

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 691**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/48** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **10380071 .0**

96 Fecha de presentación: **20.05.2010**

97 Número de publicación de la solicitud: **2289540**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.03.2011**

54

Título: **ALFA-1-ANTITRIPSINA para utilización en el tratamiento del síndrome de fatiga crónica**

30

Prioridad:

**30.06.2009 ES 200930387**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:

**12.12.2012**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**12.12.2012**

73

Titular/es:

**GRIFOLS, S.A. (100.0%)**

**For all designated states Grifols, S.A. C/JESÚS Y  
MARÍA, 6  
08022 Barcelona, ES**

72

Inventor/es:

**GARCIA QUINTANA, ANA y  
ALEGRE MARTIN, JOSÉ**

74

Agente/Representante:

**DURÁN MOYA, Luis Alfonso**

ES 2 392 691 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

Alfa-1-antitripsina para utilización en el tratamiento del Síndrome de Fatiga Crónica

- 5 La presente invención se refiere a la utilización de la Alfa-1-antitripsina para la preparación de medicamentos eficaces para el tratamiento del Síndrome de Fatiga Crónica.

Antecedentes

- 10 El Síndrome de Fatiga Crónica (SFC) es una enfermedad compleja, definida por los criterios internacionales de Fukuda (Fukuda K, et al. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. Ann Intern Med. 1994; 121: 953-959) bajo la supervisión del Centro de Enfermedades de Atlanta (CDC). Según estos criterios, el diagnóstico del SFC se basa en el cumplimiento de 2 criterios mayores y en la coexistencia de como mínimo 4 criterios menores.

15

Criterios mayores

1. Fatiga física y mental persistente durante un mínimo de 6 meses, o intermitente, que se presenta de nuevo o con inicio definido, no es resultado de esfuerzos recientes, que no mejora con el descanso, y empeora con la actividad, y que ocasiona una reducción considerable de los niveles previos de actividad cotidiana del paciente, llegando a ser insuperable para el paciente.

20

2. Exclusión de otras enfermedades potencialmente causantes de fatiga crónica, como enfermedades endocrinas, infecciosas, neoplásicas y/o psiquiátricas.

25

Criterios menores

De forma concurrente, deben estar presentes 4 ó más de los siguientes criterios menores, todos ellos persistentes durante 6 ó más meses y posteriores a la presentación de la fatiga:

30

- Trastornos de concentración o memoria reciente.
- Odinofagia.
- Adenopatías cervicales o axilares dolorosas.
- Mialgias.
- 35 - Poliartralgias sin signos inflamatorios.
- Cefalea de inicio reciente o de características diferentes de la habitual.
- Sueño no reparador.
- Malestar postesfuerzo de duración superior a 24 horas.

35

- 40 Entre las enfermedades que podrían confundirse con el SFC se encuentra la Fibromialgia (FM), que es un síndrome caracterizado por un cuadro de dolor crónico musculoesquelético generalizado de origen no articular. Según los criterios de clasificación del American College of Rheumatology (The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. Arthritis Rheum 1990; 33(2): 160-172) las dos características fundamentales para el diagnóstico de la FM son:

45

- 1) la presencia de dolor generalizado de más de 3 meses de duración;
- 2) una sensibilidad anormal a la presión digital, con una fuerza aproximada de 4 kg, en al menos 11 de 18 puntos específicos, denominados "tender points". Además del dolor, las personas con FM experimentan algunos de los siguientes síntomas: trastornos del sueño, síndrome del intestino irritable, anquilosamiento y rigidez del cuerpo, dolores de cabeza o de la cara, malestar abdominal, vejiga irritable, parestesia, entumecimiento u hormigueo, dolores del pecho y costocondralgia (dolores musculares donde las costillas se juntan con el esternón), desequilibrios y mareos, etc. Los síntomas tienden a fluctuar y no necesariamente ocurren simultáneamente.

