

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 408**

51 Int. Cl.:
C07K 16/34 (2006.01)
C07K 16/06 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06835740 .9**
96 Fecha de presentación: **29.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1969011**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2008**

54 Título: **Preparación para el tratamiento de trombocitopenia aloimmune neonatal (TAIN)**

30 Prioridad:
03.01.2006 US 755062 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.09.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.09.2012

73 Titular/es:
Prophylix Pharma AS
Forskningsparken Sykehusvegen 23
9019 Tromsø, NO

72 Inventor/es:
SKOGEN, Bjørn;
HUSEBEKK, Anne;
KILLIE, Mette, Kjær y
KJELDSEN-KRAGH, Jens

74 Agente/Representante:
Arias Sanz, Juan

ES 2 387 408 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

Preparación para el tratamiento de trombocitopenia aloimmune neonatal (TAIN)

5 Antecedentes – Campo de la invención

La invención se refiere a una preparación útil para el tratamiento profiláctico de mujeres tras el parto para evitar la inmunización y la producción de anticuerpos, que podrían inducir TAIN y hemorragia fetal/neonatal en embarazos posteriores.

10

Antecedentes de la invención

Púrpura trombocitopénica aloimmune neonatal (PTAIN)

15 El dos por ciento de las personas blancas son homocigotos para el antígeno plaquetario humano (HPA) 1b. El antígeno HPA 1a es un potente inmunógeno y el diez por ciento de las mujeres embarazadas negativas para HPA 1a producen anticuerpos contra el antígeno HPA 1a después de la inmunización con las plaquetas positivas para HPA 1a de sus fetos. La mayoría de estas mujeres tienen el antígeno mayor de histocompatibilidad HLA-DRB3*0101, pero hay ejemplos de mujeres con otros antígenos HLA DR que producen los anticuerpos. La
20 inmunización puede tener lugar temprano en el primer embarazo lo que hace el feto trombocitopénico ya en la 16^a-20^a semana de gestación. La hemorragia intracraneal puede ser letal, o el feto puede sobrevivir con secuelas neurológicas. Se describe que la trombocitopenia aloimmune fetal está presente en 1:1000-2000 embarazos.

25 La mayoría de los estudios que describen frecuencias de anticuerpos anti-HPA 1a se han hecho retrospectivamente en mujeres que dan a luz bebés trombocitopénicos con síntomas de hemostasia deficiente. Recientemente, un estudio retrospectivo de 100.448 mujeres embarazadas mostró una frecuencia de HPA 1bb del 2,1%. El 10,6% de las mujeres en riesgo tenía anticuerpos anti-HPA 1a y 55 recién nacidos tuvieron trombocitopenia grave.

30 DUNSMOREE K P: "Intravenous immunoglobulin g therapy in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia", BIODRUGS, 1997, Nueva Zelanda, vol. 8, no. 4, 1997, páginas 265 a 272 describe el uso de inmunoglobulina g intravenosa (IVIg) en el tratamiento de fetos y lactantes con trombocitopenia aloimmune neonatal (TAIN). Además, se discuten estrategias de tratamiento incluyendo transfusión de plaquetas compatibles, uso de corticosteroides y exanguinotransfusión. En vista de los riesgos y desventajas de estas terapias se indica que esperanzadoramente estudios adicionales permitan opciones terapéuticas adicionales.

35

Actualmente no hay un acuerdo general sobre cómo gestionar el seguimiento de las mujeres embarazadas con anticuerpos anti-HPA 1a para reducir el riesgo de hemorragia en el feto/neonato. No hay ningún parámetro prenatal fiable para predecir que fetos que son susceptibles a trombocitopenia potencialmente mortal y por tanto necesitan un seguimiento más cercano o intervención.

40

Para abordar las cuestiones relacionadas con las pruebas previsibles para trombocitopenia y tratamiento de los recién nacidos para reducir el riesgo de hemorragia, se emprendió una investigación prospectiva de muestras de mujeres embarazadas enviadas a nuestro laboratorio en los Departamentos para Inmunología y Medicina de Transfusión, Hospital Universitario de Noruega del Norte y Hospital Universitario Ullevål, para las pruebas de Rhesus D (RhD).

