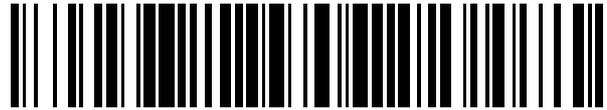


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 855**

51 Int. Cl.:

A61K 38/37 (2006.01)

A61P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2009 E 09777111 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2012 EP 2310043**

54 Título: **Factor VON WILLEBRAND o factor VIII y factor de VON WILLEBRAND para el tratamiento de coagulopatías inducidas por inhibidores de los trombocitos**

30 Prioridad:

10.07.2008 DE 102008032361

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.02.2013

73 Titular/es:

**CSL BEHRING GMBH (100.0%)
Emil-von-Behring-Strasse 76
35041 Marburg, DE**

72 Inventor/es:

**DICKNEITE, GERHARD;
PRAGST, INGO;
LESSA, HENRIQUE;
HAAS, THORSTEN y
ZEITLER, STEFAN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 395 855 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

Factor von Willebrand o factor VIII y factor de von Willebrand para el tratamiento de coagulopatías inducidas por inhibidores de los trombocitos.

- 5 La presente invención se refiere a un Factor von Willebrand para uso en el tratamiento y/o la prevención de un evento de sangrado asociado con una trombopatía inducida por sustancias inhibitoras de los trombocitos. La presente invención se refiere también a una composición que comprende vWF y una composición que comprende FVIII para uso simultáneo, separado o secuencial destinado a utilización en el tratamiento y/o la prevención de un evento de sangrado asociado con una trombopatía inducida por sustancias que inhiben los trombocitos que son inhibitoras del receptor de ADP o una combinación de un inhibidor de la ciclooxigenasa y un inhibidor de ADP.
- 10 Un desequilibrio de los componentes de la coagulación o el sistema fibrinolítico se manifestará clínicamente en trombosis o hemorragia, respectivamente. Ambas situaciones patológicas pueden constituir una amenaza para la vida. Después de un evento trombótico, v.g. durante un infarto agudo de miocardio, se intentará intervenir en el equilibrio actual de lisis y coagulación. El sistema fibrinolítico se verá favorecido v.g. por administración de estreptoquinasa (SK) o activadores del plasminógeno (t-PA, u-PA) para disolver el coágulo de sangre existente.
- 15 La activación de los trombocitos se inhibe o se reduce por inhibidores de los trombocitos. Con ello, los vasos obstruidos por un trombo se recanalizarán y se evitará la formación de un nuevo trombo. Los inhibidores de las funciones de los trombocitos pueden actuar en sitios diferentes. Los inhibidores de la ciclooxigenasa (v.g. ácido acetilsalicílico) previenen la formación de tromboxano A₂ (TXA₂) que es un activador potente de la función de los trombocitos. Los antagonistas de los receptores de ADP en la superficie de los trombocitos (v.g. Clopidogrel, Ticlopidina) previenen la fijación del ADP activador de los trombocitos a su receptor y previenen la activación de los trombocitos. El receptor de fibrinógeno en la superficie de los trombocitos, la Glicoproteína IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), induce la agregación de los trombocitos después de la fijación de su agonista fibrinógeno (o vWF). Los anticuerpos monoclonales contra GP IIb/IIIa (v.g. Abciximab) o antagonistas de receptores como Eptifibatida o Tirofiban previenen también la agregación de los trombocitos.
- 25 Por otra parte, es necesario cierto potencial para formar un trombo después de la lesión de un vaso a fin de prevenir la hemorragia en estos lugares. La terapia de una hemorragia que evoluciona de modo implica potencialmente amenazante para la vida durante la terapia con inhibidores de los trombocitos incluye la interrupción de esta terapia y la administración de mejoradores de la coagulación. Dichos mejoradores de la coagulación consisten, entre otros, en factores de coagulación parcialmente pre-activados tales como el producto comercializado FEIBA® (Baxter) o el