55

La FM y el SFC son dos enfermedades diferentes pero con una forma de presentación y síntomas muy similares, lo que confunde muchas veces al no experto. Pese a ello, pueden coexistir en muchos pacientes. Casi un 80% de enfermos con SFC, cumplen los criterios para la clasificación de la FM, aunque solo entre un 7 y un 10% de pacientes con FM cumple los de SFC. El diagnóstico diferencial entre ambas y el descartar otras posibles causas de dolor y fatiga, es fundamental para un correcto enfoque diagnóstico, pronóstico y terapéutico.

60

- El SFC afecta predominantemente a adultos jóvenes con un pico de inicio entre los 20 y los 40 años. Es 2-3 veces más común en mujeres que en hombres (Lloyd AR, et al. Prevalence of chronic fatigue syndrome in an Australian population. Med J Aug 1990; 153: 522-528), aunque esta relación podría deberse a que las mujeres atienden con más frecuencia a todos los niveles de cuidados médicos (Henderson AS. Care-eliciting behavior in man. J Nerv Ment Dis 1974; 159: 172-181). La prevalencia de SFC en la población se encuentra entre 0,4 y 2,5 % (White PD, et al.

65

- Protocol for the PACE trial: a randomised controlled trial of adaptive pacing, cognitive behaviour therapy, and graded exercise, as supplements to standardised specialist medical care versus standardised specialist medical care alone for patients with the chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis or encephalopathy. *BMC Neurol* 2007; 7: 6). En Estados Unidos y el Reino Unido, cuatro estudios proporcionaron una estimación de 0,2% a 0,7%, es decir, de 200 a 700 casos por 100.000 personas. En Japón, se registró una prevalencia de 1,5%. En general, en los centros de atención primaria, las estimaciones de prevalencia de SFC fueron de entre 0,5% y 2,5%, en función de la intensidad de la evaluación médica, psiquiátrica y de laboratorio (The Royal Australasian College of Physicians. *Chronic Fatigue Syndrome. Clinical Practice Guidelines* 2002).
- 10 El pronóstico de recuperación del SFC es extremadamente pobre y en la actualidad no se dispone de un tratamiento universal que haya demostrado ser opción efectiva para la curación del SFC (Hill NF, et al. *Natural history of severe chronic fatigue syndrome. Arch Phys Med Rehabil* 1999; 80(9): 1090-1094). Así pues, hoy por hoy, el principal objetivo terapéutico se basa en aliviar los síntomas. Algunos de los tratamientos propuestos incluyen: la terapia cognitiva conductual, la terapia de ejercicio graduado, las intervenciones farmacológicas (como antivirales, antidepresivos, ansiolíticos, analgésicos, antiinflamatorios, entre otros medicamentos) y los suplementos alimenticios. No obstante, estas intervenciones, con frecuencia, no consiguen el beneficio mínimo deseable en muchos pacientes con SFC (Afari N, et al. *Chronic fatigue syndrome: a review. Am J Psychiatry.* 2003; 160(2): 221-236. / Rimes KA, et al. *Treatments for Chronic Fatigue Syndrome. Occupational Medicine* 2005; 5(1); 32-39). Así pues, es evidente que existe la necesidad de encontrar medicamentos eficaces para el tratamiento del SFC.
- 15 El SFC es una afección multisistémica cuya etiología o factor desencadenante se desconoce, aunque existen diversas hipótesis sobre sus agentes causantes: defectos genéticos, anormalidades del sistema nervioso central, alteraciones neuromusculares y metabólicas, factores psicológicos, agentes tóxicos, infecciones y desequilibrios inmunológicos por activación crónica del sistema inmune (Afari N, et al. *Chronic fatigue syndrome: a review. Am J Psychiatry.* 2003; 160(2): 221-236). Precisamente, basándose en el estado inmune crónicamente activado, algunos autores propusieron que las anormalidades clínicas e inmunológicas observadas en el SFC podrían incluir defectos en la ruta de defensa 2-5A inducida por interferones (Englebienne P, et al. *Chronic Fatigue Syndrome. A Biological Approach.* CRC Press LLC 2002).
