(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 393 200**

(51) Int. CI.:

A61K 38/29 (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 31/59 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **06027055 .0**
(96) Fecha de presentación: **19.08.1999**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1769804**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **04.04.2007**

(54) Título: **hPTH(1-34) para uso en la prevención o reducción de la incidencia o gravedad de fractura vertebral y/o no vertebral en un hombre**

(30) Prioridad:

19.08.1998 US 97151 P
10.09.1998 US 99746 P

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:

19.12.2012

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:

19.12.2012

(73) Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
LILLY CORPORATE CENTER
INDIANAPOLIS, IN 46285, US

(72) Inventor/es:

HOCK, JANET M.;
GAICH, GREGORY A. y
DERE, WILLARD H.

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

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

hPTH(1-34) para uso en la prevención o reducción de la incidencia o gravedad de fractura vertebral y/o no vertebral en un hombre

Campo de la invención

La presente invención se refiere a procedimientos para la reducción de la probabilidad y/o gravedad de fractura ósea mediante administración de una hormona paratiroidea. De forma más particular, la invención se refiere a un procedimiento de reducción de la incidencia de fractura vertebral, reducción de la incidencia de fractura vertebral múltiple, reducción de la gravedad de fractura vertebral, y/o reducción de la incidencia de fractura no vertebral.

Antecedentes de la invención

Agentes existentes tales como estrógeno, bisfosfonatos, fluoruro o calcitonina pueden evitar la pérdida ósea e inducir un aumento del 3 a 5% de masa ósea rellenando el espacio rehabilitado, pero no se estimula de forma significativa la formación neta de hueso. La retención de hueso por inhibición de la resorción ósea no puede ser suficiente protección contra el riesgo de fractura para pacientes que ya presentan pérdida ósea significativa. Agentes anabólicos que aumentan la resistencia del hueso estimulando la formación de hueso pueden proporcionar preferentemente mejor protección frente a fractura en pacientes con osteoporosis establecida.

La hormona paratiroidea (PTH) es un producto de 84 aminoácidos secretado de la glándula paratiroidea de mamíferos que controla los niveles de calcio en suero mediante su acción en diversos tejidos, incluyendo el hueso. Los 34 aminoácidos con terminal en N de PTH bovino y humano (PTH(1-34)) se considera biológicamente equivalente a la hormona de longitud completa. Otros fragmentos de terminal amino de PTH (incluyendo 1-31 y 1-38 por ejemplo), o PTHrP (péptido/proteína relacionado con PTH) o análogos de uno o ambos, que activan el receptor PTH/PTHrP (receptor PTH1) han demostrado efectos biológicos similares en la masa ósea, si bien puede variar la magnitud de tales efectos.

Estudios en seres humanos con diversas formas de PTH han demostrado un efecto anabólico en hueso, y han promovido interés significativo en su uso para el tratamiento de osteoporosis y trastornos óseos relacionados. Se han demostrado en muchos modelos animales y en seres humanos los efectos anabólicos significativos de PTH en hueso, incluyendo la estimulación de formación ósea que da lugar a una ganancia neta en masa ósea y/o resistencia.

Se cree habitualmente que la administración de PTH en humanos y en modelos animales de importancia tiene un efecto negativo en el hueso cortical. De hecho, el aumento de origen natural en PTH endógeno, que tiene lugar en el trastorno de hiperparatiroidismo da lugar al adelgazamiento del hueso cortical acompañado de un aumento en la conectividad y masa del hueso trabecular. Estudios pasados sugieren que cuando el hueso cortical haversiano (que se encuentra en humano y mamíferos superiores) se remodela bajo la influencia de PTH, habrá una re-distribución de hueso tal que la masa ósea cortical y la resistencia disminuyen, mientras que el hueso trabecular aumenta en masa y resistencia. Por ejemplo, en estudios clínicos publicados de administración de PTH, la masa ósea cortical disminuyó tras tratamiento con PTH exógeno y estos hallazgos se relacionan con que el tratamiento de PTH conduzca a masa y resistencia ósea cortical reducidos. Una preocupación surgida de tales estudios es que habría una pérdida de masa ósea esquelética total debido a la pérdida de hueso cortical. Esto es de gran importancia clínica ya que en osteoporosis cuanto mayor pérdida de hueso trabecular en comparación con la pérdida de hueso cortical, significa que la carga mecánica proviene predominantemente del resto del hueso cortical. La pérdida continuada de hueso cortical aumentaría el riesgo de fractura. Por tanto es importante que un agente terapéutico para osteoporosis mantenga o aumente un hueso cortical residual en sujetos.

Los efectos de PTH en hueso cortical se han investigado en animales no humanos con remodelación haversiana, tales como perros, hurones, oveja y monos, pero los tamaños de muestra son de forma típica demasiado pequeños para el análisis estadístico veraz. Se sigue desconociendo el impacto de los cambios inducidos por el tratamiento de PTH en las propiedades mecánicas de hueso cortical en tales animales. Estudios publicados de roedores han mostrado mayor masa ósea cortical durante la administración de PTH pero una pérdida de esta ventaja tras resistencia de PTH. Sin embargo el hueso cortical del roedor presenta una estructura diferente del hueso cortical haversiano, y remodelaciones por la formación y resorción aposicional de superficie, más que por la remodelación intracortical de osteones. Adicionalmente limitaciones tecnológicas en ensayo biomecánico en los huesos relativamente cortos de roedores dan pie a artefactos de medida cuando un agente, tales como un PTH, altera la geometría del hueso adelgazando el hueso. Tales artefactos provocan la extrapolación de respuestas de hueso cortical de rata a los de humanos u otros animales con remodelación osteonal poco fiable. Por lo tanto los datos existentes de animales, como humanos, que se someten a remodelación haversiana indica que el PTH puede tener un impacto adverso en hueso cortical, provocando la pérdida neta de masa ósea por eliminación de hueso cortical.

En consecuencia se trata de una creencia popular en relación a la acción de PTH que pacientes requieren tratamiento concurrente o subsiguiente con un anti-resortivo para minimizar la pérdida de hueso inducido por PTH. De hecho, este

modelo ha sido la base de diversos estudios clínicos en mujeres. Por ejemplo, tres estudios clínicos han usado PTH en mujeres post-menopáusicas en terapia concurrente con calcitonina o estrógeno, o en mujeres premenopáusicas que toman agonista de GnRH, Synarel, para endometriosis. Los efectos opuestos de estrógeno y PTH en resorción ósea cortical hace particularmente difícil observar efectos de PHT durante la terapia de combinación con estos dos agentes.

Se mantiene una necesidad de un procedimiento para usar un PTH aumentando la resistencia y rigidez del hueso en humanos y otros animales que muestran remodelación haversiana, y para la reducción de la incidencia de fractura de huesos en estos animales. Además se mantiene una necesidad de un procedimiento para aumentar la calidad y cantidad de hueso cortical.

Sumario de la invención

La presenten invención proporciona PTH(1-34) humano para uso en la prevención o reducción de la incidencia o gravedad de fractura vertebral y/o no vertebral en un hombre en riesgo de o que tiene osteoporosis, en el que se administra la PTH(1-34) por inyección subcutánea a una dosis de 10 a 40 µg/día.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra el cambio en porcentaje en medidas de DXA de todo el contenido mineral en hueso en grupos de control y tratamiento.

Las figuras 2A-C ilustran el cambio en porcentaje en medidas de DXA de la espina dorsal para grupos de control y tratamiento en las vértebras lumbares 2-4 para zona del hueso (A), contenido mineral del hueso (B) y densidad del mineral del hueso (C).

Las figuras 3A y 3B ilustran el aumento en masa ósea (A) y resistencia del hueso (B) en vértebras lumbares de primates tratados con una hormona paratiroidea.

Las figuras 4A y 4B ilustran el aumento en resistencia de cuello del fémur (A) y la resistencia constante de diáfisis media del húmero (B) en primates tratados con una hormona paratiroidea.

La figura 5 ilustra la activación de velocidades de formación de hueso en superficies endosteales y periosteales a la mitad de longitud del húmero.

La figura 6 ilustra el análisis del histograma del desplazamiento en densidades de vóxeles de hueso en vértebra lumbar, resultando del tratamiento de PTH en comparación con el control. Obsérvese el aumento en la densidad en compartimento del hueso cortical tras resistencia de tratamiento con PTH.

La figura 7 ilustra el aumento en BMD de la espina dorsal lumbar en 23 meses de tratamiento de pacientes con 20 µg/día de PTH o 40 µg/día de PTH, en comparación con los controles tratados con placebo.

La figura 8 ilustra el aumento de BMD en fémur y cuello de la cadera en 24 meses de tratamiento de pacientes con 20 µg/día de PTH o 40 µg/día de PTH, en comparación con los controles tratados con placebo.

Descripción detallada

La invención se puede usar para aumentar la dureza y/o rigidez del hueso, y/o reducir la incidencia de fractura en un sujeto mediante la administración de una hormona paratiroidea. Se puede usar para aumentar la rigidez y/o dureza en una zona de un trauma potencial o en un lugar de un trauma real. El trauma incluye por lo general fractura, trauma quirúrgico, reemplazo de articulación, procedimientos ortopédicos y similares. Aumentar la dureza y/o rigidez del hueso incluye por lo general aumentar la densidad de mineral del hueso cortical, aumentar la resistencia del hueso, aumentar la resistencia a la carga y similares. Reducir la incidencia de fractura incluye por lo general reducir la probabilidad o incidencia real de fractura para un sujeto en comparación con una población de control no tratada.

Tal como se usa en esta invención fuerza de rotura se refiere a la fuerza máxima que admite un espécimen de hueso; rigidez se refiere a la pendiente de la parte lineal de una curva de deformación por carga; y trabajo hasta rotura se refiere a la zona bajo la curva de carga-deformación antes de la rotura. Cada uno de ellos se puede medir y calcular mediante procedimientos convencionales en la técnica de estudio de huesos. Estos parámetros son propiedades estructurales que dependen de las propiedades del material intrínsecas y geometría, y se pueden determinar como se describe en Turner CH, Burr DB 1993 “Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial”. Bone 14:595-608, que se incorpora a esta invención por referencia. Se pueden normalizar fuerza de rotura, rigidez y trabajo hasta rotura para obtener propiedades de material intrínsecas tales como tensión de rotura, módulo de elasticidad y dureza, que son independientes del tamaño y forma. Tal como se usa en esta invención, la tensión de rotura se refiere a tensión máxima que un espécimen puede soportar; módulo elástico se refiere a la rigidez intrínseca del material; y dureza se refiere a resistencia hasta fractura por

volumen unidad. Cada uno de estos se puede determinar mediante procedimientos conocidos en la técnica. La resistencia de hueso femoral, como se refiere en esta invención, se puede medir en el cuello del fémur, o en la mitad de la longitud de forma típica usando doblado a tres puntos o cuatro puntos hasta el último punto.

Trauma óseo

La invención es beneficiosa para un sujeto (un hombre) que puede sufrir o sufre trauma en uno o varios huesos.

Se conocen en la técnica factores de riesgo de osteoporosis e incluyen condiciones hipogonadales en hombres, independientemente de la edad, condiciones, enfermedades o fármacos que inducen hipogonadismo, factores nutricionales asociados con osteoporosis (bajo nivel de calcio o vitamina D son lo más comunes), fumar, alcohol, fármacos asociados con pérdida ósea (tal como glucocorticoides, tiroxina, heparina, litio, anticonvulsionantes etc.), pérdida de visión que presupone a caídas, viaje espacial, inmovilización, hospitalización crónica o reposo en cama, y otras enfermedades sistémicas que se han relacionado con riesgo elevado de osteoporosis. Se conocen indicaciones de la presencia de osteoporosis en la técnica e incluyen evidencia radiológica de al menos una fractura de vértebra por compresión, bajo nivel de masa ósea (de forma típica al menos 1 desviación estándar por debajo de los valores normales en joven medio), y/o fracturas atraumáticas.

La osteoporosis puede conducir, por ejemplo, a fracturas vertebrales y/o no vertebrales. Ejemplos de fracturas no vertebrales incluyen una fractura de cadera, una fractura de un antebrazo distal, una fractura de un húmero proximal, una fractura de una muñeca, una fractura de un radio, una fractura de un tobillo, una fractura de un húmero, una fractura de una costilla, una fractura de un pie, una fractura de una pelvis, o una combinación de estas. La invención se puede usar para reducir el riesgo de tales fracturas o para el tratamiento de tales fracturas. El riesgo de fractura se reduce y la curación de una fractura es ayudada con el aumento de la resistencia y/o rigidez del hueso, por ejemplo, en la cadera, la espina dorsal o ambas. La invención puede beneficiar a un sujeto en cualquier fase de osteoporosis, pero especialmente en las fases temprana y avanzada.

La presente invención es efectiva para evitar o reducir la incidencia de fracturas en un sujeto con o en riesgo de progresar a osteoporosis. Por ejemplo, la presente invención puede reducir la incidencia de fractura vertebral y/o no vertebral, reducir la gravedad de fractura vertebral, reducir la incidencia de fractura vertebral múltiple, mejorar la calidad del hueso, y similar. En otra realización la invención puede beneficiar a pacientes con bajo nivel de masa ósea o antes de fractura que se encuentran en riesgo de fracturas de esqueleto múltiples, tales como pacientes en los que puede progresar rápidamente la osteoporosis de espina dorsal.

Otros sujetos pueden también estar en riesgo de o sufrir trauma óseo y pueden beneficiarse del procedimiento de la invención. Por ejemplo, una amplia variedad de sujetos en riesgo de uno o más de las fracturas identificadas anteriormente, pueden anticipar la cirugía que dando lugar a trauma óseo, o pueden sufrir un procedimiento ortopédico que manipule un hueso en un sitio del esqueleto de masa ósea anormalmente baja o pobre estructura ósea, o deficiente en minerales. Por ejemplo, la recuperación de función tras una cirugía tal como una reemplazo de articulación (por ejemplo, rodilla o cadera) o tonificación de la espina dorsal, u otros procedimientos que inmovilizan un hueso o esqueleto puede mejorar debido al procedimiento de la invención. La invención puede ayudar a recuperarse de los procedimientos ortopédicos que manipulen un hueso en un sitio de masa ósea anormalmente baja o pobre estructura ósea, tal procedimiento incluye la división quirúrgica del hueso, incluyendo osteotomías, sustitución de articulación donde la pérdida de estructura ósea requiere la reestructuración con creación propia de acetábulo y prevención de deriva de la prótesis, por ejemplo. Otros sujetos adecuados para la práctica de la presente invención incluyen aquellos que sufren de hipoparatiroidismo o cifosis, que pueden sufrir trauma relacionado con, o provocado por hipoparatiroidismo o progresión de cifosis.