- 30 factor recombinante de la coagulación VIIa (NovoSeven®, Novo Nordisk). Fundamentalmente, estos mejoradores de la coagulación dan como resultado una reducción de los efectos terapéuticos de la inhibición de los trombocitos. Dickneite et al. (Dickneite G, Friesen H.-J., Kumpe G, Reers M, 1996 Platelets 7, 283-290, Dickneite G, Nicolay U, Friesen H.-J., Reers M, 1998 Thromb Haemost 80, 192-8) describen el uso de vWF y Haemate® (CSL Behring) como mejorador de la coagulación durante un evento de sangrado inducido por el inhibidor de trombina recombinante Hirudina.
- 35 Una medida cuantitativa de los efectos anti-coagulación y fibrinolíticos en la clínica son procedimientos de diagnóstico diferentes como la tromboelastografía, el ensayo de generación de trombina, el tiempo de tromboplastina parcial activado (aPTT) o el tiempo de protrombina (PT). Un método para evaluar la prevención de una hemorragia grave en situaciones experimentales es el sangrado de órganos después de una lesión traumática (Dickneite G, Doerr B, Kaspereit F, 2008 Anesth Analg 106, 1070-7).
- 40 De acuerdo con investigaciones mecanísticas concernientes a la aparición de hemostasis después de la lesión de un vaso, los trombocitos se fijarán fundamentalmente a las fibras de colágeno subendoteliales por la vía del factor von Willebrand (vWF). vWF es el único factor con capacidad para fijar eficientemente los trombocitos a velocidades de cizallamiento tanto bajas (v.g. en el área venosa) como a velocidades de cizallamiento altas (v.g. en la región arterial, coronaria o en la estenosis de vasos inducida por placa) por fijación al colágeno expuesto (Ruggeri ZM, Seminars in Hematology, 1994, 31, 229-239). La agregación subsiguiente de los trombocitos y una retracción y contracción subsiguiente de las plaquetas agregadas por la acción de la trombina induce un tapón hemostático durante la hemostasis secundaria (Hemker HC, y Poliwoda H, 1993, 1-18, Barthels M y Polidowa H, Thieme, Stuttgart, Alemania).
- 50 En la actualidad vWF es la mayor proteína plasmática conocida. La misma es una glicoproteína multímera con dos propiedades biológicas. En las lesiones locales de vasos, la misma media la adhesión de los trombocitos seguida por formación de trombo y actúa como un portador para el factor VIII procoagulante de la coagulación (Ruggeri ZM, 1993 Current Opinion in Cell Biology, 5, 898-906). vWF se encuentra en ciertas cantidades en una forma exenta de factor VIII en las células subendoteliales y se almacenará en una forma exenta de factor VIII en los gránulos α de los
- 55 trombocitos. Los trombocitos tienen dos receptores para vWF. En primer lugar, GP Ib en el complejo GP Ib-IX-V, y en segundo lugar GP IIb-IIIa (Ruggeri ZM, 1994 Seminars in Hematology, 31, 229-239). Por la vía de su primer receptor, vWF induce una adhesión de los trombocitos en el lado de la lesión del vaso, lo que va seguido por fijación de vWF y/o fibrinógeno al receptor GP IIb/IIIa y soporta la agregación subsiguiente de los trombocitos. De acuerdo con estos antecedentes, se discute en la bibliografía el uso de inhibidores para la fijación de vWF como principio para un fármaco anticoagulante (Alevriadou BR, Moake JL, Turner NA, Ruggeri ZM, Folie BJ, Phillips MD, Schreiber
- 60

AB, Hrinda ME, McIntire IV, 1993, Blood 81, 1263-1276M; Grainick HR, Williams S, McKeown L, Kramer W, Krutzsch H, Gorecki M, Pinet A Garfinkel LI, 1992 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 7880-7884).

5 Existe todavía una gran necesidad médica de reducir o prevenir los efectos adversos de una hemorragia después de la administración de inhibidores de los trombocitos. Por consiguiente, el problema técnico que subyace en la presente invención es la provisión de medios y métodos para tratar con éxito un evento de sangrado causado por la administración de sustancias inhibitoras de los trombocitos que son inhibidores de ADP o combinaciones de inhibidores de ADP con inhibidores de la ciclooxigenasa.