- 20 Los interferones (IFNs) son proteínas producidas naturalmente por el sistema inmunitario en respuesta a agentes externos como bacterias, virus y parásitos, y a células cancerígenas. Los dos productos más significativos de la estimulación del IFN son la proteína quinasa R (PKR) y la ribonucleasa L (RNasa L). La PKR detiene la traducción del mRNA vírico mientras que la RNasa L corta el dsRNA. El objetivo final de ambas proteínas es inducir a la apoptosis de los agentes infecciosos.
- 25 El 1994 Suhadolnik, et al. (Upregulation of the 2-5A synthetase/RNase L antiviral pathway associated with chronic fatigue syndrome. *Clin Infect Dis* 1994; 18 (Suppl. I): S96-S104) descubrieron que los monocitos de sangre periférica (PBMC) de pacientes con SFC presentaban una RNasa L hiperactiva con una masa molar de 37 kDa, producida por la proteólisis de la forma nativa de la RNasa L de 83 kDa. Posteriormente, De Meirleir, et al. (A 37 kDa 2-5A binding protein as a potential biochemical marker for chronic fatigue syndrome. *Am J Med* 2000; 108(2): 99-105) constataron que el cociente entre la concentración de la molécula de 37 kDa y la de 83 kDa, en PBMC, era útil para diferenciar los pacientes con SFC de los afectados por FM o depresión mayor.
- 30 Los pacientes con SFC muestran muchos síntomas que son característicos de disfunciones del transporte de canales iónicos. El potencial de la interrupción de los canales iónicos en pacientes con SFC se tuvo en cuenta cuando se determinó que el inhibidor de la RNasa L (RLI) pertenecía a la superfamilia ABC de transportadores de canales iónicos. El RLI inactiva la RNasa L mediante la unión a dominios anquirina presentes en la RNasa L. La eliminación del dominio anquirina durante la fragmentación de la RNasa L, vista en pacientes con SFC, sugirió que estos fragmentos de anquirina podrían ser capaces de interactuar y interrumpir el funcionamiento normal de los canales iónicos. La disfunción de estos transportadores explicaría muchos de los síntomas encontrados en pacientes con SFC: sudores nocturnos, sarcoidosis, hipersensibilidad química, disfunción de macrófagos, deficiencia del sistema inmune, transporte monoamina alterado, sensibilidad al dolor incrementada, dominancia Th2, anormalidades en el sistema nervioso central, problemas de visión, pérdidas de potasio en el músculo, hipoglucemia transitoria y depresión (Englebienne P, et al. *Interactions between RNase L, ankyrin-like domain and ABC transporters as a possible origin of pain, ion transport, CNS and immune disorders of chronic fatigue immune dysfunction syndrome. J Chronic Fatigue Syndrome* 2001; 8 (3/4): 83-102). La elastasa, la catepsina-G y la m-calpaína son enzimas capaces de realizar la proteólisis o fragmentación de la RNasa L (Englebienne P, et al. *Interactions between RNase L, ankyrin-like domain and ABC transporters as a possible origin of pain, ion transport, CNS and immune disorders of chronic fatigue immune dysfunction syndrome. J Chronic Fatigue Syndrome* 2001; 8 (3/4): 83-102 / Demetre E, et al. *Ribonuclease L proteolysis in peripheral blood mononuclear cells of chronic fatigue syndrome patients. J Biol Chem* 2002; 277(38): 35746-35751). Estas tres proteasas están implicadas en los mecanismos de defensa contra agentes patógenos y en los procesos inflamatorios, de manera que es frecuente encontrar su concentración anormalmente elevada durante una respuesta inflamatoria. En el caso del SFC, se ha comprobado que los pacientes afectados por esta enfermedad presentan generalmente elevadas concentraciones de elastasa (Demetre E, et al. *Ribonuclease L proteolysis in peripheral blood mononuclear cells of chronic fatigue syndrome patients. J Biol Chem* 2002; 277(38): 35746-35751 / Nijs J, et al. *Chronic fatigue syndrome: exercise*

performance related to immune dysfunction. *Med Sci Sports Exerc* 2005; 37(10): 1647-1654).