45

Hasta ahora, la opinión general era que la inmunización con antígeno HPA 1a tenía lugar durante el primer embarazo no compatible. Nuestra investigación ha divulgado, sin embargo, que en el 70-80% de esas mujeres con anticuerpos contra HPA 1a, la inmunización se produce en asociación con el parto, ya que los anticuerpos se pueden detectar 6 semanas después del parto pero no en el momento del parto. Esta es una observación muy importante y muestra que el momento para la inmunización en TAIN es muy similar al visto en la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), al contrario que la creencia actualmente mantenida en la técnica.

50

Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN)

55

Una mujer negativa para Rhesus D (RhD) con un feto positivo para RhD, puede producir anticuerpos contra los eritrocitos de su hijo si los glóbulos rojos entran en su circulación. Sus anticuerpos de la clase IgG pueden traspasar la barrera de la placenta y destruir los glóbulos rojos del feto. Hemolisis y anemia son los resultados más comunes de tal transferencia de anticuerpos, pero las complicaciones más temidas son la eritroblastosis fetal y la muerte. En la EHRN, la inmunización tiene lugar cuando nace el primer hijo, y los anticuerpos contra Rh(D) se pueden detectar después del término del embarazo. Los anticuerpos no son un problema en el primer embarazo, pero pueden afectar al siguiente hijo no compatible.

60

Hoy es posible prevenir la generación de anticuerpos anti-Rh(D) en asociación con el embarazo. En las 72 horas después del parto, a la mujer se le da una inyección intramuscular de anticuerpos contra el antígeno, es decir anti-Rh(D). La explicación aceptada para el efecto es que tales anticuerpos destruirán o eliminarán los glóbulos rojos

65

fetales que han pasado a la circulación de la madre, y previenen la inmunización y la formación de anticuerpos contra el antígeno Rh(D).

La preparación de anticuerpos es un concentrado de IgG hecho del plasma de individuos con anti-Rh(D) en su circulación. Los individuos normales pueden tener anti-Rh(D) como consecuencia de profilaxis insuficiente con anti-Rh(D) en mujeres embarazadas D negativas, transfusión de sangre Rh(D) positiva a receptores Rh(D) negativos o como resultado de inmunizaciones activas. "Rhesogamma P <<ZLB Behring>>" es una inmunoglobulina humana que contiene anti-D para la prevención de EHRN. 1,5 ml de la preparación contienen 1500 IE (200 microgramos) de anti-D, que hacen una dosis terapéutica. La cantidad total de IgG en una dosis es 255 mg. Diez dosis se venden por el precio de 3200 NOK.

Un prerrequisito para un tratamiento eficaz es que la profilaxis se dé antes de que se establezca la respuesta inmune en la madre. Este es el caso en EHRN, ya que la inmunización y la producción de anticuerpos tienen lugar después del parto del primer hijo. El tratamiento es muy eficaz, y la EHRN debida a anti-D se ve rara vez hoy.

Tratamiento actual de TAIN

Actualmente, no hay tratamiento profiláctico para TAIN como es el caso con EHRN. Los recién nacidos con TAIN son tratados con transfusiones de plaquetas o inyecciones intravenosas de gamma globulinas después del nacimiento. Si una mujer da a luz un niño con TAIN grave, ella misma puede ser tratada con altas dosis de IgG intravenosa y/o esteroides en su siguiente embarazo. En casos particulares, al niño se le pueden transfundir plaquetas compatibles varias veces durante la segunda mitad del embarazo. Este procedimiento se asocia con un alto índice de mortalidad, aproximadamente el 1% en cada punción. Estas modalidades de tratamiento son solo elegibles cuando la mujer ha dado a luz un hijo trombocitopénico en un embarazo previo. De este modo, el primer hijo nace sin ningún tipo de acción preventiva. En cualquier caso, otro tratamiento posnatal puede llegar demasiado tarde, ya que el daño al niño se puede producir durante el parto o poco después.

Compendio de la invención

La opinión actual en este campo es que la inmunización de la madre se produce durante, y no después del primer embarazo no compatible. Por tanto, el tratamiento profiláctico no ha sido una opción. Ahora, con nuestra sorprendente observación de que la inmunización, en aproximadamente el 70-80% de los casos, tiene lugar después del primer embarazo no compatible, hay una buena razón para creer que también esta afección podría estar influida por un tratamiento similar como se usa para EHRN.