Dureza y rigidez de hueso

La invención reduce el riesgo de trauma o ayuda a recuperarse de un trauma mediante aumento de la dureza del hueso, rigidez o ambos. Por lo general la dureza y rigidez del hueso resulta de la masa y resistencia del hueso cortical, trabecular y canceloso. La invención puede proporcionar niveles de dureza, rigidez, masa y/o resistencia del hueso dentro o por encima del intervalo de la población normal. Preferiblemente la invención proporciona niveles elevados en relación a los niveles que resultan de trauma o que dan lugar a riesgo de trauma. Aumentando la dureza, rigidez o ambos reduce el riesgo o probabilidad de fractura en comparación con una población de control no tratada.

Ciertas características del hueso cuando se elevan proporcionan mejores dureza y/o rigidez del hueso. Tales características incluyen densidad mineral del hueso (BMD), contenido en mineral del hueso (BMC), frecuencia de activación o velocidad de formación del hueso, número trabecular, grosor trabecular, trabecular y otras formaciones óseas de conectividad, periosteal y endocortical, porosidad cortical, sección transversal del hueso y masa ósea, resistencia a la carga, y/o trabajo hasta rotura. Un aumento en una o más de estas características es un resultado preferido de la invención.

Ciertas características del hueso, tales como espacio del tuétano y módulo elástico cuando se reducen proporcionan mejor dureza y/o rigidez del hueso. Hueso más joven (más duro y rígido) tiene cristalitas que son por lo general más pequeñas que las cristalitas de huesos más viejos. Por tanto, en general, reduciendo el tamaño de las cristalitas del hueso aumenta la dureza y rigidez del hueso, y puede reducirse la incidencia de fractura. Además, la maduración de cristalitas de un hueso puede proporcionar características deseables adicionales para el hueso, incluyendo mayor dureza y rigidez del hueso y/o puede reducir la incidencia de fractura. Una reducción en una o más de estas características puede ser un resultado preferido de la invención.

La invención es efectiva en el aumento de la dureza y/o rigidez de cualquiera de los distintos huesos. Por ejemplo, la invención puede aumentar la dureza y/o rigidez de huesos incluyendo un hueso de la cadera, tal como un íleo, un hueso de la pierna, tal como un fémur, un hueso de la espina dorsal, tal como una vértebra, o un hueso de un brazo, tal como un hueso del antebrazo distal o un húmero proximal. Este aumento en dureza y/o rigidez se puede encontrar en todo el hueso, o localizarse en ciertas partes del hueso. Por ejemplo, la dureza y/o rigidez de un fémur se puede aumentar aumentado la dureza y/o rigidez de un cuello de fémur o una trocantérea del fémur. La dureza y/o rigidez de una cadera se puede aumentar aumentado la dureza y/o rigidez de una cresta iliaca o espina iliaca. La dureza y/o rigidez de una vértebra se puede aumentar aumentado la dureza y/o rigidez de un pediclo, lámina o cuerpo. De forma ventajosa el efecto es sobre la vértebra en ciertas partes de la espina dorsal, tal como vértebra cervical, torácica, lumbar, sacral y/o coccígea. Preferiblemente el efecto es sobre una o más vértebras semitorácicas y/o lumbares superiores.

El aumento en dureza y/o rigidez se puede encontrar en cualquiera de los tipos de hueso, o de forma predominante en un tipo de hueso. Los tipos de hueso incluyen hueso esponjoso (canceloso, trabecular o lamelar) y hueso compacto (cortical o denso) y la callosidad de la fractura. La invención aumenta preferiblemente la dureza y/o rigidez mediante su efecto en hueso canceloso y cortical, o en el hueso cortical solo. El hueso trabecular, hueso al cual está unido tejido conectivo, se puede también endurecer y/o volver más rígido con la invención. Por ejemplo, es ventajoso proporcionar dureza adicional en un punto de unión de un ligamento, un tendón y/o un músculo.

En otro aspecto de la invención, aumentando la dureza o rigidez se puede reducir la incidencia de la fractura. En este aspecto, el aumento de la dureza o rigidez puede incluir reducir la incidencia de fractura de vértebra, reducir la incidencia de fractura grave, reducir la incidencia de fractura moderada, reducir la incidencia de fractura no de vértebra, reducir la incidencia de fractura múltiple o una combinación de estas.

Hormona paratiroidea

La invención usa PTH(1-34) humana, también conocida como teriparátida. Se describen soluciones estabilizadas de PTH(1-34), tales como PTH(1-34) humana recombinante (rhPTH(1-34), que se puede emplear en el presente procedimiento en el documento WO 99/29337. Se describen formas cristalinas de PTH(1-34) humano en el documento WO 99/31137 que se pueden emplear en el presente procedimiento.

Administración de hormona paratiroidea

Se puede administrar de forma típica una hormona paratiroidea por vía parenteral, preferiblemente por inyección por vía subcutánea, mediante procedimientos y en formulaciones bien conocidas en la técnica. Se describen en el documento WO 99/29337 formulaciones estabilizadas de PTH(1-34) humano que se pueden emplear de forma ventajosa en el presente procedimiento. Esta solicitud de patente también describe otras numerosas formulaciones para almacenamiento y administración de hormona paratiroidea. Una solución estabilizada de una hormona paratiroidea puede incluir un agente estabilizante, un agente tampón, un conservante y similares.

El agente estabilizante incorporado a la solución o composición incluye un poliol que incluye un sacárido, preferiblemente un monosacárido o disacárido, por ejemplo, glucosa, trehalosa, rafinosa, o sacarosa; un alcohol de azúcar tal como, por ejemplo, manitol, sorbitol o inositol, y un alcohol polihídrico tal como glicerina o propilenglicol o mezclas de los mismos. Un poliol preferido es manitol o propilenglicol. La concentración de poliol puede variar de aproximadamente 1 a aproximadamente 20% en peso, preferiblemente de aproximadamente 3 a 10% en peso de la solución total.

El agente tampón usado en la solución o composición puede ser cualquier ácido o combinación de sal que sea farmacéuticamente aceptable y capaz de mantener la solución acuosa a un intervalo de pH de 3 a 7, preferiblemente de 3 a 6. Sistemas tamponantes útiles son, por ejemplo, fuentes de acetato, tartrato o citrato. Sistemas tampón preferidos son fuentes acetato o tartrato, el más preferido es una fuente de acetato. La concentración o tampón puede estar en el intervalo de aproximadamente 2 mM a aproximadamente 500 mM, preferiblemente de 2 mM a 100 mM.

La solución o composición estabilizada puede incluir también un conservante parenteralmente aceptable. Tales conservantes incluyen, por ejemplo, cresoles, alcohol bencílico, fenol, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, clorobutanol, alcohol feniletílico, metilparabeno, propilparabeno, timerosal y nitrato fenilmercúrico y acetato. Un

conservante preferido es m-cresol o alcohol bencílico; el más preferido es m-cresol. La cantidad de conservante usado puede variar de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2% en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,0% en peso de la solución total.

Por tanto, la solución de teriparátida estabilizada puede contener manitol, acetato y m-cresol con una vida útil en almacenaje prevista de más de 15 meses a 5º C.

Las composiciones de hormona paratiroidea pueden, si se desea, proveerse en una forma de polvo que contiene no más de 2% en peso de agua, lo que resulta de la liofilización de una solución de hormona estéril acuosa preparada mezclando la hormona paratifoidea seleccionada, un agente tampón y un agente estabilizante como se describió anteriormente. Especialmente útil como un agente tampón cuando se preparan polvos liofilizados es una fuente de tartrato. Agentes estabilizantes particularmente útiles incluyen glicina, sacarosa, trehalosa y rafinosa.

Además, la hormona paratiroidea se puede formular con tampones y excipientes típicos usados en la técnica para estabilizar y solubilizar proteínas para administración por vía parenteral. Se describen vehículos farmacéuticos reconocidos en la técnica y sus formulaciones en Martin, "Remington's Pharmaceutical Sciences," 15ª Ed.; Mack Publishing Co., Easton (1975). Se puede administrar también una hormona paratiroide por los pulmones, boca, nariz, por supositorio o por formulaciones para vía oral.

La hormona paratiroidea se formula para la administración una dosis efectiva para aumentar la dureza y/o rigidez de uno o más de un hueso de un sujeto y/o para reducir la probabilidad y/o gravedad de la fractura de hueso. Preferiblemente una dosis efectiva proporciona una mejora en la estructura, masa, y/o resistencia del hueso cortical. Preferiblemente una dosis efectiva reduce la incidencia de fractura vertebral, reduce la incidencia de fracturas vertebrales múltiples, reduce la gravedad de fractura vertebral y/o reduce la incidencia de fractura no vertebral. Preferiblemente un sujeto que recibe hormona paratiroidea también recibe dosis efectivas de calcio y vitamina D, que pueden mejorar los efectos de la hormona. Una dosis efectiva de hormona paratiroidea es de 10 a 40 µg/día.

La hormona se puede administrar regularmente (por ejemplo, una o más veces cada día o semana), intermitentemente (por ejemplo, irregularmente durante un día o semana), o cíclicamente (por ejemplo, regularmente durante un periodo de días o semanas seguido de un periodo sin administración). Preferiblemente PTH se administra una vez al día durante 1 a 7 días durante un periodo que varía de 3 meses hasta 3 años en pacientes osteoporóticos. Preferiblemente la administración cíclica incluye la administración de una hormona paratiroidea durante al menos 2 ciclos de remodelación y hormona paratiroidea de resistencia durante al menos 1 ciclo de remodelación. Otro régimen preferido de administración cíclica preferido incluye la administración de la hormona paratiroidea durante al menos aproximadamente 12 a aproximadamente 24 meses y hormona paratiroidea de resistencia durante al menos 6 meses. De forma típica las ventajas de administración de una hormona paratiroidea persisten después de un periodo de administración. Las ventajas de varios meses de administración pueden persistir tanto como un año o dos, o más, sin administración adicional.

Usos de formulaciones de una hormona paratiroidea

Se puede usar un kit con la presente invención. El kit puede contener un vial que contiene una formulación de la presente invención y vehículos adecuados, bien secos o bien en forma líquida. El kit incluye adicionalmente instrucciones en la forma de una etiqueta sobre el vial y/o en la forma de un prospecto incluido en una caja en la que se empaqueta el vial, para el uso y administración de los compuestos. Las instrucciones se pueden imprimir también en la caja en la que se empaqueta el vial. Las instrucciones contienen información tal como dosificación suficiente e información de administración de modo que permita a un trabajador especializado administrar el fármaco. Se anticipa que un trabajador especializado comprende cualquier doctor, enfermera o facultativo que podría administrar el fármaco.

Ejemplos

Ejemplo 1 – Mayor resistencia y densidad de hueso tras administración de rhPTH(1-34) a monos (a modo de referencia)

Procedimientos experimentales

Generalidades

La fase viva del estudio usó primates cinomolgus (*Macaca fascicularis*) adultos (placas de crecimiento cerradas) ferales, que pesan 2,77 ± 0,33 kg (media ± desviación estándar de la media [SEM]). Se mantuvieron los monos en cuarentena durante 3 meses, luego se inició una dieta que contiene 0,3% de calcio, 0,3% de fosfato, y 250 UI de vitamina D3/100 g de dieta, y se administró agua fluorada (1 ppm de fluoruro) a voluntad. El contenido en calcio correspondía a 1734 mg de calcio / 2000 calorías. Después de 1 mes a dieta se clasificaron los animales en grupos de 21 ó 22, se operaron simuladamente o se ovariectomizaron. Se iniciaron las inyecciones por vía subcutánea una vez al día de vehículo por vía

subcutánea (controles simulados y ovariectomizados) o rhPTH(1-34) a 1 µg/kg (PTH1) o 5 µg/kg (PTH5) 24 horas tras la ovariectomía. Se trataron los animales durante 18 meses (PTH1 y PTHS), o durante 12 meses seguido de retirada del tratamiento (PTH1-W y PTH5-W).

Se dividieron los grupos de estudio como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1 – grupos de estudio para estudio en primate

Grupo	Abreviatura	Monos al comienzo (n = 128)	Monos en análisis final (n = 121)
Ovariectomizados simuladamente, vehículo durante 18 meses	Simulado	21	21
Ovariectomizados, vehículo durante 18 meses	OVX	22	20
Ovariectomizados, 1 µg de rhPTH(1-34)/kg/día durante 18 meses	PTH1	21	19
Ovariectomizados, 1 µg de rhPTH(1-34)/kg/día durante 12 meses, vehículo durante 6 meses	PTH1-W	21	20
Ovariectomizados, 5 µg de rhPTH(1-34)/kg/día durante 18 meses	PTH5	22	21
Ovariectomizados, 5 µg de rhPTH(1-34)/kg/día durante 12 meses, vehículo durante 6 meses	PTH5-W	21	20

Se tomaron muestras de suero y orina 24 horas tras la inyección de vehículo o de rhPTH(1-34) a intervalos de 3 meses. Se usó un diseño de muestreo de baja intensidad de 5 monos en cada grupo tratado con rhPTH(1-34) para los parámetros farmacocinéticas, con muestreo (intervalos de 0 a 240 minutos cada vez) en basal, 7, 11 y 17 meses. En el momento 0 y a intervalos de 6 meses se evaluaron la masa ósea de todo el esqueleto y de la espina dorsal (L-2 a L-4) mediante absorciometría de rayos X de doble energía (DXA); se usó tomografía de rayos X computada cuantitativamente periférica (pQCT) para evaluar la masa ósea a la mitad de longitud y radio distal, y la tibia proximal. Se tomaron biopsias iliacas a 6 y 15 meses para histomorfometría. Todos los animales se sometieron a eutanasia después de 18 meses.

Se realizaron ensayos biomecánicos en las vértebras lumbares L-3 a L-4, el cuello del fémur, húmero a mitad de la longitud, y en un espécimen de hueso cortical mecanizado de la diáfisis del fémur (medidas definidas en la tabla 2). Se realizaron histomorfometrías estáticas y dinámicas convencionales (medidas descritas en la tabla 6) en la mitad de la longitud del húmero, vértebra lumbar L-2, cuello femoral, mitad de la longitud del fémur, la mitad de la longitud del radio y radio distal. Los análisis estadísticos iniciales compararon todos los grupos con controles ovariectomizados tratados con vehículo. Los datos son adecuados para análisis exploratorio adicional para examinar la dependencia de la dosis, efectos de la retirada, interacciones entre resultados y cambios en tiempo por procedimientos conocidos por los especialistas en la técnica. Todos los ensayos se llevaron a cabo y se determinaron por procedimientos conocidos en la técnica.

Para ciertos sujetos experimentales, el hueso cortical del húmero se examinó por histomorfometría y por microscopía infrarroja con transformada de Fourier polarizada. La microscopía infrarroja con transformada de Fourier se llevó a cabo mediante una adaptación de procedimientos conocidos para tal microscopía.