Demetre E, et al. demostraron que la elastasa tenía un papel relevante en la degradación de la RNasa L, al probar que un inhibidor específico de la elastasa era capaz de inhibir, en gran parte, la proteólisis de la RNasa L en cultivo de PBMC de pacientes con SFC.

Ante la necesidad de encontrar medicamentos eficaces para el tratamiento del SFC, los inventores emprendieron investigaciones y pruebas de gran amplitud y profundidad que han fructificado en la presente invención, que se basa en la utilización de la Alfa-1-Antitripsina (AAT) para la preparación de medicamentos para el tratamiento del SFC.

#### Descripción de la invención

La Alfa-1-Antitripsina (AAT) es una glicoproteína secretada en los hepatocitos, normalmente presente en el suero y en la mayoría de tejidos en altas concentraciones, donde actúa como inhibidor de las serina proteasas. Los valores de referencia de la AAT en suero de sujetos sanos son de 0,83-2,00 g/l (Kratz A, et al. *Laboratory Reference Values*. *N Engl J Med* 2004; 315(15): 1548-1563). Aparte de su actividad como inhibidor de proteasas, la AAT se ha descrito que podría tener una función biológica antiinflamatoria importante, ya que está dotada de una relevante capacidad inhibitoria de múltiples mediadores de inflamación y de radicales oxidantes (Brantly M. *Alpha1-antitrypsin: not just an antiprotease: extending the half-life of a natural anti-inflammatory molecule by conjugation with polyethylene glycol*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27(6): 652-654).

La deficiencia de AAT es una enfermedad hereditaria que ocasiona principalmente enfisema pulmonar en etapas tempranas de la vida adulta (30-40 años). La segunda manifestación más frecuente es la enfermedad del hígado, que puede afectar a recién nacidos, niños y adultos. Menos frecuente es una enfermedad inflamatoria de la piel denominada paniculitis necrotizante (American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 818-900).

Actualmente, existen concentrados terapéuticos de AAT, preparados a partir del fraccionamiento del plasma sanguíneo humano, que se utilizan en la terapia de reemplazamiento con AAT para el tratamiento de sujetos que presentan un déficit de esta proteína y enfisema pulmonar asociado. Estos concentrados han demostrado ser bioquímicamente eficaces por elevar la concentración sérica de AAT por encima de los niveles mínimos considerados protectores (de 11  $\mu\text{mol/l}$ ) (Wewers MD, et al. *Replacement therapy for alpha1-antitrypsin deficiency associated with emphysema*. *New Eng J Med* 1987; 316: 1055-1062). Además, varios estudios clínicos sugieren que la terapia de reemplazamiento con AAT es clínicamente eficaz por disminuir la progresión del enfisema pulmonar y reducir la mortalidad (Seersholm N, et al. *Does alpha-1-antitrypsin augmentation therapy slow the annual decline in FEV1 in patients with severe hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency?* *Eur Respir J* 1997; 10: 2260-2263 / The Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Survival and FEV1 decline in individuals with severe deficiency of alpha-1-antitrypsin*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 49-59).

La extensa experiencia clínica en terapia de reemplazamiento con AAT confirma que los concentrados terapéuticos de AAT de origen plasmático humano presentan un excelente perfil de seguridad (Wencker M, et al. *Long term treatment of alpha-1-antitrypsin deficiency-related pulmonary emphysema with human alpha-1-antitrypsin*. *Eur Respir J* 1998; 11: 428-433 / American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 818-900).