Las mujeres Rh(D) negativas que dan a luz hijos Rh(D) positivos tienen el riesgo de producir anticuerpos contra el antígeno Rh(D) presente en los eritrocitos de los hijos. La estimulación de tal producción de anticuerpos, es un resultado de la entrada de eritrocitos fetales en la circulación de la madre en asociación con el parto. El punto crucial es que la madre no haya sido estimulada con eritrocitos fetales durante el embarazo, de modo que el primer estímulo que recibe es el resultante de los eritrocitos fetales en el parto. Si a la madre se le dan anticuerpos contra Rh(D) después de haber recibido los eritrocitos fetales Rh(D) positivos en su circulación, pero antes de que su sistema inmune empiece a producir sus propios anticuerpos contra Rh(D), esta producción se bloquea. Se cree que los anticuerpos inyectados se unen a los eritrocitos fetales Rh(D) positivos y los destruyen antes de que sean capaces de estimular el sistema inmune de la madre para la producción de anticuerpos.

Según esto, se puede sustituir Rh(D), eritrocitos y anticuerpos contra Rh(D), con HPA 1a, plaquetas y anticuerpos contra HPA 1a, respectivamente.

Las mujeres negativas para HPA 1a que dan a luz hijos positivos para HPA 1a, tienen el riesgo de producir anticuerpos contra el antígeno HPA 1a presente en las plaquetas de los hijos. La estimulación de tal producción de anticuerpos, es un resultado de la entrada de plaquetas fetales en la circulación de la madre en asociación con el parto. El punto crucial es que la madre no haya sido estimulada con plaquetas fetales durante el embarazo, de modo que el primer estímulo que recibe es el resultante de las plaquetas fetales en el parto. Si a la madre se le dan anticuerpos contra HPA 1a después de haber recibido plaquetas fetales positivas para HPA 1a en su circulación, pero antes de que su sistema inmune empiece a producir sus propios anticuerpos contra HPA 1a, esta producción se bloqueará. Se cree que los anticuerpos inyectados se unirán a las plaquetas fetales positivas para HPA 1a y las destruirán antes de que sean capaces de estimular el sistema inmune de la madre para la producción de anticuerpos.

Según esto, la presente invención proporciona una pauta profiláctica similar a esa para EHRN pero aplicada para el tratamiento profiláctico de TAIN.

Se puede aislar una fracción de inmunoglobulinas que contiene anticuerpos contra HPA 1a de individuos con altos niveles del anticuerpo. Las mujeres que tienen tales anticuerpos como resultado de embarazos incompatibles previos, serían las donantes más preferidas. La preparación se hace mediante aislamiento de IgG total de plasma humano que contiene anti-HPA 1a. Una dosis terapéutica de 0,5-2,0 ml, preferiblemente 1,5 ml, que contiene 250-

300 mg de IgG, se administra mediante inyección tan pronto como sea posible después del parto, y como máximo a las 72 horas. La inyección se da una vez.

Descripción detallada de la invención

Basado en la investigación de los inventores, se ha descubierto sorprendentemente que en el 70-80% de las mujeres embarazadas con anticuerpos contra HPA 1a, la inmunización se produce en asociación con el parto a diferencia de durante el primer embarazo no compatible. Esta conclusión se basa en la observación de sujetos donde los anticuerpos se pueden detectar 6 semanas después del parto pero no en el momento del parto. Esta es una observación muy interesante y muestra que el momento para la inmunización en TAIN es muy similar al visto en la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), al contrario de la creencia actualmente sostenida en la técnica. Basada en esta correlación con EHRN, la presente invención proporciona una preparación útil para, y un método de tratamiento de TAIN que es similar a ese para EHRN.

La preparación

Es práctica actual hoy fraccionar IgG de plasma de donante de sangre normal para el tratamiento de la inmunodeficiencia. El plasma se recoge en los bancos de sangre, y el fraccionamiento lo realiza una compañía colaboradora. La preparación de inmunoglobulinas es aceptada para su uso por Statens Legemiddelverk (el organismo del gobierno noruego que regula los fármacos).