Estudios de modelización por elementos finitos en 3D

Estos estudios determinaron datos de modelización por elementos finitos en 3D en vértebras de monos del estudio dosificados con PTH durante 18 meses. La vértebra L-5 extirpada en etanol/solución salina al 50% de los grupos ovariectomizados (n = 7) y PTH (n = 7) se escaneó en serie en etapas de 500 µm por tomografía computarizada cuantitativa (QCT, Norland, Ft. Atkinson, WI), usando pixeles de 70 x 70 µm. Cada una de las secciones transversales de

500 µm se analizó en relación a la densidad de mineral en hueso volumétrica (BMD, mg/cc), contenido en mineral del hueso (BMC, mg), área transversal (área X), volumen de hueso canceloso (BV/TV), espesor trabecular (Tb.Th) y conectividad (densidad nodal, análisis puntal). Los píxeles en cada escaneo en serie se promediaron para generar vóxeles de 490x490x500 µm. Los escaneos en serie se apilaron y se generó una malla de superficie triangular para cada hueso usando el algoritmo de “cubos en marcha” (véase, por ejemplo, Lorensen y Cline 1987 "Marching cubes, a high resolution 3D surface construction algorithm." Computer Graphics 21, 163-169). Se usó luego una versión simplificada de cada malla de superficie para generar una malla tetraédrica para modelización por elementos finitos en 3D.

Se derivó el módulo de Young para cada elemento tetraédrico de las densidades de vóxel originales y propiedades del material de un haz de hueso cortical triturado de la diáfisis femoral de los monos. Cada malla tetraédrica se rotó de modo que la superficie del fondo de cada vértebra se alineaba con un plano. Se llevó luego a cabo el análisis de estrés elástico lineal para cada modelo L-5 en el que se aplicó una carga distribuida de 100 N a la superficie superior del centro, perpendicular al plano del fondo mientras que se fijó la superficie del fondo en la dirección de la carga. Se evaluaron los contornos de la cepa axial resultante ya que eran las distribuciones de BMD, y se compararon entre PTH y ovariectomizados. En esta resolución, la densidad de cada vóxel depende de la extensión en la que se rellena cada vóxel con hueso en oposición al tejido blando.

Resultados

Los reportes de diferencias en el texto son estadísticamente significativos, $p < 0,05$. Todos los animales ganaron de 4% a 9% de peso corporal inicial durante el estudio independientemente del tratamiento.

Medidas en suero y orina

Los niveles de estradiol en suero a 3 y 18 meses se encontraban por debajo de 5 pg/ml en todos los monos ovariectomizados. Cuando se compararon medidas de homeostasis de calcio con controles simulados, los controles ovariectomizados presentaban menores niveles de calcio y fosfato en suero y de 1,25-dihidroxivitamina D, pero no diferían en PTH endógena, adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) de la orina, calcio de la orina, creatinina de la orina, o nitrógeno de urea en suero medido 24 horas después de la última inyección. Animales tratados con rhPTH(1-34) presentaban menores niveles de fosfato en suero, menos PTH endógeno y mayor nivel de 1,25-dihidroxivitamina D y AMPc de la orina en comparación con los ovariectomizados. Los ensayos de marcador de formación de hueso en suero mostraban que los monos ovariectomizados presentaban bajos niveles de fosfatasa alcalina (ALP) total en suero y osteocalcina en comparación con los simulados, y rhPTH(1-34) restableció los niveles a los valores de simulados. La excreción de C-telopéptido de la orina (CrossLaps), usada como un marcador bioquímico de resorción ósea no era alterada por rhPTH(1-34) en comparación con los controles ovariectomizados.

Masa ósea

La masa ósea de todo el esqueleto, expresada como BMC corporal total, aumentaba significativamente con PTH(1-34) (figura 1). La densidad mineral ósea (BMD) de espina dorsal se mantenía estable en controles ovariectomizados durante 18 meses, mientras que los controles simulados ganaban de 3 a aproximadamente 5% por encima del basal (figuras 2-2C y 3A). rhPTH(1-34) aumentaba la BMD de la espina dorsal en 7% a 14% y el contenido mineral óseo corporal total (BMC. Figura 3) hasta el 6% en comparación con el basal (figuras 2A-2C y 3A). El contenido mineral óseo de la espina dorsal también aumentaba (figura 3A). En primates tratados con rhPTH(1-34) la magnitud de estos aumentos era significativamente mayor que la de los controles ovariectomizados, y coincidían (PTH1) o superaban (PTH5) la los de los simulados. rhPTH(1-34) no alteraba BMD del radio a mitad de su longitud o distal. El área de sección transversal de la mitad de la longitud aumentaba en el 7% en el grupo de PTH5. En la tibia próxima no había aumento en el área de sección transversal pero rhPTH(1-34) aumentaba BMD y BMC en comparación con los controles ovariectomizados. Seis meses tras el tratamiento este se retiraba, BMD y BMC en la espina dorsal y cuello del fémur se mantenían por encima de los controles ovariectomizados, sin cambio en la mitad de la longitud cortical del húmero.

Resistencia ósea

rh(1-34)PTH aumentó la resistencia (F_y) en las vértebras hasta el 43% (tabla 2 y 3, figura 3B). rhPTH(1-34) mejoró la resistencia en el cuello del fémur (f_u) hasta el 12% (tablas 2 y 4, figura 4A), rhPTH(1-34) no alteraba las medidas en la diáfisis cortical de la mitad de la longitud del húmero (tablas 2 y 5), o las propiedades materiales de especímenes en haz mecanizados de la diáfisis femoral (tablas 2 y 4, figura 4B) cuando se comparaban con controles ovariectomizados. En animales tratos con rhPTH(1-34) durante 12 meses y luego retirada del tratamiento durante 6 meses las medidas de resistencia ósea se mantenían significativamente por encima de los controles ovariectomizados (tablas 2 a 5, figuras 3B y 4B).

Tabla 2 variables reportadas para la tercera y cuarta vértebras lumbares (L-3 y L-4), mitad de la longitud del húmero,

cuello femoral proximal y especímenes en haz femorales.

Variable	Unidades	Descripción
Vértebras lumbares, L-3 y L-4		
A	mm^2	Área de sección transversal
F.	N	Fuerza de deformación es la fuerza a un 0,2% fuera de límites
S	N/mm	Pendiente de la porción lineal de la curva de fuerza/desplazamiento (rigidez)
σγ	MPa	Carga de deformación remanente
E	MPa	Módulo de Young
Mitad de longitud del húmero		
t	mm	Espesor cortical medio
F_u	N	Fuerza de rotura es la fuerza máxima que puede resistir el espécimen
S	N/mm	Pendiente de la parte lineal de la curva de fuerza-desplazamiento (rigidez) aquí es rigidez
mJ/U	N-mm	Área bajo la curva de carga-desplazamiento (trabajo último hasta rotura)
Cuello femoral próximo		
F_u	N	Fuerza de rotura es la fuerza máxima que pueden resistir el espécimen
Especímenes en haz de diáfasis del fémur		
σ_u	MPa	Tensión de rotura
E	Gpa	Módulo de Young
u	J/m^3	Dureza
ε_u		Tensión de rotura

Tabla 3 medida biomecánica de la resistencia en la espina dorsal (vértebras lumbares, L-3 y L-4 combinadas) de primates ovariectomizados a los 18 meses

Variable (unidades)[a]	Simulado	Control OVX	PTH1	PHT1-W	PTH5	PTH5-W
A (mm^2)	90,3 ± 2,1[b]	86,1 ± 2,3	883 ± 2,0	90,9 ± 2,3	87,3 ± 2,7	82,8 ± 2,1

(continuación)

F_y(N)	1738 ± 52	1499 ± 94[a]	1915 ± 105[a]	1899 ± 73[a]	211 ± 77[3,0]	1792 ± 39[a]
S(N/mm)	7312 ± 319	5805 ± 476[a]	7701 ± 474[a]	7401 ± 432[a]	8012 ± 367[a]	7074 ± 314[a]
σ_γ (MPsa)	19,4 ± 0,6	17,3 ± 1,0	21,9 ± 1,3[a]	21,1 ± 0,8[a]	24,6 ± 1,13,0	21,9 ±0,9[a]
E (MPa)	650 ± 32	546 ± 49	717 ± 48[a]	659 ± 42	759 ± 36[a]	698 ± 41[a]

Abreviaturas: OVX = ovariectomizado; PTH1 = rhPTH(1-34) µg/kg durante 18 meses;

PTH1-W = retirada durante 6 meses tras tratamiento con rhPTH(1-34) 1 µg/kg durante 12 meses; PTH5 = rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 18 meses; PTH5-W = retirada durante 6 meses tras tratamiento con rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 12 meses.

[a] Véase la tabla 4.1 para descripción de las variables

[b] Datos expresados como media ± desviación estándar de la media (SEM) por grupo

[o] Estadísticamente significativo en comparación con controles OVX ($p < 0,05$)

[s] Estadísticamente significativo en comparación con controles simulados ($p < 0,05$)

Tabla 4 medidas bioquímicas de propiedades del material de especímenes en haz de tamaño equivalente de la diáfisis del fémur, y medida bioquímica de resistencia de cuello de fémur de primates ovariectomizados a los 18 meses

Variable (unidades)[a]	Simulado	Control OVX	PTH1	PHT1-W	PTH5	PTH5-W
σ_a (MPa)	222 ± 5[b]	216 ± 5	222 ± 4	214 ± 6	206 ± 6	208 ± 6
E (GPa)	17,2 ± 0,6	16,4 ± 0,4	17,1 ± 0,4	16,6 ± 0,6	15,4 ± 0,6[a]	15,3 ± 0,6[a]
u (mJ/m^3)	5,9 ± 0,3	5,8 ± 0,4	6,1 ± 0,4	5,3 ± 0,4	5,4 ± 0,4	6,1 ± 0,4
ε_a	0,035 ± 0,001	0,035 ± 0,002	0,036 ± 0,002	0,034 ± 0,002	0,034 ± 0,002	0,038 ± 0,002
Cuello del fémur próximo Fa	1288 ± 41	1105 ± 53[a]	1235 ± 43[a]	1258 ± 52[a]	1362 ± 30[a]	1213 ± 42

Abreviaturas: OVX = ovariectomizado; PTH1 = rhPTH(1-34) 1 µg/kg durante 18 meses;

PTH1-W = retirada durante 6 meses tras tratamiento con rhPTH(1-34) 1 µg/kg durante 12 meses;

PTH5 = rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 18 meses; PTH5-W = retirada tras tratamiento con rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 12 meses.

[a] Véase la tabla 4.1 para descripción de las variables

[b] Datos expresados como media ± desviación estándar de la media (SEM) por grupo. [o] Estadísticamente significativo en comparación con controles OVX ($p < 0,05$)

[s] Estadísticamente significativo en comparación con controles simulados ($p < 0,05$)

Tabla 5 medidas biomecánicas de hueso cortical de la mitad de longitud del húmero de primates ovariectomizados a los 18 meses

Variable (unidades)[a]	Simulado	Control OVX	PTH1	PHT1-W	PTH5	PTH5-W

(continuación)

t (mm)	1,74 ± 0,04[b]	1,63 ± 0,03[a]	1,68 ± 0,03	1,66 ± 0,04	1,80 ± 0,04[a]	1,72 ± 0,05
F_y (N)	725 ± 26	636 ± 26	654 ± 23	689 ± 23	680 ± 15[a]	707 ± 24
S(N/mm)	601 ± 23	520 ± 26	544 ± 23	573 ± 20	548 ± 18	573 ± 24
U (N/mm)	1797 ± 85	1542 ± 92	1641 ± 137	1751 ± 84	1804 ± 99	1775 ± 113

Abreviaturas: OVX = ovariectomizado; PTH1 = rhPTH(1-34) µg/kg durante 18 meses;

PTH1-W = retirada durante 6 meses tras tratamiento con rhPTH(1-34) 1 µg/kg durante 12 meses;

PTH5 = rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 18 meses; PTH5-W = retirada tras tratamiento con rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 12 meses.

[a] Véase la tabla 4.1 para descripción de las variables

[b] Datos expresados como media ± desviación estándar de la media (SEM) por grupo

[o] Estadísticamente significativo en comparación con controles OVX ($p < 0,05$)

[s] Estadísticamente significativo en comparación con controles simulados ($p < 0,05$)

Histomorfometría ósea

Aunque las velocidades de resorción eran mayores en ovariectomizados que en los controles simulados, no había pérdida significativa de volumen del hueso en la cresta iliaca. Debido a que la etiqueta de tetraciclina dada a los 6 meses no era detectable en muchos animales, solo se midieron parámetros estáticos para este punto temporal. Los datos de histomorfometría estáticos y dinámicos a los 15 meses mostraron que el tratamiento con rhPTH(1-34) aumentaba el área de hueso canceloso en comparación con ovariectomizados, y aumentaba la formación de hueso sin aumentar las medidas de resorción por encima de las medidas en controles ovariectomizados. La velocidad de formación de hueso se aumentaba progresivamente con dosis mayores de rhPTH(1-34). Aunque el hueso canceloso aumentaba en comparación con los controles ovariectomizados tras retirada de rhPTH(1-34) seguido de 12 meses de tratamiento, la formación y resorción ósea revertieron hasta lo apreciado en controles ovariectomizados, y la resorción ósea permanecía por encima que en los controles simulados. rhPTH(1-34) no afectaba a la mineralización, frecuencia de activación o periodos de remodelación. No había diferencias en equilibrio de hueso basado en unidad multicelular de hueso individual (BMU) entre resorción y formación. En resumen, rhPTH(1-34) aumentaba el hueso canceloso por estimulación selectiva de formación ósea.

En el hueso cortical del húmero, donde rhPTH(1-34) no modificaba de forma significativa las medidas de BMD o resistencia del hueso, rhPTH(1-34) estimulaba los cambios en los compartimentos perioteales, endosteales e intracorticales (tablas 6 y 17). Aunque no había diferencias en el área total o área medular entre grupos, rhPTH(1-34) aumentaba el área cortical, y los grupos PTH5 y PTH5-W tenían significativamente más hueso cortical, lo que sugiere mayor momento de inercia transversal, una medida de la resistencia. Este aumento en área podría atribuirse a la mayor formación tanto de superficies periosteales como endosteales (figura 5).

Los controles simulados y grupos PTH5-W presentaban superficies de mineralización periosteal reducidas en comparación con los controles ovariectomizados y los otros grupos tratados con rhPTH(1-34). Las superficies de mineralización endocortical eran significativamente mayores en los controles ovariectomizados en comparación con los simulados y rhPTH(1-34) no aumentaba por encima de los valores de control ovariectomizados. En la remodelación intracortical no había más espacios de resorción en animales ovariectomizados, y la frecuencia de activación era mayor en grupos ovariectomizados, PTH1 y PTH5 que en controles simulados o en cualquiera de los grupos con tratamiento retirado. No había significativamente más osteones etiquetados por unidad de área en ovariectomizados en comparación con los controles simulados, y rhPTH(1-34) no aumentaba de forma significativa por encima de los valores de control ovariectomizados.