Para comprobar si la inhibición de la elastasa por la AAT podría evitar la degradación de la RNasa L, los inventores realizaron diversos estudios mediante el cultivo in vitro de PBMC de pacientes con SFC junto con concentrados de AAT. En base a estos estudios, los inventores comprobaron que los extractos de PBMC de pacientes con SFC presentaban una elevada actividad elastasa, muy superior a la de los extractos de PBMC de controles sanos. Los extractos de PBMC de 6 sujetos sanos mostraban una actividad elastasa media de 81 U/mg de extracto (CV= 38,9), con un mínimo-máximo de 51-125 U/mg de extracto, mientras que los extractos de PBMC de 8 pacientes con SFC exhibían una actividad elastasa media de 322 U/mg de extracto (CV=30,5), con un mínimo-máximo de 193-453 U/mg de extracto.

Los inventores descubrieron, además, que la AAT era capaz de inhibir sustancialmente la actividad elastasa intracelular de los cultivos de PBMC de pacientes con SFC. Los PBMC de 10 pacientes con SFC se cultivaron durante 12 horas en ausencia y en presencia de dos concentraciones diferentes de AAT: 3 g/l y 6 g/l. Los resultados obtenidos en el porcentaje de inhibición de la actividad elastasa respecto al control sin AAT fueron los siguientes: para el cultivo con AAT 3 mg/ml, la actividad elastasa intracelular se inhibió una media de -87,2 % (CV=0,09), con un mínimo-máximo de -75,3 a -95,4 %; para el cultivo con AAT 6 mg/ml, la actividad intracelular se inhibió una media de -91,0 % (CV=0,08), con un mínimo-máximo de -76,1 a 97,4 %.

Por otra parte, los inventores comprobaron que la AAT evitaba la degradación de la RNasa L de 83 kDa, para generar la forma hiperactiva de RNasa L de 37 kDa, en cultivos de PBMC de pacientes con SFC. Los PBMC de 2

sujetos sanos y los PBMC de 2 pacientes con SFC se cultivaron durante 12 horas en ausencia y en presencia de AAT 3 g/l. En los cultivos de PBMC de los 2 sujetos sanos, no se observaron diferencias importantes en el análisis de la degradación de la RNasa L entre ambos cultivos. Después del cultivo de PBMC sin AAT, la relación de RNasa L 37 kDa con respecto a RNasa L 83 kDa era de 0,3 y 0,4 mientras que después del cultivo con AAT, la relación RNasa L 37 kDa con respecto a RNasa L 83 kDa era de 0,2 y 0,3, respectivamente. Ambos valores se encontraban por debajo del límite de 0,5, límite considerado como marcador de proteólisis de la RNasa L de 83 kDa. En los cultivos de PBMC de pacientes con SFC, se comprobó que en presencia de AAT la degradación de la RNasa L se reducía un 80 %. Después del cultivo de PBMC de los 2 pacientes con SFC sin AAT, la relación RNasa L 37 kDa con respecto a RNasa L 83 kDa era de 1,4 y 2,4 mientras que después del cultivo con AAT, relación RNasa L 37 kDa con respecto a RNasa L 83 kDa era de 0,2 y 0,6, respectivamente.

Los presentes inventores hallaron que la AAT activaba la expresión de genes implicados en la vía 2-5A sintetasa, de manera que la administración de AAT exógena podría restablecer la actividad normal de la RNasa L y prevenir su proteólisis en los PBMC de los pacientes con SFC. Los PBMC de 6 pacientes con SFC se cultivaron en ausencia y en presencia de AAT a dos concentraciones distintas: 0,5 g/l y 3,0 g/l. A continuación, se extrajo el RNA que fue analizado con el sistema Genechips Human Genome U133 Plus 2.0 (Affymetrix). La expresión del gen codificador para la 2-5 oligoadenilato sintetasa, enzima responsable de la síntesis de las moléculas 2-5A, y por lo tanto, activadores de la RNasa L, incrementó 2,9 y 3,2 veces en los cultivos con AAT 0,5 g/l y 3,0 g/l, respectivamente, en relación con los cultivos en ausencia de AAT. Así pues, la estimulación de la expresión de la 2-5 oligoadenilato sintetasa, por parte de la AAT, podría restablecer la actividad RNasa L propia y al mismo tiempo contribuir a la prevención de su proteólisis.