Para el fin de la presente invención es preferible seleccionar donantes con niveles altos de anti-HPA 1a. En el contexto de la invención, los donantes con "niveles altos" son preferiblemente mujeres que han dado a luz hijos con TAIN, que en el 80-90% de los casos, tienen niveles de anti-HPA 1a por encima de 200 UA/ml. Para definir las unidades arbitrarias (UA), se seleccionó un suero de una mujer que tuvo un hijo con trombocitopenia grave. A su suero se le dio la cantidad de anti-HPA 1a de 1000 UA/ml. Este suero se usa para crear una curva patrón para la cuantificación de otros niveles de anticuerpos de mujeres. Se pueden seleccionar sueros de mujeres con "altos niveles" (> 1000 UA/ml) para la producción de IgG para la preparación profiláctica.

Basándose en los criterios anteriores, se recoge suficiente plasma para hacer un lote procesable. El lote se fracciona después de ello por métodos conocidos en la industria de fraccionamiento. Tales métodos incluyen aislamiento de inmunoglobulina G de plasma mediante cromatografía de intercambio iónico o técnicas de inmunoadsorción o mediante la adsorción a proteína A-Sepharosa.

1 litro de plasma da aproximadamente 4,0 g de IgG, y 1 dosis terapéutica de anti-D consiste en aproximadamente 255 mg de IgG. Si se asume que la misma cantidad de IgG de plasma anti-HPA 1a sería suficiente para 1 dosis terapéutica, significa que 1 litro de plasma dará 16 dosis terapéuticas que contienen desde aproximadamente 100-400, preferiblemente de 200-300 mg de IgG.

Para asegurarse que la preparación contiene anticuerpos contra HPA 1a en cantidades suficientes, se realizarán experimentos de neutralización con plaquetas intactas. La comparación con la preparación de anti-D que se usa para la profilaxis de EHRN dará una indicación del potencial de la preparación anti-HPA 1a determinada. Se mezclan preparaciones de IgG con anti-RH (D) o anti-HPA 1a a una cierta concentración de IgG (250 mg/ml) con cantidades definidas de eritrocitos o plaquetas con los antígenos correspondientes en la superficie. Al mezclar diferentes cantidades de plaquetas y eritrocitos con las preparaciones de anticuerpos, se puede determinar exactamente cuántas plaquetas o eritrocitos se requieren para neutralizar los anticuerpos respectivos en las dos preparaciones de IgG diferentes. Las plaquetas y eritrocitos tienen cantidades definidas (números) de antígenos en la superficie; por tanto, se puede determinar cuántos anticuerpos de las especificidades respectivas que están presentes en cada preparación. Mediante ajustes en la concentración de IgG en cada preparación, se pueden hacer soluciones equimoleculares respecto a las moléculas de anticuerpo. De esta manera se pretende hacer una preparación de anti-HPA 1a que contenga tantas moléculas de anticuerpo específico como la preparación de anti-Rhesus(D). La hipótesis es que el mismo número de moléculas de anticuerpo tiene el mismo potencial para bloquear la respuesta inmune.

Una ventaja de la preparación hecha por el método descrito anteriormente es que será fácilmente aprobada para su uso, y no necesitará pasar por el proceso de registro entero que requiere mucho tiempo que es obligatorio para la introducción de fármacos nuevos.

Caracterización del producto:

La preparación para su uso como un medicamento según la invención preferiblemente comprende un concentrado hecho mediante el aislamiento de IgG total de plasma humano. La preparación puede contener cantidades representativas de todas las especificidades de anticuerpo que están presentes en el suero real recogido para el procesamiento. Además de esto, la preparación contiene anticuerpos IgG específicos para HPA 1a a niveles suficientes para inhibir una respuesta inmune en un sujeto hacia antígenos HPA 1a. Esos anticuerpos pueden

comprender una cantidad de IgG total desde aproximadamente el 0,1% hasta el 2% en peso. Los anticuerpos preferiblemente se disuelven en solución salina que contiene conservantes.

Dosis terapéutica:

- 5 Una dosis terapéutica está entre 0,5 ml - 2,0 ml de la preparación, preferiblemente 1,5 ml. 1,5 ml de la preparación contiene anticuerpos específicos contra HPA 1a. Una dosis terapéutica contiene más de 200 mg de IgG, preferiblemente de 250-300 mg de IgG.