La porosidad intracortical era mayor en ovariectomizados en comparación con los simulados, pero no había diferencia entre controles ovariectomizados y PTH1. PTH5 y PTH5-W aumentaban la porosidad por encima de lo apreciado en controles ovariectomizados. Los datos de los estudios en conejos sugerían la hipótesis de que el aumento en porosidad, acompañado de mayor hueso cortical, puede ser una respuesta estructural a mantener las propiedades biomecánicas de hueso tratado con rhPTH(1-34). No había diferencias entre ovariectomizados y otros grupos en el periodo de formación, anchura osteoide, anchura de pared o maduración osteoide a los 18 meses.

En resumen, no había diferencias en velocidades de resorción entre controles ovariectomizados y cualquier dosis de rhPTH(1-34). Los controles simulados presentaban una velocidad de resorción inferior que cualquier control ovariectomizado o animales tratados con rhPTH(1-34). Cuando rhPTH(1-34) se retiraba durante 6 meses, las velocidades de resorción disminuían significativamente, pero las medidas de BMD y resistencia biomecánica permanecían más altas que los controles ovariectomizados. Los valores normales de anchura osteoide y tiempo de maduración intracortical para todos los grupos indica que el tratamiento no provocaba defecto alguno en la temporalización normal del proceso de mineralización. Valores normales para anchura de pared indican que el tratamiento no alteraba el equilibrio normal entre

resorción y formación al nivel de BMU individual.

Tabla 6 Variables histomorfométricas para medidas de hueso cortical del húmero

Variable[a]	Unidades	Descripción
Ac.F	ciclos/año	Frecuencia de activación
BFR/BS.Ec	µm/día	Velocidad de formación de hueso, referente a superficie endocortical
BFR/BS-Ps	µm/día	Velocidad de formación de hueso, referente a superficie periosteal
BFR/BV	%/año	Velocidad de formación de hueso, referente a volumen de hueso
FP	días	Periodo de formación
L.On.N/Ct.A	#/mm^2	Número de osteones etiquetados con fluorocromo por unidad de área cortical
MAR	µm/día	Velocidad de aposición mineral, intracortical
MAR.Ec	µm/día	Velocidad de aposición mineral, superficie endocortical
MAR.Ps	µm/día	Velocidad de aposición mineral, superficie periosteal
MS/BS.Ee	%	Superficie endocortical mineralizante normalizada a la superficie endocortical total
MS/BS.Ps	%	Superficie periosteal mineralizante normalizada a superficie periosteal total
O.Wi	µm	Anchura osteoide
Rs.N/Ct.A	#/mm^2	Número de espacios de resorción por unidad de área cortical
W.Wi	µm	Anchura de pared osteonal
omt	días	Tiempo de maduración osteoide
Po	%	Porosidad, el porcentaje de área de hueso ocupado por espacios
B.Ar	mm^2	Área de hueso, el área total dentro de la superficie periosteal
Ct. Ar	mm^2	Área cortical, el área de hueso dentro de la superficie periosteal (incluye porosidad)
Mc.Ar	mm^2	Área de cavidad medular
[a] La nomenclatura es la recomendada en Journal Bone and Mineral Research, 1987.		

Tabla 7 Histomorfometría cortical a la mitad de longitud del húmero de primates ovariectomizados a los 18 meses (n = 121)

Variable[b]	Simulado	OVX	PTH1	PH1-W	PTH5	PTH5-W
Ac.F	1,85 ± 1,87[a,c]	6,06 ± 3,31	7,69 ± 4,96	3,05 ± 2,15[a]	8,70 ± 3,97	2,05 ± 1,46[a]

(continuación)

BFR/BS.Ec	7,08 ± 3,80	20,93 ± 19,23	18,14 ± 13,95	14,89 ± 10,32	34,04 ± 19,01	12,73 ± 16,33[a]
BFR/BS-Ps	3,79 ± 3,07	9,12 ± 7,58	8,53 ± 10,54	3,60 ± 3,84[a]	8,99 ± 5,81	5,79 ± 4,05
BFR/BV	2,13 ± 2,06[a]	9,16 ± 5,37	19,23 ± 5,93	4,39 ± 3,48[a]	12,93 ± 5,94[a]	2,21 ± 1,73[a]

FP	82,73 ± 41,06	65,94 ± 19,79	63,44 ± 10,02	64,94 ± 11,99	81,97 ± 95,63	88,63 ± 52,90
L.On.N/Ct.A	0,28 ± 0,27a	1,03 ± 0,52	1,26 ± 0,71	0,50 ± 0,36[a]	1,45 ± 0,47[a]	0,38 ± 0,26[a]
MAR	0,91 ± 0,33[a]	1,07 ± 0,19	0,98 ± 0,12[a]	1,06 ± 0,27	1,03 ± 0,23	0,85 ± 0,28[a]
MAR.Ec	0,48 ± 0,19[a]	0,75 ± 0,25	0,66 ± 0,15	0,66 ± 0,16	0,75 ± 0,14	0,63 ± 0,17
MAR.Ps	0,62 ± 0,24	0,69 ± 0,23	0,89 ± 0,95	0,54 ± 0,15[a]	0,66 ± 0,17	0,82 ± 0,15
MS/BS.Ee	3,09 ± 6,49[a]	20,99 ± 18,04	25,19 ± 17,14	11,74 ± 14,41[a]	40,47 ± 24,68[a]	8,93 ± 15,39[a]
MS/BS.Ps	1,81 ± 3,59[a]	10,03 ± 10,49	8,59 ± 5,73	3,86 ± 4,83[a]	11,00 ± 9,63	2,30 ±3,76[a]
O.Wi	3,77 ± 0,92	4,04 ± 0,91	3,66 ± 0,67	3,96 ± 0,83	3,94 ± 1,13	3,76 ± 0,83
Rs.N/Ct.A	0,12 ± 0,17a	0,21 ± 0,13	0,28 ± 0,18	0,12 ± 0,07[a]	0,43 ± 0,26[a]	10,19 ± 0,18
W.Wi	63,23 ± 13,61	68,63 ± 15,09	61,36 ± 7,79	63,12 ± 17,35	65,29 ± 9,43	63,82 ± 8,31
omt	4,58 ± 1,26[a]	3,87 ± 1,04	3,76 ± 0,70	3,86 ± 0,74	6,45 ± 13,85	5,07 ± 2,65
Po	1,32 ± 0,60[a]	2,61 ± 1,40	4,65 ± 4,78	2,23 ± 1,60	6,78 ± 4,23[a]	6,40 ± 4,22[a]
B.Ar	53,12 ± 5,50	52,71 ± 7,09	54,22 ± 5,97	54,94 ± 6,55	55,81 ± 6,24	58,16 ± 8,79[a]
Ct.Ar	37,40 ± 3,75	35,35 ± 5,04	37,61 ± 3,86	38,10 ± 4,83	40,96 ± 4,30[a]	40,83 ± 5,80[a]
Me.Ar	15,72 ± 4,07	17,47 ± 4,22	16,61 ± 3,77	16,84 ± 3,74	14,85 ± 4,72[a]	17,34 ± 6,05

Abreviaturas: OVX = ovariectomizado; PTH1 = rhPTH(1-34) 1 µg/kg durante 18 meses; PTH1-W = retirada tras tratamiento con rhPTH(1-34) 1 µg/kg durante 12 meses; PTH5 = rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 18 meses; PTH5-W = retirada tras tratamiento con rhPTH(1-34) 5 µg/kg durante 12 meses.

[a] Estadísticamente significativo en comparación con controles OVX ($p < 0,05$)

[b] Véase la tabla 4.2 para descripción de las variables

[c] Datos expresados como media ± desviación estándar de la media (SEM)

El análisis por histomorfometría y microscopía infrarroja con transformada de Fourier polarizada reveló que la administración de PTH mejoraba la calidad del hueso reemplazando hueso viejo (cristalitas de gran tamaño) con hueso joven (intervalo de cristalitas tamizadas en tendencia a menor tamaño). Además tras retirada del PTH en monos a los que se administró dosis bajas, hay un beneficio adicional ya que la matriz comienza a mineralizarse de forma óptima, y la cristalita madura. Los datos derivados de la histomorfometría y microscopía infrarroja con transformada de Fourier muestran un beneficio inesperado en la calidad del hueso del hueso cortical, cuando tiene lugar la mineralización óptima madura la fase mineral.

Estudios de modelización por elementos finitos en 3D

El examen de lonchas de 500 µm de media de L-5 mostró un aumento del 21% en BMD para PTH en comparación con ovariectomizados lo que era debido a un aumento del 27% en BMC sin cambio en el área de sección transversal. El análisis del centro de PTH mostró un aumento del 73% en BV/TV lo que era debido a un aumento del 30% en Tb-Th y 37% mayor en Tb.N, en comparación con los ovariectomizados. El análisis de conectividad para esta región mostró un 140% más de densidad de nodos (volumen de nodo/tejido) y 286% más de puntal nodo-a-nodo para la vértebra con PTH.

El análisis de distribución de histograma de densidades de vóxeles de hueso para PTH mostró una reducción en la proporción de bajas densidades (de 0 a 355 mg/cm^3), un aumento en densidades medias (356 a 880 mg/cm^3), con poco efecto en alta densidad de vóxeles (887 a 1200 mg/cm^3), en comparación con ovariectomizados (figura 6). Lo más

preocupante fue el desplazamiento hacia una densidad de vóxeles de hueso mayor en el compartimento de hueso cortical seguido de retirada del tratamiento durante 6 meses (figura 6).

Se calculó la proporción de elementos de hueso vertebral (vóxeles) que caían dentro de un cierto intervalo de valores de BMD. Los intervalos de BMD seleccionados eran los siguientes: BMD baja, de 0 a 300 mg/cm^3; BMD medio, de 300 a 700 mg/cm^3; BMD alta, de 700 a 1000 mg/cm^3; y BMD cortical, > 1000 mg/cm^3 (tabla 8). En comparación con controles ovariectomizados, el tratamiento con PTH reducía de forma significativa el volumen de hueso de baja BMD y aumentaba el volumen de hueso de BMD media. Tras retirada del PTH hubo una reducción en hueso de BMD media y un aumento en hueso de BMD alta, lo que indica que el hueso de BMD media comenzaba a ser más denso.

Tabla 8. Porcentajes de volumen de la vértebra L5 agrupados por valores de BMD (media ± SEM)

Tratamiento	BMD bajo (%)	BMD medio (%)	BMD alto (%)	BMD cortical (%)
Ovariectomizado	30,4 ± 2,2	48,7 ± 1,6	19,9 ± 1,2	0,9 ± 0,3
PTH	17,7 ± 1,6*	58,9 ± 1,9*	22,8 ± 2,7	0,6 ± 0,3
PTH-W	22,4 ± 1,3*	49,7 ± 1,2	27,0 ± 1,6*	0,8 ± 0,2

Tabla 9. BMC al nivel medio de la vértebra L5 y tensión efectiva vertebral

Tratamiento	BMC (mg)	Tensión efectiva (tensión de rotura)
Ovariectomizado	37,2 ± 1,6	701 ± 64
PTH	47,4 ± 1,5*	447 ± 36*
PTH-W	44,2 ± 1,2*	539 ± 34*
* Estadísticamente diferente ($p < 0,05$ según ensayo PLSD de Fisher)		

Los datos resumidos en la figura 6 muestran que la vértebra L-5 de monos cinomolgus tratados durante 18 meses con PTH responde con aumentos significativos en masa ósea, espesor trabecular y conectividad trabecular, con efectos marginales en las dimensiones exteriores (área X) de la vértebra. El análisis de la distribución de elementos del hueso en L-5 mostró que las regiones de hueso fuertemente mineralizadas cambian al menos sin evidencia de esclerosis ósea. Más bien se trata del hueso trabecular poroso que respondía en la mayor parte de los casos a PTH. El desplazamiento en BMD condujo a una reducción sustancial en la tensión axial, lo que indica mejora mecánica. Como se demostró claramente en los histogramas de PTH y BMD de ovariectomía, PTH transformó los vóxeles de hueso de densidad baja en vóxeles de densidad media sin efecto significativo en los vóxeles de densidad alta.

La tensión mecánica media en las vértebras se redujo 36% con tratamiento con PTH y se mantuvo 23% por debajo de los OVX tras retirada del PTH. Este estudio indica que la retirada del tratamiento con PTH durante 6 meses no conducía a la resorción de hueso recién formado, pero en lugar de esto no hubo una redistribución beneficiosa del hueso de densidad media en hueso de densidad menor o mayor. Esta redistribución condujo a la reducción de tensión continua en las vértebras y por tanto a mejor función mecánica.

Discusión

Este estudio en primates indica que el PTH, administrado en ausencia de otras medicinas que podrían afectar al hueso, beneficia tanto al hueso cortical como trabecular aumentado la masa ósea del esqueleto en general. Además la retirada de PTH no daba lugar a pérdida significativa de los beneficios asociados con el tratamiento con PTH durante un periodo de al menos 2 ciclos de remodelación.

Se han usado marcadores subrogados en otros ensayos para indicar la actividad en hueso, y asumieron que los cambios en valores reflejan cambios en masa ósea. Aunque hay datos publicados en humanos y primates que muestran que tanto marcadores de formación como de resorción aumentan, en coherencia con la activación de la resorción ósea, por ejemplo, durante la menopausia temprana o en estados de enfermedad activa, se considera la elevada resorción que es indicativa de pérdida ósea. En la adolescencia la alta resorción durante la maduración del esqueleto humano se ha estudiado menos, pero va acompañada de una ganancia anabólica en masa ósea. Tal fenómeno sería totalmente inesperado en terapia con fármaco de osteoporosis, de acuerdo con la técnica actual. Por tanto, el aumento en marcadores de resorción

ósea es coherente con el efecto anabólico conocido de PTH para aumentar la masa y resistencia ósea, como se muestran con los datos en el presente estudio.