Además, los inventores hallaron que la AAT inhibía la expresión de metalotioninas, por lo que la administración de AAT exógena podría reducir la activación las vías pro-inflamatorias de los PBMC de pacientes con SFC. Los PBMC de 6 pacientes con SFC se cultivaron en ausencia y en presencia de AAT a dos concentraciones distintas: 0,5 g/l y 3,0 g/l. A continuación, se extrajo el RNA que fue analizado con el sistema Genechips Human Genome U133 Plus 2.0 (Affymetrix). Los resultados se presentaron como la relación entre la expresión de genes en presencia de AAT respecto la expresión de genes en ausencia de AAT. La expresión de diversos genes codificadores para metalotioninas disminuyó después de los cultivos en presencia de AAT. Concretamente, la expresión de la metalotionina 2A, la metalotionina 1X, la metalotionina 1H, la metalotionina 1F y la metalotionina 1E se redujo 2,2 y 4,5 veces de media en los cultivos con AAT 0,5 g/l y 3,0 g/l, respectivamente, en relación con los cultivos en ausencia de AAT. Tal y como está descrito, una deficiencia de metalotioninas disminuye la producción de citoquinas pro-inflamatorias (IL1b, IL6, TNFa) (Itoh N, et al. Cytokine-induced metallothionein expression and modulation of cytokine expression by metallothionein. *Yakugaku Zasshi* 2007;127(4): 685-694). Así pues, la inhibición de la expresión provocada por la AAT podría producir el mismo efecto y reducir las vías pro-inflamatorias en PBMCs. Por otra parte, las metalotioninas también juegan un papel muy importante en la producción de óxido nítrico (NO), mediador inmune presente en elevadas concentraciones en pacientes con SFC (Kurup RK, et al. Hypothalamic digoxin, cerebral chemical dominance and myalgic encephalomyelitis. *Int J Neurosci* 2003; 113(5): 683-701). Un descenso en la producción de NO, debido a una disminución de la expresión de las metalotioninas inducida por la AAT, podría ser otro mecanismo beneficioso de esta proteína en el contexto de pacientes con SFC.

Los inventores hallaron también que la AAT activaba la expresión del gen que codifica para la AAT, así que la administración de AAT exógena podría promover su propia expresión en los PBMC de pacientes con SFC. Los PBMC de 6 pacientes con SFC se cultivaron en ausencia y en presencia de AAT a dos concentraciones distintas: 0,5 g/l y 3,0 g/l. A continuación, se extrajo el RNA que fue analizado con el sistema Genechips Human Genome U133 Plus 2.0 (Affymetrix). Los resultados se presentaron como la relación entre la expresión de genes en presencia de AAT respecto la expresión de genes en ausencia de AAT. La expresión del gen que codifica para la AAT (SERPINA1) aumentó 1,4 y 2,0 veces de media en los cultivos con AAT 0,5 g/l y 3,0 g/l, respectivamente, en relación con los cultivos en ausencia de AAT. A pesar de que la AAT se sintetiza principalmente en los hepatocitos, Perlmutter DH, et al. describieron también su expresión en monocitos (The cellular defect in alpha 1-proteinase inhibitor (alpha 1-PI) deficiency is expressed in human monocytes and in Xenopus oocytes injected with human liver mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 ;82(20): 6918-6921). Así pues, AAT expresada intracelularmente e inducida por la presencia de AAT, podría ejercer un efecto inhibitor de la elastasa de los cultivos de PBMC de pacientes con SFC. Además, no se puede descartar que la AAT inhibiera directamente la elastasa intracelular tras internalizarse en las células de PBMC, tal y como se ha descrito para otro tipo de células (Zhang B, et al. Alpha1-antitrypsin protects beta-cells from apoptosis. *Diabetes* 2007; 56(5): 1316-1323). Por lo tanto, los dos mecanismos de inhibición de la elastasa en cultivos de PBMC de pacientes con SFC podrían co-existir e incluso dar lugar a un efecto acumulativo.

