axonal gigante, enfermedad de Refsum, enfermedad de Fabry, lipoproteinemia, neuropatía óptica no arterítica, degeneración macular relacionada con la edad, un trastorno retiniano tal como degeneración retiniana o una enfermedad asociada con presión intraocular anormalmente elevada tal como glaucoma.
- 30 10. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha enfermedad autoinmune es esclerosis múltiple.
- 35 11. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicha vacuna comprende Copolímero 1 sin un adyuvante.
- 40 12. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que dicha vacuna comprende Copolímero 1 con un adyuvante soluble.
- 45 13. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho adyuvante soluble es una citocina.
14. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dicha citocina es IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$  o GM-CSF.
- 50 15. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha vacuna es para su administración a una frecuencia de al menos una vez cada día o en días alternos a un paciente con esclerosis múltiple.
16. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha vacuna es para su administración periódicamente a una frecuencia de al menos una vez cada siete días, al menos una vez cada mes hasta al menos

una vez cada 2-3 meses, a un paciente de esclerosis no múltiple.

17. Copolímero 1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 16, para su administración a un paciente de glaucoma.

5 18. Copolímero 1 para su uso como vacuna para tratamiento de glaucoma en el que la vacuna es administrada en forma de gotas oculares.

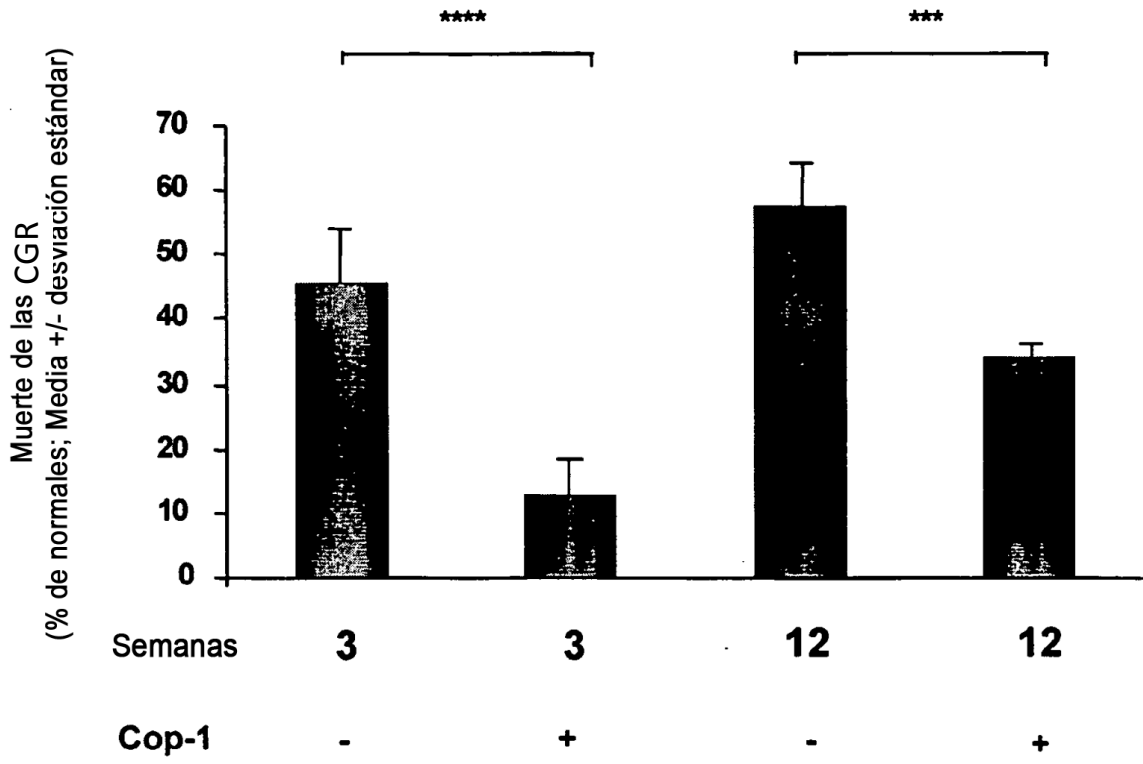


Fig. 1

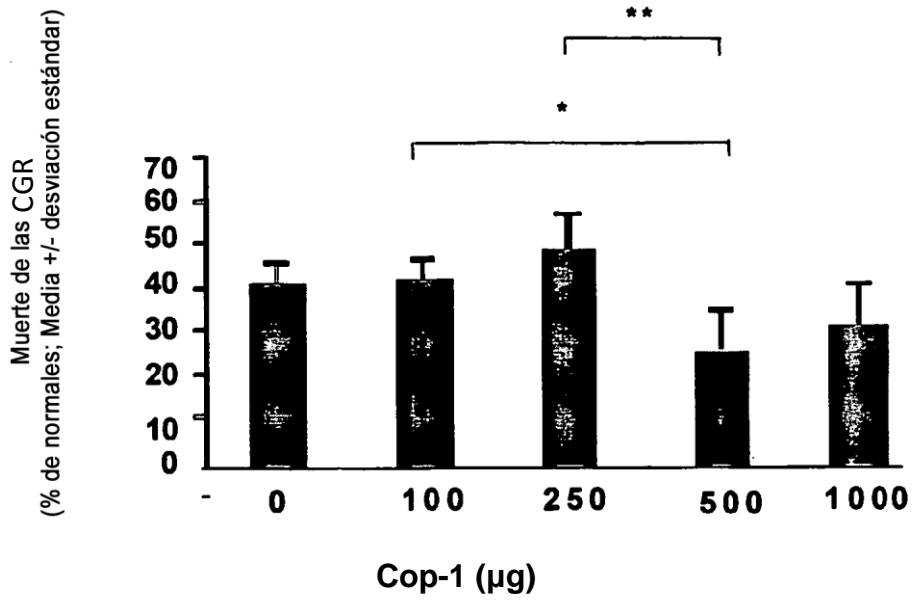


Fig. 2A

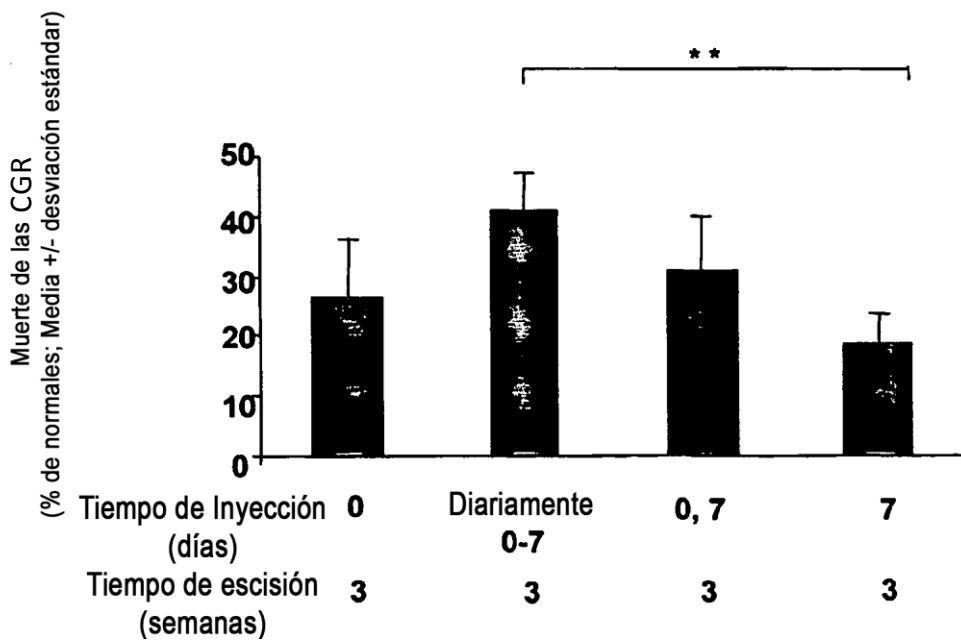


Fig. 2B

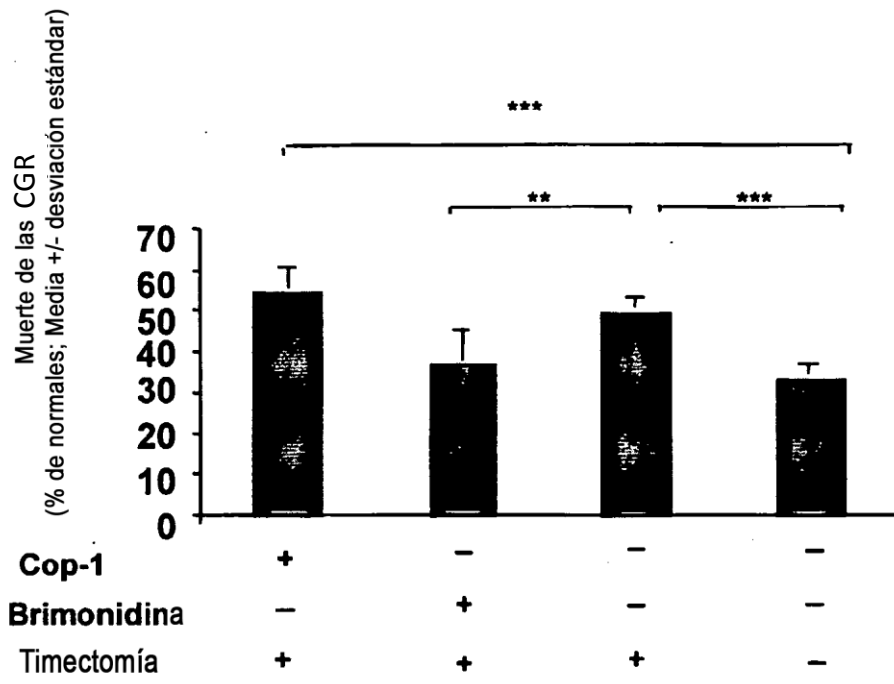


Fig. 3A

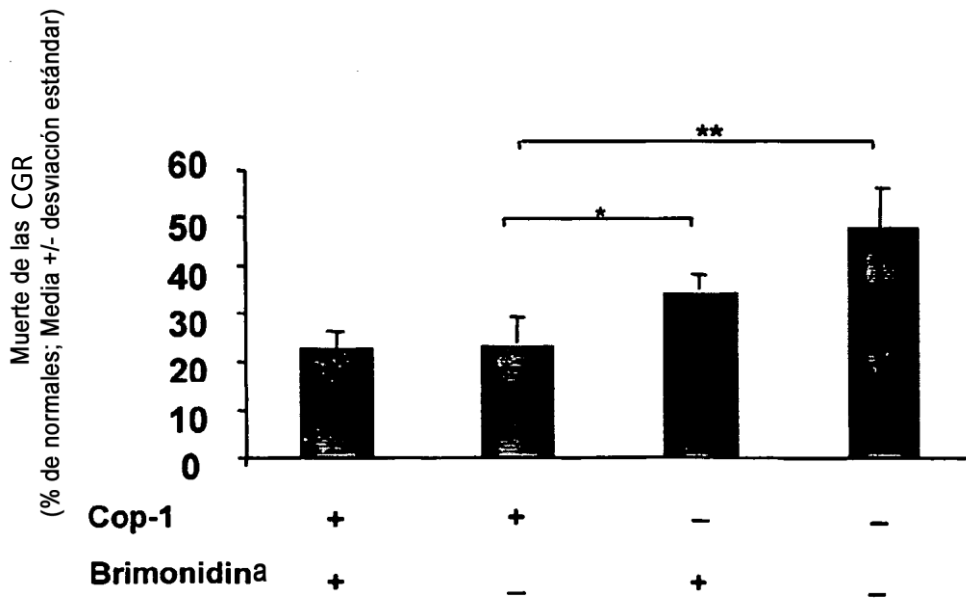


Fig. 3B

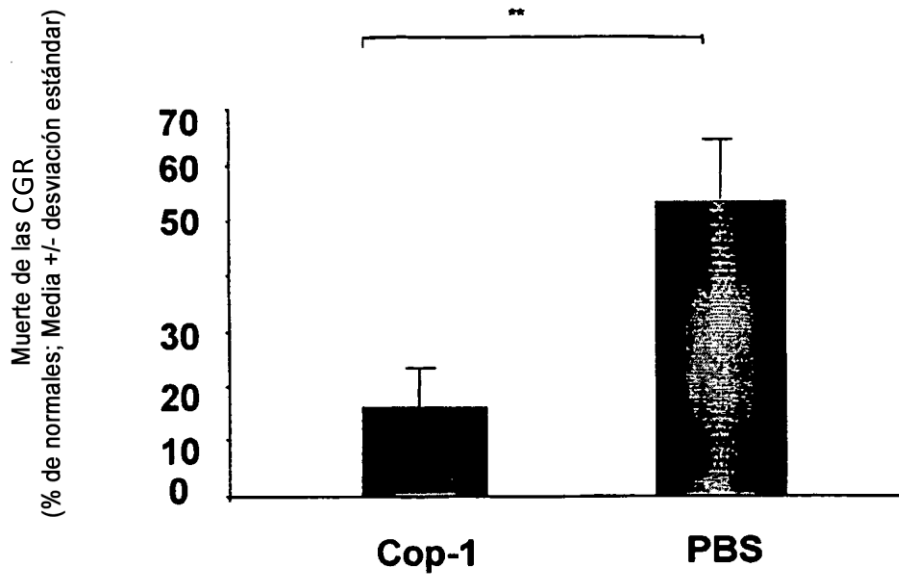


Fig. 4A

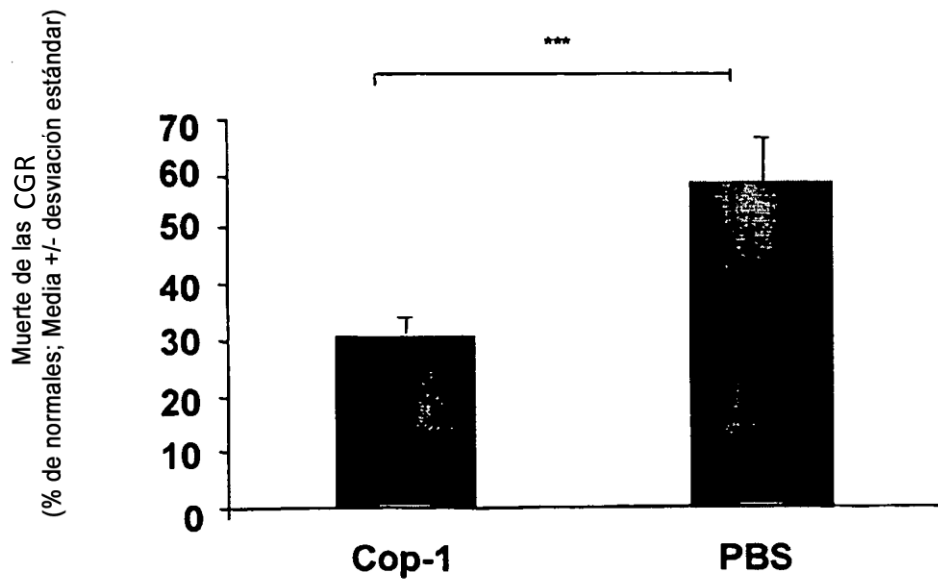


Fig. 4B

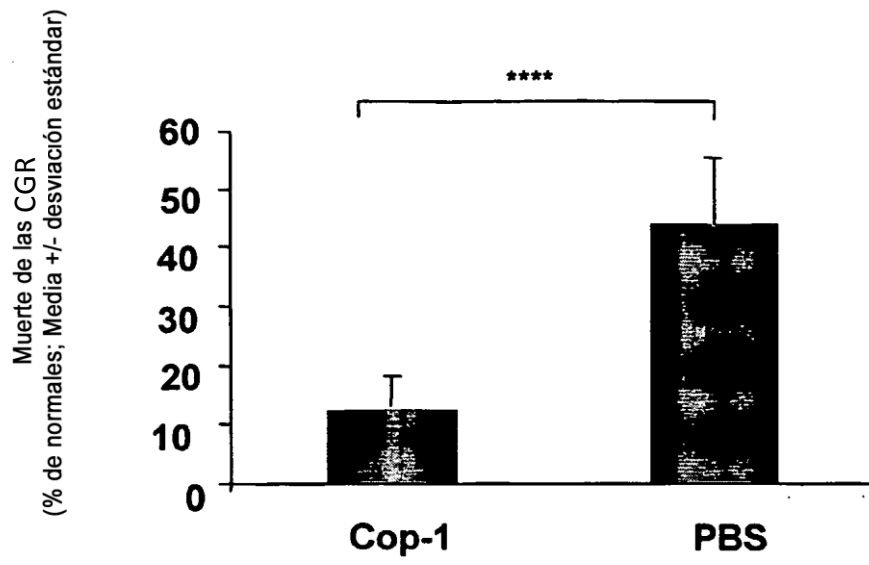


Fig. 5A

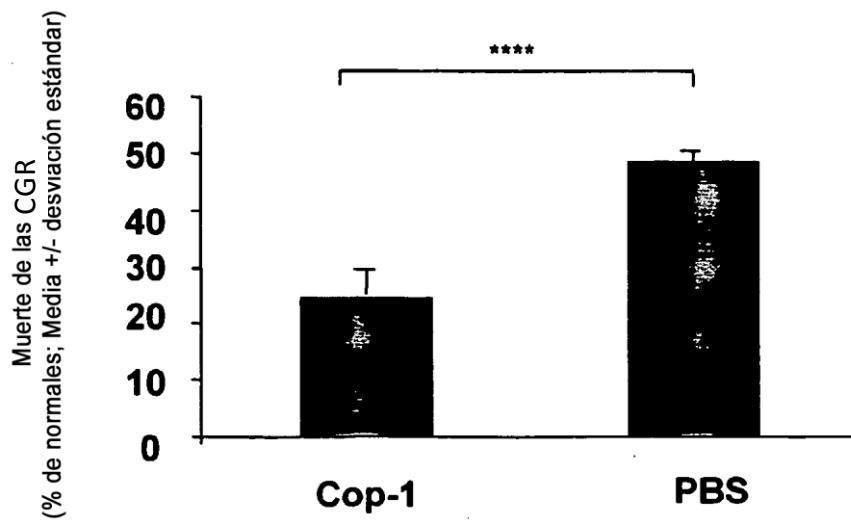


Fig. 5B