Los datos de este estudio de 18 meses en monos cinomolgus sustenta los siguientes hallazgos no esperados:

- Aumento significativo general en masa esquelética total
- Aumento significativo en masa y resistencia ósea en el cuello del fémur.
- Sin evidencia de “robo” de hueso cortical para aumentar hueso trabecular. El aumento de masa y resistencia ósea no eran estadísticamente significativos en sitios enriquecidos para hueso cortical (cuello de fémur) o hueso trabecular (vértebras lumbares). En sitios de hueso cortical puramente (diáfisis media del fémur), hubo una tendencia del PTH a estabilizar o aumentar ligeramente la masa y resistencia óseas, en comparación con los controles ovariectomizados.
- Los cambios en marcadores óseos en monos ovariectomizados (y humanos) no reflejan el beneficio, efectos anabólicos de PTH en el esqueleto. El uso de fluidos corporales de primates en el presente estudio permite el desarrollo de marcadores subrogados nuevos y más válidos.
- Retención de la ganancia en masa y resistencia ósea durante al menos 2 ciclos de remodelación tras retirada del tratamiento.

Este estudio en primate con PTH difiere de los estudios publicados en monos rhesus o cinomolgus en que se usa un tamaño de muestra grande para proporcionar la fuerza estadística apropiada para detectar diferencias que no han sido evidentes en estudios previos mucho menores; los controles incluyeron tanto primates ovariectomizados (usados en estudios publicados) como primates operados de forma simulada, pero también primates intactos. El último grupo de control no se ha descrito previamente en este tipo de estudio, de modo que se evaluaron por vez primera algunos de los beneficios de PTH y la restauración de ciertas medidas para simular niveles de control, en comparación con valores para animales ovariectomizados.

Conclusiones

Este estudio de 18 meses en monos cinomolgus maduros, ferales, ovariectomizados (OVX), *Macaca fascicularis*, aseguró la eficacia y seguridad en hueso tras tratamiento con rhPTH(1-34) durante 12 meses seguido de retirada del tratamiento durante 6 meses, o tratamiento durante 18 meses. rhPTH(1-34) aumentó de forma significativa la masa y resistencia ósea de la espina dorsal y cuello del fémur por encima de los controles ovariectomizados hasta niveles equivalentes a o superiores al de los de controles simulados. En monos ovariectomizados tratados con rhPTH(1-34) las medidas de homeostasis de calcio (calcio en suero, fosfato y 1,25-dihidroxivitamina D) se restablecieron a las de controles simulados. Medidas en suero, orina e histomorfometría usadas para evaluar la resorción ósea mostraron que rhTPH(1-34) mantenía las velocidades de formación equivalentes a o superiores a las de controles ovariectomizados, mientras que los marcadores bioquímicos de resorción ósea se mantenían equivalentes a los de controles simulados. En todos los animales tratados con rhPTH(1-34) durante 18 meses, las medidas farmacocinéticas no cambiaron con el tiempo, y no hubo acumulación de rhPTH(1-34). No hubo evidencia de hipercalcemia sostenida o patología renal después de 18 meses de tratamiento. No hubo cambios en los periodos de mineralización o de remodelación. La ganancia neta es contenido mineral óseo del esqueleto observado con rhPTH(1-34) puede explicarse con mayor velocidad de formación ósea y superficie de formación ósea con poco o ningún efecto en la resorción ósea. Hubo aumentos significativos en contenido mineral óseo, densidad mineral ósea y medidas biomecánicas de resistencia, incluyendo dureza y rigidez, en puntos clínicamente importantes tales como la espina dorsal, cuello del fémur y tibia proximal.

rhPTH(1-34) aumentaba la velocidad de resorción en hueso cortical a la mitad de longitud del húmero y radio, pero no alteraba de forma significativa la masa ósea o medidas biomecánicas de la resistencia en comparación con los controles ovariectomizados o simulados. Sin embargo, el aumento en anchura cortical y/o área ósea cortical es coherente con un aumento en el momento de inercia transversal, una medida de la resistencia y rigidez. rhPTH(1-34) no presentaba efectos significativos en las propiedades intrínsecas del material del hueso cortical. La formación de hueso endocortical era estimulada, aumentado así la anchura cortical y porosidad cortical. Parece que estos cambios en porosidad son responsables de mantener la elasticidad del hueso.

En monos, 12 meses de tratamiento con rhPTH(1-34) seguido de retirada durante 6 meses, se asoció con ganancias menores, pero aún significativas, en masa y resistencia ósea en la espina dorsal y cuello del fémur. Tras retirada no se observaron efectos significativos a la mitad de longitud del hueso cortical del húmero y radio. Los marcadores óseos y la histomorfometría mostraron tendencias a retornar a los valores de resorción bajos medidos en controles simulados.

Estudios de mecánica in vivo en roedores mostraron que los genes asociados con resultados anabólicos de rhPTH(1-34)

están sobrerregulados dentro de 1 a 6 horas, y el aumento en superficies de formación ósea se puede detectar dentro de las 24 horas tras la primera dosis en ausencia de efectos detectables en la resorción. rhPTH(1-34) parece reclutar osteoprogenitores en fase S, y estimular su diferenciación en osteoblastos, con lo que se aumenta rápidamente el porcentaje de superficies de formación ósea. Se pueden administrar inyecciones simples o múltiples de rhPTH(1-34) dentro del periodo de 1 hora para inducir el efecto anabólico en el hueso. Sin embargo, cuando la dosis equivalente se administra a ratas jóvenes como inyecciones múltiples durante 6 horas u 8 horas, el efecto anabólico era abolido, lo que sugiere que se requiere exposición breve limitada a rhPTH(1-34) para inducir el efecto anabólico.

En resumen, rhPTH(1-34) es anabólico en el hueso en monos y conejos, aumentando las medidas de masa ósea y resistencia biomecánica en sitios clínicamente relevantes tales como la espina lumbar y cuello del fémur con estimulación selectiva de formación ósea. Los aumentos en resorción ósea, formación de superficie endocortical, y porosidad, detectados por histomorfometría en sitios corticales, no alteraban la masa ósea o las medidas biomecánicas de la resistencia ósea, pero aumentaban el momento de inercia en sección transversal aumentado el área y/o anchura de hueso cortical.

Estos estudios demuestran que la administración de activadores del receptor de hormona paratifoidea, tales como PTH(1-34) humana recombinante, mejoran la calidad ósea tanto durante como después del tratamiento. De hecho, la administración de PTH una vez al día durante 18 meses, o en la misma dosis durante 12 meses seguido de una fase de retirada durante 6 meses, mostró mejora reseñable de la calidad del hueso cortical del húmero según se analizó por histomorfometría y microscopía infrarroja con transformada de Fourier polarizada (FTIR). Este análisis reveló que la administración de PTH mejoró la calidad ósea reemplazando hueso viejo (cristalitas de gran tamaño) con hueso joven (intervalo de cristalitas tamizadas, que tienden a menor tamaño). Por tanto, la administración de PTH puede aumentar la calidad del hueso cortical, mejorar la mineralización y acelerar la mineralización y reemplazo de hueso viejo con hueso nuevo.

Además, tras retirada de PTH en monos administrados con dosis bajas, hay un beneficio adicional cuando la matriz comienza a mineralizarse de forma óptima, y las cristalitas maduran. Esto es, a dosis bajas, PTH puede tener beneficios adicionales durante la fase de retirada del tratamiento mejorando la mineralización. Estos datos indican beneficios de un régimen finito de tratamiento con PTH seguido de un periodo de retirada para conseguir mejor beneficio. Las definiciones actuales de calidad ósea no incluyen estos aspectos de mejor mineralización.

En estudios previos de una fase de tratamiento de PTH seguido de una fase de no tratamiento, la fase de tratamiento era menor de 1 mes. La fase de tratamiento prolongada pero finita de 18 a 24 meses seguida de un periodo de al menos 2 ciclos de remodelación no se había explorado previamente. El beneficio continuado en primates tras retirada del tratamiento está en remarcado contraste con los resultados conseguidos en roedores tras dosificación con PTH. Estudios de ratas han mostrado de forma uniforme que el hueso se pierde rápidamente tras retirada del tratamiento. Gunness-Hey, M. and Hock, J. M. (1989) Bone 10: 447-452; Shen, V. y col. (1993) J. Clin Invest 91: 2479-2487; Shen, V. y col. (1992) Calcif. Tissue Int. 50: 214-220; y Mosekilde, L. y col. (1997) Bone 20: 429-437.

Tal procedimiento de mejora de la mineralización ósea no se ha observado previamente y es inesperada, lo que revela un nuevo procedimiento con el que se refuerza y se endurece con PTH el hueso y se pueden evitar fracturas. Este nuevo procedimiento incluye mejora y regularización de la mineralización, proporcionar hueso más duro, rígido y más resistente a fracturas. Tales efectos beneficiosos requieren más que nueva formación de matriz. Estos hallazgos indican que PTH presenta beneficios en pacientes con huesos o esqueletos inmovilizados, o en esqueletos deficientes en mineral, procurando que sea también adecuado el suplemento de calcio y vitamina D.

Ejemplo 2 – mayor resistencia y densidad ósea, y menores fracturas tras administración de rhPTH(1-34) a humanos

Número de sujetos:	rhPTH(1-34): 1093 totales, 848 acabaron
	Placebo: 544 totales, 447 acabaron
Diagnóstico y criterios de inclusión:	Mujeres de edades de 30 a 85 años, post-menopáusicas durante un mínimo de 5 años, con un mínimo de una fractura moderada o dos fracturas vertebrales atraumáticas suaves (a modo de referencia)
Dosificación y administración:	Producto de ensayo (ciego)
	rhPTH(1-34): 20 µg/día, administrado por vía subcutánea
	rhPTH(1-34): 40 µg/día, administrado por vía subcutánea

	Terapia de referencia (ciego)
	Material de estudio de placebo para inyección
Duración de tratamiento:	rhPTH(1-34): 17 a 23 meses (excluyendo fase de entrada de 6 meses)
	Placebo: 17 a 23 meses (excluyendo fase de entrada de 6 meses)
Criterios de evaluación:	Rayos X de espina dorsal; marcadores biológicos en suero (calcio, fosfatasa alcalina específica de hueso, pro-péptido de terminal carboxi procolágeno I); marcadores de orina (calcio, N-telopéptido, deoxipiridinolina libre); 1,25-dihidroxivitamina D; densidad mineral ósea: espina dorsal, cadera, muñeca, y cuerpo total; altura; parámetros farmacocinéticas de la población; biopsia de hueso (sitios de estudio seleccionados).

Características del paciente

	Placebo (n = 544)	PTH-20 (n = 541)	PTH-40 (n = 552)	Valor p
Caucásico	98,9%	98,9%	98,4%	0,672
Edad	69,0 ± 7,0	69,5 ± 7,1	69,9 ± 6,8	0,099
Años post-menopausia	20,9 ± 8,5	21,5 ± 8,7	21,8 ± 8,2	0,273
Histerectomizado	23,8%	23,1%	21,6%	0,682
Útero + 0 ó 1 ovario	57	51	58	
Útero + 2 ovarios	61	57	51	
Desconocido	11	17	10	
Uso de fármaco previo a osteoporosis	14,9%	15,5%	13,0%	0,479
BMD de espina dorsal basal	0,82 ± 0,17	0,82 ± 0,17	0,82 ± 0,17	> 0,990

(continuación)

Basal # de vert. Fx			> 0,990
0	54 (10,4%)	45 (8,8%)	54 (10,1%)
1	144 (27,8%)	159 (31,1%)	169 (31,6%)
2	128 (24,7%)	128 (25,0%)	125 (23,4%)
3	75 (14,5%)	67 (13,1%)	81 (15,1%)
4	59 (11,4%)	49 (9,6%)	45 (8,4%)
5	28 (5,4%)	31 (6,1%)	21 (3,9%)
6	13 (2,5%)	20 (3,9%)	25 (4,7%)
7	6 (1,2%)	7 (1,4%)	10 (1,9%)
8	9 (1,7%)	5 (1,0%)	3 (0,6%)
9	1 (0,2%)	0	2 (0,4%)
10	1 (0,2%)	1 (0,2%)	0
No específico	26	29	17

Resultados

Los datos de este ensayo clínico incluyen un total de 1637 mujeres tratadas con hormona paratiroide humana recombinante (1-34), rhPTH(1-34) 0, 20 ó 40 µg/kg/día, y suplementado con vitamina D y calcio, durante 18 a 24 meses, mostraron resultados descritos en tablas 15 a 19.

La tabla 10 ilustra datos que muestran la reducción tras tratamiento con PTH del número y gravedad de fracturas vertebrales. Comparando todos los pacientes tratados con PTH con los de placebo, la reducción general en número de pacientes con fracturas vertebrales era del 67% ($p < 0,001$) con una reducción del 65% ($p < 0,001$) a 20 µg/día de PTH en comparación con los de placebo, y una reducción del 69% a 40 µg/día de PTH en comparación con los de placebo (tabla 10). Comparando todos los pacientes tratados con PTH con los de placebo, la reducción general en número de pacientes con fracturas vertebrales múltiples era del 81% ($p < 0,001$), con una reducción del 77% ($p < 0,001$) a 20 µg/día de PTH en comparación con los de placebo, y una reducción del 86% a 40 µg/día de PTH en comparación con los de placebo. Comparando todos los pacientes tratados con PTH con los de placebo la reducción general en número de pacientes con fracturas vertebrales moderadas a graves era del 84% ($p < 0,001$), con una reducción del 90% ($p < 0,001$) a 20 µg/día de PTH en comparación con los de placebo, y una reducción del 78% a 40 µg/día de PTH en comparación con los de placebo (tabla 10).

Tabla 10. Efecto del tratamiento con PTH en el número y gravedad de fracturas vertebrales

	Placebo (n* = 448)	20 µg/día de PTH (n = 244)	40 µg/día de PTH (n = 434)
Número y porcentaje de pacientes con nuevas fracturas vertebrales	64 (14,3%)	22 (5,0%)	19 (4,4%)
Número y porcentaje de pacientes con 2 o más fracturas vertebrales	22 (4,9%)	5 (1,1%)	3 (0,7%)

(continuación)

Número y porcentaje de pacientes con nuevas fracturas moderadas a graves **	42 (9,4%)	4 (0,9%)	9 (2,1%)

* n = número de pacientes con basal y con rayos x de punto final

** Fractura moderada da lugar a más de 25% de pérdida de altura vertebral (o una medida equivalente). La fractura grave resulta en más de 40% de pérdida de altura vertebral (o una medida equivalente). Las fracturas son como se definen por Genant y col. (1993) Vertebral fracture assesment using a semiquantitative technique; J. Bone & Min Res 81137-1148.

La tabla 11 ilustra el efecto de tratamiento con PTH en el número de fracturas en diversos huesos no vertebrales en todo el cuerpo. El número de fracturas disminuyó aparentemente en cadera, radio, tobillo, húmero, costilla, pie, pelvis, y otros sitios (tabla 11). La reducción es estadísticamente significativa cuando se observaba como la reducción en el número total de fracturas entre los pacientes tratados con PTH en comparación con los pacientes tratados con placebo. La reducción es incluso más significativa cuando se considera como la reducción en el número total de fracturas de cadera, radio, tobillo, húmero, costillas, pie y pelvis entre los pacientes tratados en comparación con los pacientes tratados con placebo (tabla 11).