Estos descubrimientos son tanto más sorprendentes, puesto que las posibles nuevas aplicaciones terapéuticas de los medicamentos que contienen AAT, originadas a partir de estos experimentos, no podían estar relacionadas en absoluto con las aplicaciones conocidas de esta proteína hasta el momento que se basaban estrictamente en la compensación del déficit natural que cursaba en forma de enfermedades pulmonares (enfisema pulmonar) o de enfermedades inflamatorias de la piel (paniculitis).

Sin que los inventores deseen sentirse limitados a ninguna hipótesis, de la forma en la que los nuevos medicamentos que contienen AAT se manifiestan en el tratamiento del SFC, de forma no limitativa, han establecido

la hipótesis de que la AAT tiene un papel importante en el control de las células inmunológicas, responsables de los síntomas asociados al SFC, así como en la regulación de la expresión de genes relacionados con el sistema inmunológico.

5 El tratamiento del SFC puede realizarse con concentrados terapéuticos de AAT, purificados a partir de plasma humano o producidos por tecnología recombinante o transgénica. Asimismo, es posible el tratamiento con plasma u otros productos terapéuticos que contengan la cantidad suficiente de AAT para conseguir una dosis mínima.

10 Como sucede con otras proteínas, no tendría por qué ser necesaria la presencia de la molécula completa de AAT para obtener el efecto esperado. Por ello, para el tratamiento del SFC podrían ser de utilidad moléculas que contengan una secuencia parcial de aminoácidos derivados de la correspondiente secuencia de la molécula de AAT. Estas moléculas pueden ser obtenidas a partir de plasma humano o producidas por métodos sintéticos o por tecnología recombinante o transgénica.

15 La presente invención además prevé el tratamiento del SFC que comprende la administración a un paciente que sufra o tenga riesgo de desarrollar el SFC, de una cantidad terapéuticamente efectiva de AAT en combinación con uno o más portadores farmacéuticamente inertes o activos.

20 El régimen de tratamiento de la invención incluye la administración periódica repetida de AAT a efectos de disminuir o eliminar los síntomas del SFC. Para el tratamiento del SFC, se estima que una dosis igual o mayor a 6 mg de AAT por kilogramo (kg) de peso corporal infundidos con una periodicidad entre 1 y 31 días sería suficiente. Una dosificación preferente de AAT situaría entre los 15 y 360 mg por kg de peso corporal infundidos con una periodicidad entre 1 y 31 días. Una dosificación aun más preferente sería de entre los 25 y 60 mg por kg de peso corporal cada semana o bien múltiplos de estas cantidades ajustados en función del intervalo de tiempo previsto hasta la siguiente dosis, de una forma proporcional.

30 Alternativamente, la presente invención incluye un régimen de tratamiento que se establezca para alcanzar un nivel de AAT en suero deseado, hasta 8 veces por encima de los niveles basales a las 24 horas siguientes a la administración.

35 La AAT puede administrarse por inyección parenteral, y de acuerdo con una realización preferente, la administración se efectuará por vía intravenosa, aunque también puede administrarse por la vía intramuscular o intradérmica. Alternativamente, la AAT podría ser administrada por vía inhalada. En función de la vía de administración, la preparación de AAT se compone como una solución o suspensión en un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable. Como ejemplos apropiados de dichos vehículos se incluyen: agua para inyección, agua estéril para inyección, y otros vehículos acuosos (por ejemplo, cloruro sódico inyectable, Ringer's inyectable, dextrosa inyectable, dextrosa y cloruro sódico inyectable, Ringer's lactado inyectable); vehículos miscibles en agua (por ejemplo, alcohol etílico, alcohol de polietileno, glicol propileno); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de maíz, aceite de semillas de algodón, aceite de cacahuete, y aceite de sésamo). La necesidad y selección de otros excipientes, conservantes, soluciones amortiguadoras, biocidas, y similares se encuentran dentro de la capacidad de los expertos ordinarios y dependerá de varios factores, incluyendo el sistema y la vía de administración, la vida útil deseada, y las condiciones de almacenamiento y transporte.