10 **Prevención de la inmunización con plaquetas positivas para HPA 1a**

Los individuos diana para las inyecciones son mujeres, inmediatamente después del parto en su primer embarazo. Si han estado expuestas al antígeno en una ocasión anterior, el efecto del tratamiento podría ser mínimo.

- 15 Para localizar a los individuos diana, se puede emplear un procedimiento de cribado. Si se genotipan 50.000 embarazadas para el antígeno HPA 1a, se encontrarán aproximadamente 1.000 mujeres negativas para HPA 1a. Aproximadamente 400 de esas son primigestas, y se espera que aproximadamente 40 de ellas produzcan anticuerpos contra HPA 1a. 10 producirán anticuerpos durante el embarazo y 30 después del parto.

- 20 El objeto para el tratamiento es reducir el número de mujeres que producen anticuerpos después del parto. Las mujeres que tienen anticuerpos en el momento del parto no serán tratadas. Para las 30 que producen anticuerpos después del parto se espera bloquear la respuesta inmune en el 90% de los casos.

25 **Administración**

- Una dosis terapéutica de la preparación según la invención se puede inyectar por vía intramuscular tan pronto como sea posible, y en las 72 horas después del parto.

30 **Frecuencia de la inyección**

- La inyección se da preferiblemente una vez.

Frecuencia de tratamientos en Noruega por año

- 35 Aproximadamente se inician 70.000 embarazos cada año en Noruega. Esta cifra incluye partos normales, abortos espontáneos y provocados. Si el 2,1% de todas las personas blancas son negativas para HPA 1a, esto significa que aproximadamente 1.500 embarazadas se tienen que tratar cada año. Otra posible indicación para la profilaxis es las mujeres negativas para HPA 1a en edad fértil a las que se transfunde sangre positiva para HPA 1a. Esto estaría entre 200 y 400 pacientes al año.

40 **Ejemplo: Confirmación de la eficacia del tratamiento**

Anticuerpos 6 semanas después del parto:

- 45 Se identificarán aproximadamente 1.000 mujeres negativas para HPA 1a. Aproximadamente 400 de ellas son primigestas y se espera que aproximadamente 40 de ellas produzcan anticuerpos contra HPA 1a. 10 producirán anticuerpos durante el embarazo y 30 después del parto. Nuestro fin es reducir el número de mujeres que producen anticuerpos después del parto. Esas mujeres que tienen anticuerpos en el momento del parto no serán tratadas. Las 370 primigestas sin anti-HPA 1a detectable en el parto serán tratadas. Los niveles de anticuerpos se analizarán 6 semanas después del parto. Para las 30 que normalmente se espera que produzcan anticuerpos 6 semanas después del parto, no se espera encontrar anticuerpos anti-HPA 1a en el 70-90% de ellas después del tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación para su uso en un método de tratamiento profiláctico de trombocitopenia aloinmune neonatal, TAIN, preparación que es para la administración a una mujer que es negativa para el antígeno plaquetario humano HPA 1a, así como negativa para anticuerpos específicos contra el antígeno plaquetario humano HPA 1a, después de que haya recibido plaquetas fetales positivas para HPA 1a en su circulación en el parto de un hijo positivo para HPA 1a, pero antes de que su sistema inmune empiece a producir sus propios anticuerpos contra el HPA 1a de las plaquetas fetales,
- 5
- 10 en donde la preparación comprende una cantidad suficiente de anticuerpos contra HPA 1a de modo que inhiba sustancialmente el sistema inmune de la mujer de producir anticuerpos contra el HPA 1a de las plaquetas fetales, y
- 15 en donde la preparación es para la administración en las 72 horas después del parto.
2. Una preparación para su uso según la reivindicación 1, en donde los anticuerpos contra HPA 1a de la preparación se aíslan del plasma de mujeres que han tenido una respuesta inmune a HPA 1a en un embarazo anterior.
- 20 3. La preparación para su uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde una dosis de entre 0,5 ml - 2,0 ml de la preparación, preferiblemente aproximadamente 1,5 ml de la preparación, contiene más de 200 mg de IgG, preferiblemente de 250-300 mg de IgG.
- 25 4. La preparación para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el % total de anticuerpos contra HPA 1a de la dosis es desde el 0,1 al 2,0% en peso.