Tabla 11: efecto del tratamiento con PTH en el número de fracturas no vertebrales

				Valores p			
	Placebo (n = 544)	PTH-20 (n = 541)	PTH-40 (n = 552)	General	PTH-pbo*	20-pbo	40-pbo
Cadera	4	2	3	0,718	0,474	0,417	0,690
Radio	13	7	10	0,404	0,236	0,180	0,504
Tobillo	4	2	2	0,601	0,313	0,417	0,403
Húmero	5	4	3	0,767	0,534	0,744	0,465
Costillas	10	5	5	0,277	0,109	0,197	0,184
Pie	4	1	4	0,374	0,474	0,181	0,983
Pelvis	3	1	0	0,171	0,076	0,319	0,081
Otros	16	14	9	0,338	0,296	0,723	0,146
Total	53	34	32	0,024	0,007	0,036	0,015
Total con/sin “otros”	41	21	24	0,013	0,003	0,010	0,025

* Placebo (pbo)

El efecto de PTH en contenido mineral óseo (BMC), densidad mineral ósea (BMD) y área del hueso se determinaron por absorciometría de doble energía (DEXA), y se describen los resultados en las tablas 12 a 14. La administración de PTH provocó aumentos aparentes en BMC en la espina lumbar del paciente, fémur y cadera, muñeca, y en todo el cuerpo del paciente (tabla 12). El tratamiento con PTH provocó aumentos significativos en la BMD del paciente en la espina lumbar, fémur y cadena (tabla 13). Los aumentos en la espina lumbar, fémur y cadera eran estadísticamente significativos con $p < 0,001$ (tabla 13). El área ósea aumentaba aparentemente tras tratamiento con PTH para la espina lumbar del paciente, fémur y cadera (tabla 14). Los aumentos eran estadísticamente significativos para la espina lumbar y cuello de la cadera (tabla 14).

El efecto de PTH sobre la medida de cantidad y calidad de hueso, BMC, en todo el cuerpo, es particularmente importante. Este efecto en todo el cuerpo indica que la cantidad de hueso en el cuerpo del paciente va en aumento. El PTH no da lugar meramente al movimiento de masa ósea desde una parte del cuerpo del paciente a otra. En lugar de esto el tratamiento con PTH aumenta la cantidad y calidad de hueso en el cuerpo del paciente.

Las figuras 7 y 8 ilustran el aumento en el tiempo en BMD de espina lumbar y BMD de fémur/cuello de la cadera, respectivamente, para PTH tratado y pacientes de control con placebo. La BMD de espina lumbar del paciente aumenta constantemente durante al menos aproximadamente 18 meses, sin o con un aumento menos significativo durante los meses subsiguientes. La BMD del fémur/cadera del paciente aumenta de forma significativa durante al menos 18 meses y puede aumentar tras duración del tratamiento con PTH.

Tabla 12. Efecto de PTH en contenido de mineral en hueso expresado como cambio en % de punto final (SD) del basal

	Placebo	PTH-20	PTH-40	Valor p
Espina lumbar	1,60 (6,92)	11,85 (8,83)	16,62 (11,1)	< 0,001
Fémur/cadera				
Total	-0,38 (5,18)	3,50 (6,26)	4,78 (6,70)	< 0,001
Cuello	-0,51 (7,06)	2,99 (7,26)	5,80 (8,71)	< 0,001
Trocánter	0,98 (14,97)	5,68 (15,58)	6,53 (15,33)	< 0,001
Intertrocánter	-0,23 (6,28)	3,59 (7,32)	4,99 (7,79)	< 0,001
Triángulo de Ward	0,01 (14,75)	5,36 (14,78)	8,86 (17,02)	< 0,001
Muñeca				
Ultradistal	-1,67 (7,44)	-0,25 (6,53)	-1,88 (7,87)	0,184
1/3 radio	-1,19 (6,12)	-1,37 (4,51)	-3,04 (6,09)	0,025
Cuerpo completo	-0,74 (4,76)	1,30 (4,48)	2,28 (5,44)	< 0,001

Tabla 13. Efecto de PTH en densidad mineral ósea expresada como cambio en % de punto final (SD) del basal

	Placebo	PTH-20	PTH-40	Valor p
Espina lumbar	1,13 (5,47)	9,70 (7,41)	13,7 (9,69)	< 0,001
Fémur/cadera				
Total	-1,01 (4,25)	2,58 (4,88)	3,60 (5,42)	< 0,001
Cuello	-0,69 (5,39)	2,79 (5,72)	5,06 (6,73)	< 0,001
Trocánter	-0,21 (6,30)	3,50 (6,81)	4,40 (7,45)	< 0,001
Intertrocánter	-1,29 (5,43)	2,62 (5,52)	3,98 (5,96)	< 0,001
Triángulo de Ward	-0,80 (11,73)	4,19 (11,93)	7,85 (13,24)	< 0,001
Muñeca				
Ultradistal	-1,89 (7,98)	-0,05 (7,14)	-1,76 (7,20)	0,108
1/3 radio	-1,22 (3,37)	-1,94 (4,07)	-3,17 (4,62)	0,001

Tabla 14. Efecto de PTH en área ósea expresada como cambio en % de punto final (SD) del basal

	Placebo	PTH-20	PTH-40	Valor p
Espina lumbar	0,46 (2,97)	2,52 (3,52)	3,34 (3,72)	< 0,001
Fémur/cadera				
Total	0,54 (3,02)	0,84 (3,16)	1,05 (2,98)	0,144
Cuello	0,04 (4,60)	0,27 (4,91)	0,81 (5,56)	0,035
Trocánter	0,95 (12,75)	1,99 (12,16)	1,92 (11,30)	0,197
Intertrocánter	1,01 (5,17)	1,01 (4,99)	1,01 (4,89)	0,964
Triángulo de Ward	0,44 (7,60)	1,13 (7,34)	0,99 (8,06)	0,309
Muñeca				
Ultradistal	0,25 (6,40)	-0,25 (6,00)	-0,39 (4,80)	0,653
1/3 radio	-0,02 (5,73)	0,52 (3,40)	0,01 (4,42)	0,586

En resumen, los datos presentados anteriormente indican que pacientes tratados con PTH presentan menores fracturas. De forma específica, el tratamiento con PTH redujo en más del 66% el número de pacientes con fracturas vertebrales previas que sufren nuevas fracturas vertebrales. El tratamiento con PTH también reducía en más del 78% el número de pacientes con fracturas vertebrales previas que sufrían nuevas fracturas vertebrales múltiples. Además, PTH reducía la gravedad de las fracturas vertebrales, con una reducción significativa del 78% en el número de pacientes con fracturas moderadas o graves. Pacientes que reciben PTH se benefician de una reducción significativa en todas las fracturas de vértebras (incluyendo fracturas de cadera, radio, muñeca, pelvis, pie, húmero, costillas o tobillo) con significancia a un nivel de $p < 0,007$. La calidad ósea aumenta también. Los pacientes con fractura anterior se benefician de un aumento significativo en contenido mineral óseo de la cadena, espina dorsal y cuerpo total. Este aumento indica que la reducción de fractura en estos sitios puede tener lugar tan pronto como tras 12 meses de terapia.

Discusión

Estos datos de fracturas son los primeros datos en reducción de fractura mediante PTH en humanos. Estos hallazgos demuestran una mejora en la calidad del hueso y resistencia del hueso, como los datos preclínicos indicaron anteriormente. Estos resultados también muestran los beneficios en la calidad y resistencia del hueso en puntos no vertebrales. Los hallazgos de una reducción en los números de fracturas sostenida durante el periodo de 18 a 23 meses de tratamiento no se ha observado previamente en los estudios clínicos o preclínicos.

La cuestión de si PTH solo aumenta la dureza y resistencia del hueso para mejorar la resistencia a la fractura no se ha ensayado previamente en humanos. La bibliografía publicada ha sugerido de forma coherente que PTH debe administrarse en combinación con un agente anti-resortivo o estrógeno. Ensayos clínicos publicados previos incluyeron poblaciones de pacientes demasiado pequeñas para determinar una reducción significativa de la fractura. En un estudio no se pudo valorar solamente las ventajas de PTH debido a que no había controles de placebo. En un segundo estudio, que usa la definición de fractura habitualmente aceptada, no se observó reducción en fractura.

Los hallazgos de una reducción de fracturas en puntos no vertebrales combinados es particularmente inesperada a la luz de la creencia común de que el PTH tiene efectos negativos en tales puntos. El dogma común considera que PTH aumentará la porosidad cortical y por tanto debilita el hueso, especialmente pronto en terapia. Además este dogma establece que las zonas de hueso cortical se encuentran en riesgo alto de fractura y que el PTH no ofrecerá beneficio alguno en la reducción de fractura en las zonas no vertebrales. El dogma también considera que PTH solo es poco probable que sea eficaz y requerirá terapia anti-resortiva concurrente para bloquear los efectos negativos en hueso cortical. Los presentes datos demuestran las ventajas no observadas previamente de PTH administrado a pacientes que reciben suplementos de vitamina D y de calcio. De forma inesperada el PTH refuerza el hueso para reducir el número de nuevas fracturas en un paciente en riesgo de fracturas múltiples de la espina dorsal, en riesgo de fracturas no vertebrales adicionales, en riesgo de fracturas adicionales de moderadas a graves de la espina dorsal y similares.

Este estudio clínico en mujeres post-menopáusicas mostró ventajas particulares del tratamiento de pacientes con dosis baja (20 µg/día) debido a que se redujo la dosis de PTH (que, a dosis alta, podría mostrar efectos secundarios en algunos pacientes), pero se mantenía la prevención de la fractura y la reducción de la fractura, y se observaba algo similar a estos en la dosis alta (40 µg/día). Los datos de FT-IR en mono proporcionan una posible, pero no limitativa, explicación del mecanismo. El estudio en mono muestra que PTH a dosis baja aumentaba la formación de cristal y aceleraba la mineralización en el hueso cortical. Adicionalmente los monos con dosis baja mostraban ventajas adicionales tras resistencia, como contenido en mineral del hueso potenciado por PTH. Los presentes datos demuestran el nuevo hallazgo de que PTH administrado a dosis bajas a pacientes que reciben suplementos de vitamina D y de calcio, es efectivo en evitar tanto fracturas vertebrales como no vertebrales. A la inversa que la creencia popular, PTH refuerza el hueso en zonas no vertebrales para evitar nuevas fracturas o reducir la gravedad de las fracturas, aparentemente mejorando la mineralización y contenido en mineral del hueso.

La invención se ha descrito en referencia a diversas realizaciones y técnicas específicas y preferidas. Sin embargo se debería entender que se pueden realizar muchas variaciones y modificaciones mientras se mantiene dentro del alcance de la invención. Todas las publicaciones y solicitudes de patente en esta memoria descriptiva son indicativas del nivel de especialidad en la técnica a la que pertenece esta invención.

REIVINDICACIONES

1. PTH(1-34) humano para su uso en la prevención o reducción de la incidencia o gravedad de fractura vertebral y/o no vertebral en un varón humano en riesgo de tener o que tiene osteoporosis, en el que el PTH(1-34) se administra por inyección por vía subcutánea a una dosis de 10 a 40 µg/día.

2. PTH(1-34) humano para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el varón humano tiene osteoporosis y el PTH(1-34) se administra una vez al día durante 1 a 7 días durante un periodo que varía de 3 meses hasta 3 años.

3. PTH(1-34) humano para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el varón humano también recibe dosis efectivas de calcio y vitamina D.

4. PTH(1-34) para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el PTH(1-34) se administra durante 12 a 24 meses y es resistente durante al menos 6 meses.

5. PTH(1-34) humano para u uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el PTH(1-34) se administra como una solución estabilizada, incluyendo un agente estabilizante, un agente tampón y un conservante.

FIG. 1

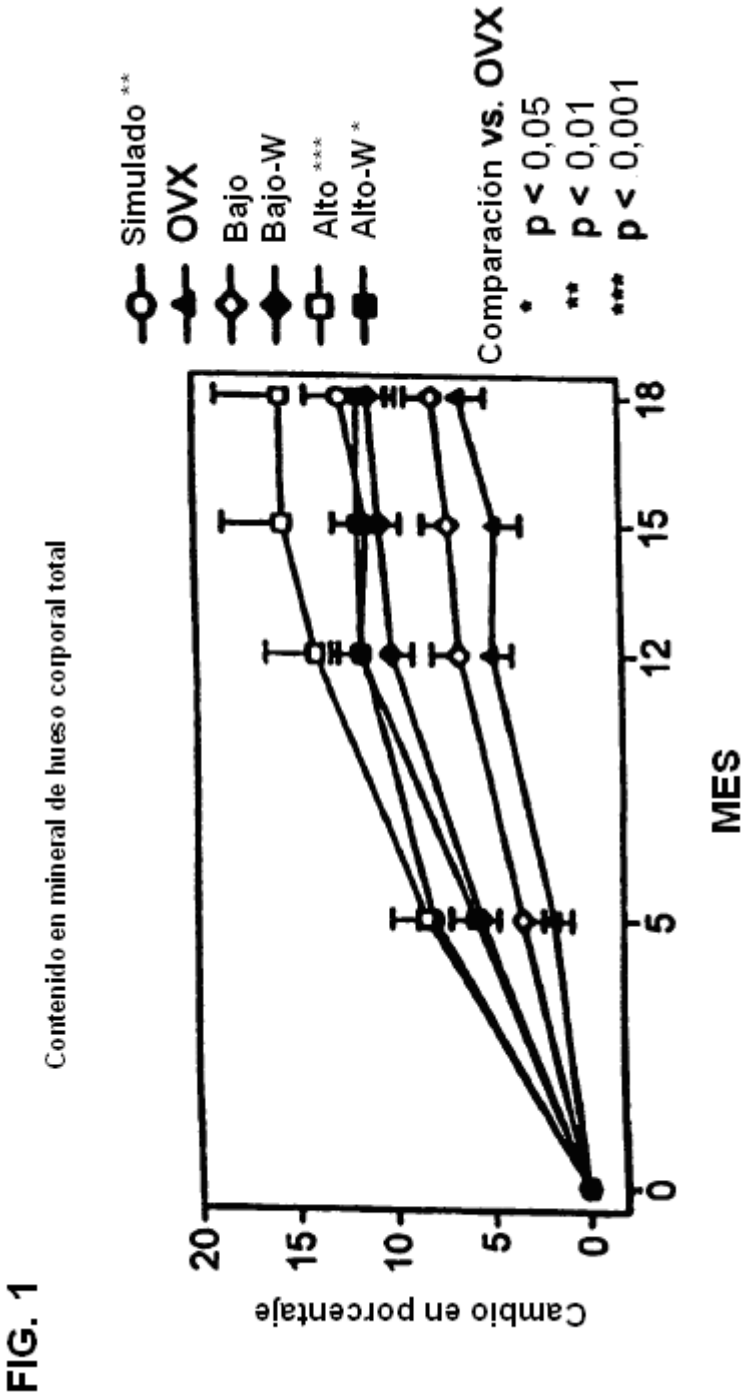

Contenido en mineral de hueso corporal total
Simulado **
OVX
Bajo
Bajo-W
Alto ***
Alto-W *
Comparación vs. OVX
* p < 0,05
** p < 0,01
*** p < 0,001
Cambio en porcentaje
0
5
10
15
20
0
5
12
15
18
MES