#### 45 EJEMPLO:

Atendiendo a los resultados obtenidos in vitro, los inventores, mediante una autorización de uso compasivo, procedieron a la administración de un preparado a base de AAT en un paciente diagnosticado de SFC.

50 Una paciente fue diagnosticada de SFC en el 2003, por cumplir los criterios diagnósticos de Fukuda y siendo descartados otros procesos médicos inductores de fatiga crónica tales como enfermedades endocrinas, infecciosas, neoplásica y/o psiquiátricas. Antes de iniciar el tratamiento con concentrado de AAT, la paciente presentaba una concentración de elastasa en PBMC de 1459 U/mg (unidades de actividad por miligramo de extracto de PBMC); en la prueba de evaluación de la reserva funcional, la paciente mostraba un consumo máximo de oxígeno de 17,2 ml/kg/min (63,5 % respecto al teórico), una potencia máxima de 64 vatios (54,0 % respecto al teórico), una frecuencia cardíaca máxima de 149 pulsaciones (87,6 % respecto al teórico); y en el estudio de la disfunción neurocognitiva, evidenciaba un deterioro cognitivo muy grave. La paciente fue sometida a una terapia con infusiones intravenosas del preparado a base de AAT (60 mg/kg peso corporal semanalmente) durante un periodo de 8 semanas. Tras la finalizar el tratamiento, la paciente presentaba una concentración de elastasa en PBMC de 134 U/mg (unidades de actividad por miligramo de extracto de PBMC); en la prueba de evaluación de la reserva funcional, la paciente mostraba un consumo máximo de oxígeno de 16,4 ml/kg/min (60,6 % respecto al teórico), una potencia máxima de 85 vatios (71,7 % respecto al teórico), una frecuencia cardíaca máxima de 151 pulsaciones (88,8 % respecto al teórico); y en el estudio de la disfunción neurocognitiva, evidenciaba un deterioro cognitivo grave. Como conclusión general, después del tratamiento con el preparado a base de AAT, la paciente constató una mejoría clínica franca, se incorporó de nuevo al trabajo, disminuyó su fatiga, mejoró la tolerancia al ejercicio físico y disminuyó ligeramente su disfunción cognitiva.

Por lo tanto, se demuestra, mediante la presente invención, que los pacientes con SFC pueden ser tratados eficazmente con medicamentos preparados a base de AAT. Estos pacientes estarían afectados por un proceso inflamatorio crónico de las células inmunológicas y, según la presente invención, la AAT inhibiría la elastasa y, por lo tanto, evitaría la degradación de la RNasa L, impidiéndose así la desregulación de los canales iónicos, que

- 5 supuestamente es la responsable de sintomatología asociada al SFC. Además, y de acuerdo con los resultados obtenidos in vitro, la AAT podría regular la expresión de determinados genes relacionados con el sistema inmunológico para reestablecer el funcionamiento normal de sistema inmunológico y reducir la activación de vías proinflamatorias.
- 10 Si bien la invención se ha descrito con respecto a ejemplos de realizaciones preferentes, éstos no se deben considerar limitativos de la invención, que se definirá por la interpretación más amplia de las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

- 5
1. Composición que comprende Alfa-1-antitripsina o formas terapéuticas de la misma para uso en el tratamiento del Síndrome de Fatiga Crónica, que se puede administrar a humanos.
  2. Composición que comprende Alfa-1-antitripsina, para el uso según la reivindicación 1, en la que dicha composición es administrada en un régimen de tratamiento de 6 mg o más de Alfa-1-antitripsina por kg de peso corporal con una periodicidad entre 1 y 31 días.
  - 10 3. Composición que comprende Alfa-1-antitripsina, para el uso según la reivindicación 1, en la que la Alfa-1-antitripsina es purificada a partir de plasma humano.
  - 15 4. Composición que comprende Alfa-1-antitripsina, para el uso según la reivindicación 1, en la que la Alfa-1-antitripsina es producida por tecnología sintética, transgénica o recombinante.