FIG. 2A

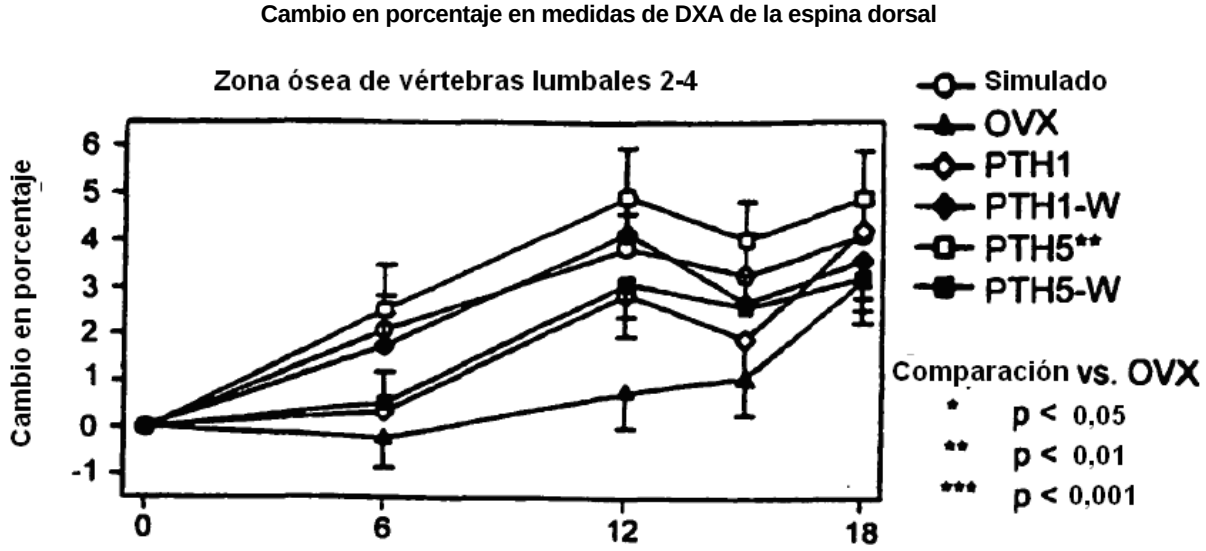


FIG. B

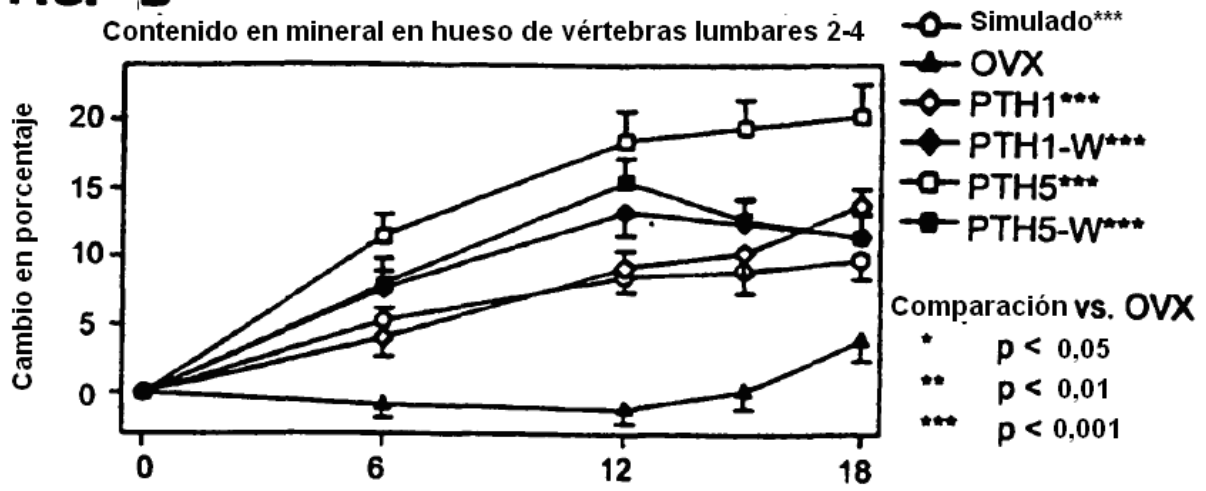
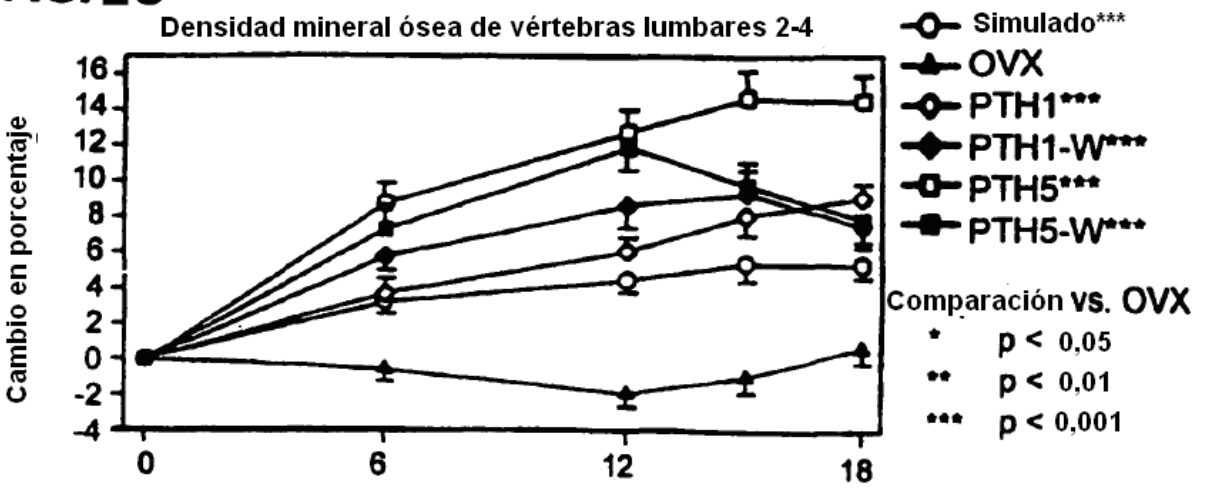


FIG. 2C



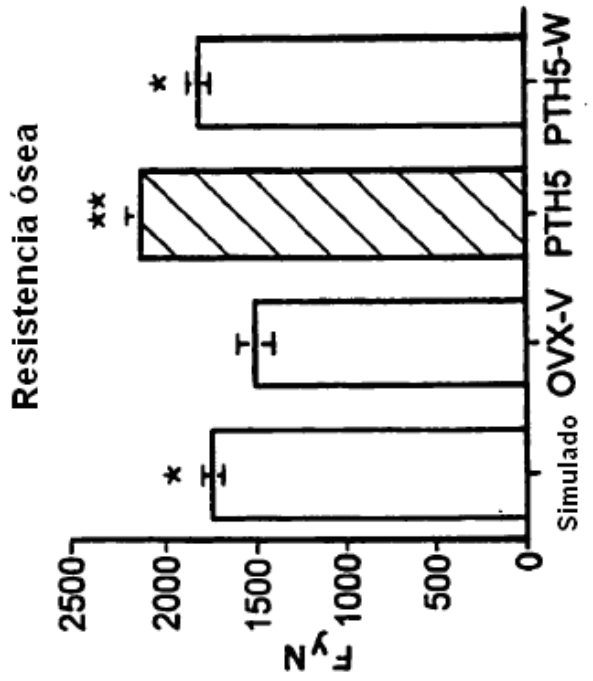

Resistencia ósea
T_{yN}
2500
2000
1500
1000
500
0
*
**
*
Simulado
OVX-V
PTH5
PTH5-W

FIG. 3B

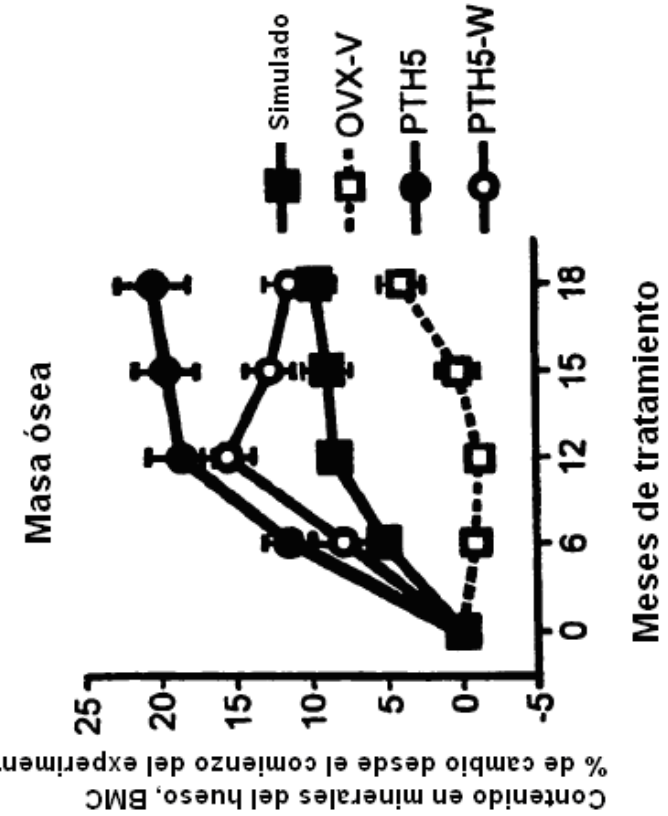

Masa ósea
Contenido en minerales del hueso, BMC
% de cambio desde el comienzo del experimento
25
20
15
10
5
0
-5
0
6
12
15
18
Meses de tratamiento
Simulado
OVX-V
PTH5
PTH5-W

FIG. 3A

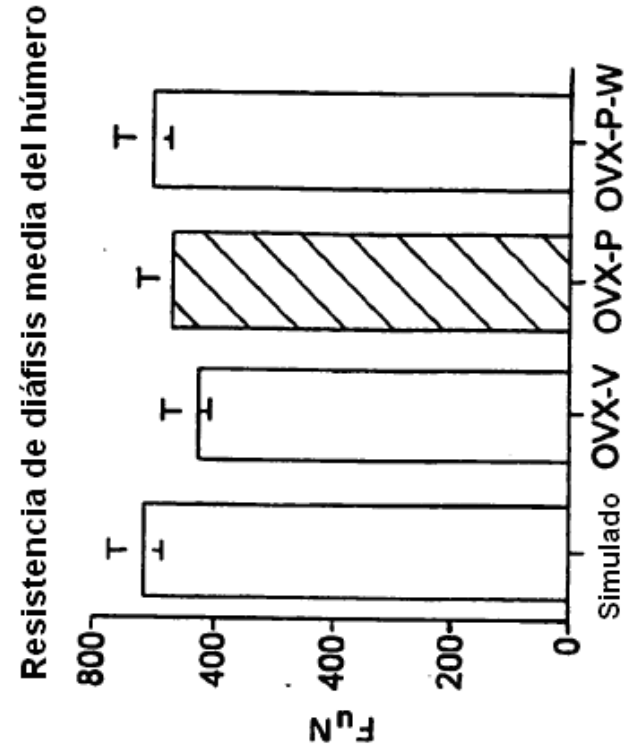

Resistencia de diáfisis media del húmero
800
400
400
200
0
F_{uN}
Simulado
OVX-V
OVX-P
OVX-P-W

FIG. 4B

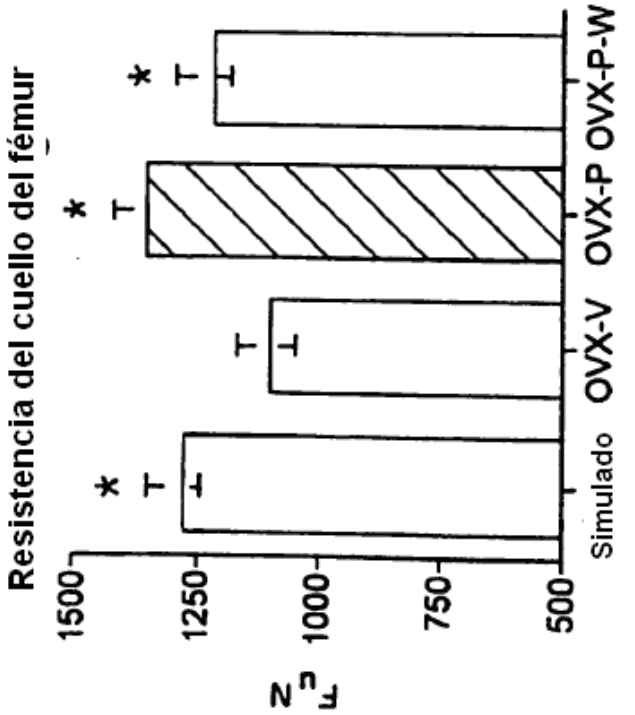
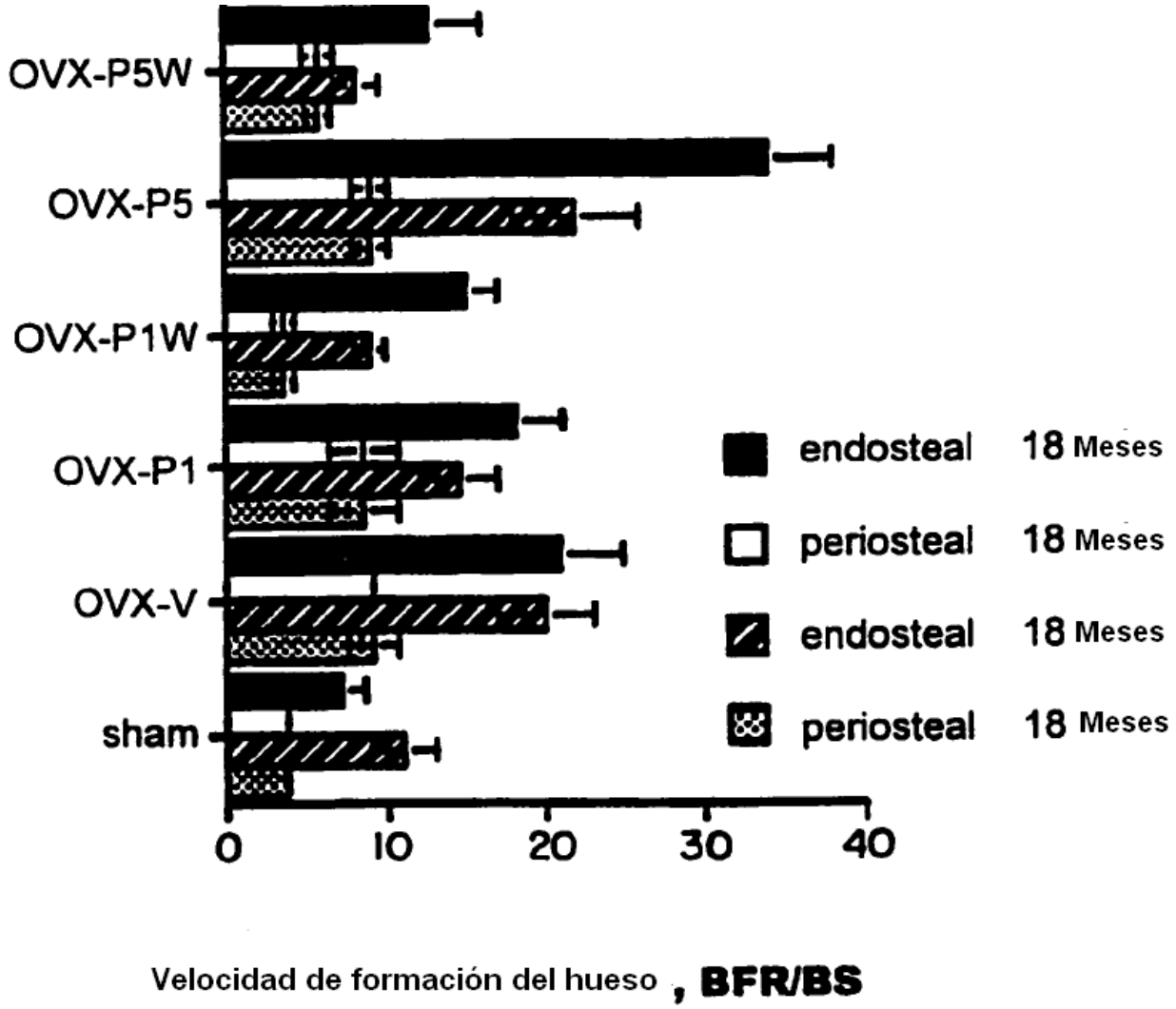

Resistencia del cuello del fémur
1500
1250
1000
750
500
F_{uN}
Simulado
OVX-V
OVX-P
OVX-P-W

FIG. 4A

FIG. 5

Formación de superficies de hueso cortical: húmero a la mitad de la longitud



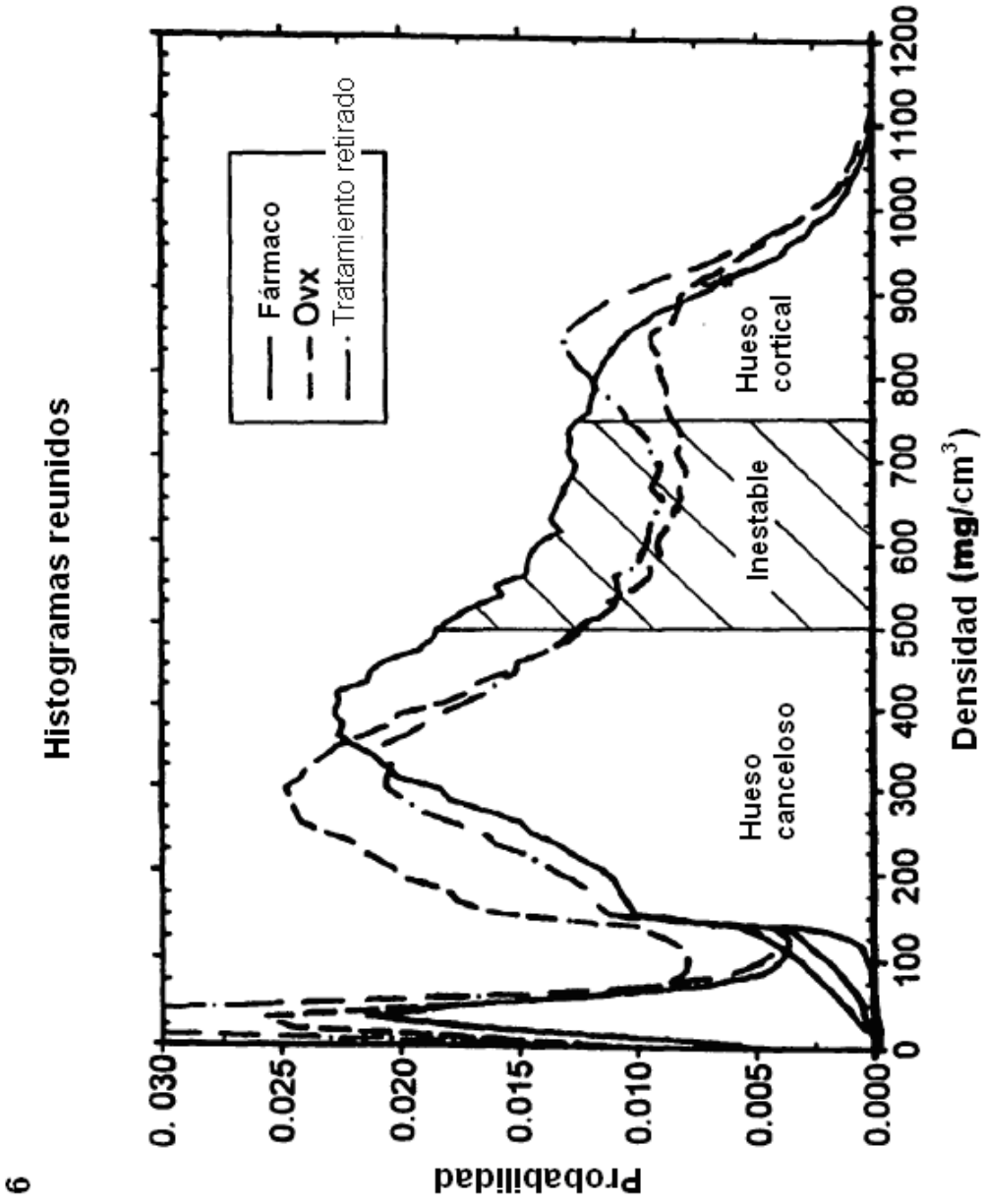

Histogramas reunidos
Fármaco
Ovx
Tratamiento retirado
Hueso cortical
Inestable
Hueso canceloso
Probabilidad
Densidad (mg/cm3)
0. 030
0.025
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200

FIG. 6

FIG. 7

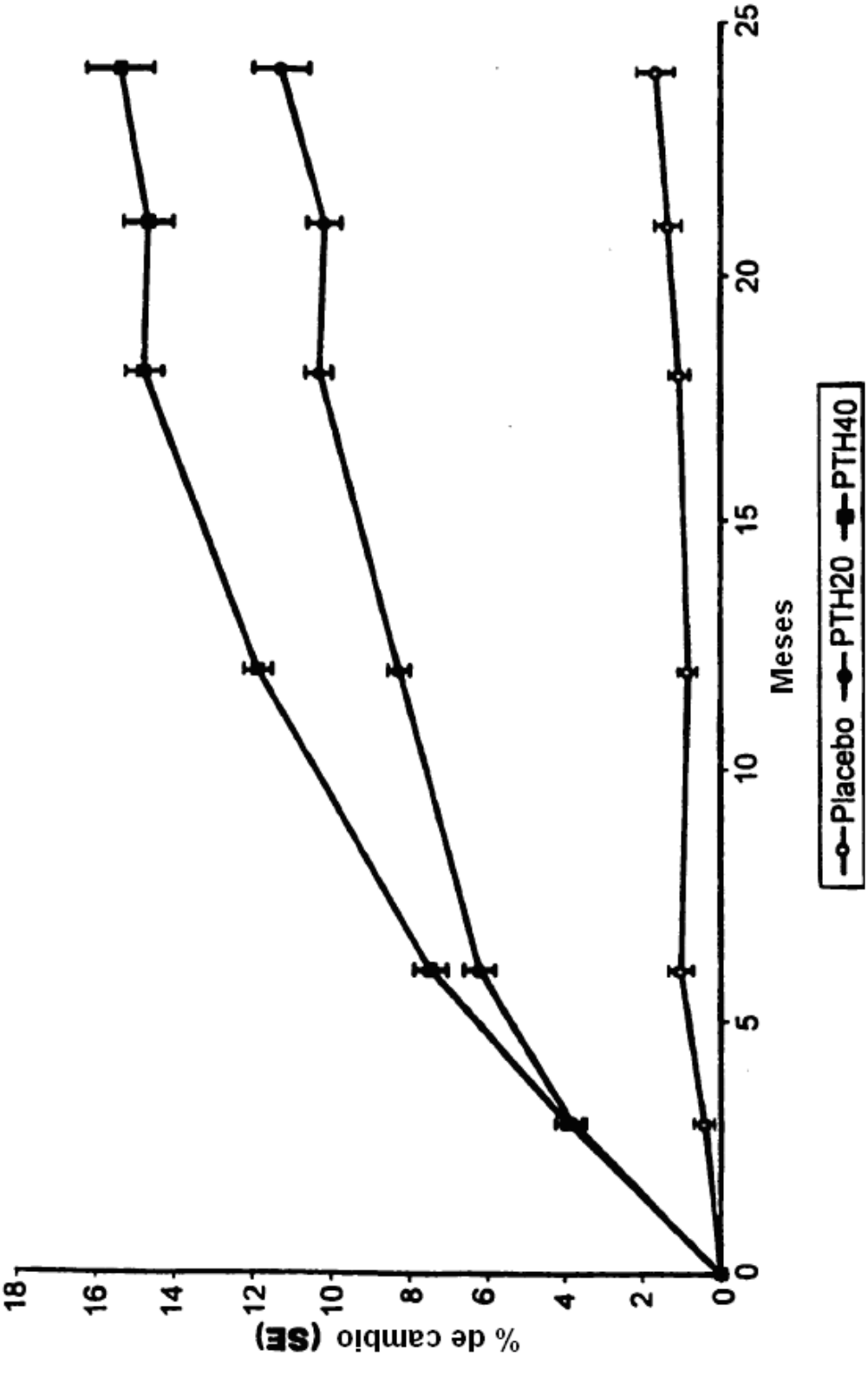
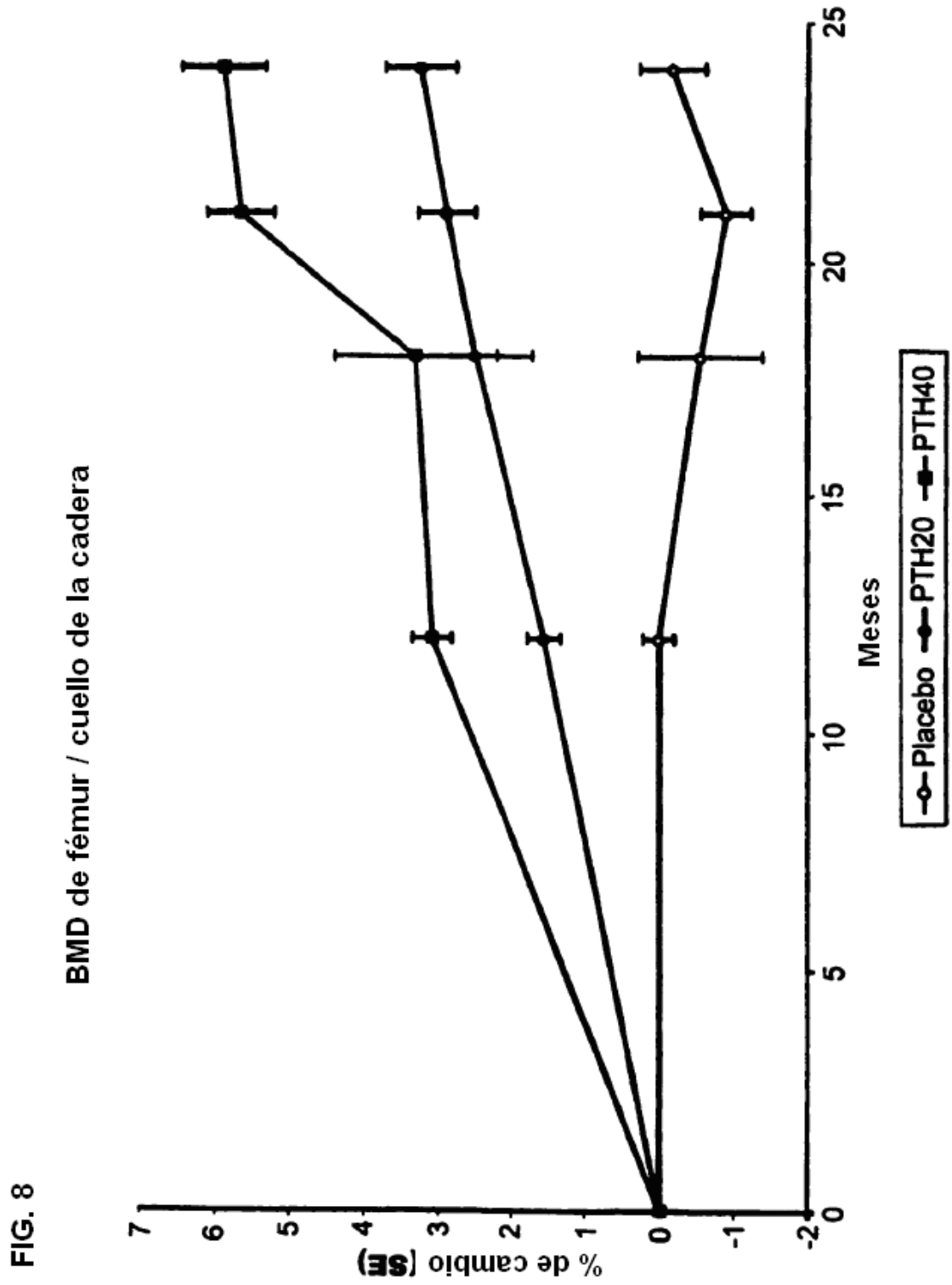

BMD de espina lumbar
% de cambio (SE)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
0
5
10
15
20
25
Meses
Placebo
PTH20
PTH40

FIG. 8


BMD de fémur / cuello de la cadera
% de cambio (SE)
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
-2
0
5
10
15
20
25
Meses
Placebo
PTH20
PTH40