La solución para este problema técnico se consigue proporcionando las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones.

10 Sorprendentemente, se ha encontrado que los eventos adversos del sangrado o la hemorragia durante o después de la administración de una sustancia inhibitora de los trombocitos se reducían después de la administración de factor von Willebrand (vWF). Por tanto, un suplemento adecuado con una composición farmacéutica que contenía vWF antagonizará los eventos adversos de aumento del sangrado subsiguientes a la terapia con antitrombocitos. Por tanto, se reducen o evitan los efectos adversos resultantes de los efectos de los anticoagulantes o fibrinolíticos.

15 Para reducir el riesgo de sangrado en los pacientes, el vWF puede administrarse sea profilácticamente o después del tratamiento anti-trombocítico.

De acuerdo con ello, la presente invención se refiere a un factor von Willebrand (vWF) para tratamiento y/o prevención de un evento de sangrado asociado con una coagulopatía, especialmente una trombopatía, inducida por sustancias inhibitoras de los trombocitos, que son inhibidores o combinaciones de inhibidores de ADP con inhibidores de la ciclooxigenasa.

20

El término "trombopatía" de acuerdo con la presente invención se refiere a una disfunción en los trombocitos mientras que el número de trombocitos es normal o está alterado marginalmente. Esto puede verse como una característica diferenciadora de la trombocitopenia, conocida también como trombopenia, en la cual están presentes relativamente pocas plaquetas en la sangre. En lo que respecta a la trombopatía, existen cierto número de medicamentos restrictivos de la o las funciones de los trombocitos, v.g. ácido acetilsalicílico, diclofenaco, heparina, penicilina y otros. La trombopatía se conoce también como trombocitopatía, término que se utiliza asimismo en esta memoria.

25

En relación con la coagulación plasmática, los trombocitos tienen dos características o funciones importantes: la adhesión al subendotelio por una parte y la agregación entre ellos por otra parte. De acuerdo con la presente invención, el término "sustancias inhibitoras de los trombocitos" se refiere a sustancias que inhiben la agregación de los trombocitos. En general, estas sustancias se conocen también como inhibidores de trombocitos o fármacos antiplaquetarios o inhibidores de la agregación de las plaquetas, y se administran a los pacientes para evitar el desarrollo de trombos, especialmente en las arterias, es decir se administran para prevenir v.g. un derrame cerebral, un infarto de miocardio u otra enfermedad afín.

30

Por tanto, de acuerdo con la invención, el término "trombopatía, inducida por sustancias inhibitoras de los trombocitos" se refiere a una disfunción en la agregación de los trombocitos, en tanto que el número de trombocitos es normal o está alterado marginalmente. En contraste, la trombocitopenia se refiere a una disminución del número de trombocitos. La trombopatía es inducida por una, dos o más sustancias que inhiben la agregación de los trombocitos. Estas sustancias inhibirán la ciclooxigenasa y/o el receptor de ADP.

35

Preferiblemente, el término "trombopatía", como se utiliza en esta memoria, no incluye enfermedades hereditarias como una trombostenia causada por una deficiencia de las glicoproteínas de la membrana plaquetaria (GP) IIb/IIIa (Trombostenia de Glanzmann) o síndrome de Bernard-Soulier, causado por una deficiencia de GP Ib. La trombostenia es una anomalía hereditaria de las plaquetas de la sangre caracterizada especialmente por retracción deficiente del coágulo y a menudo por un tiempo de sangrado prolongado.

40

En una realización preferida del uso del factor von Willebrand en el método de la invención, el vWF se utiliza o se administra en combinación con factor VIII como una combinación factor VIII/factor von Willebrand (FVIII/vWF).

45

Preferiblemente, el vWF o la combinación FVIII/vWF se formulan en una composición farmacéutica, que comprende opcionalmente un portador, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

El término "composición farmacéutica" como se utiliza en esta memoria se refiere a una composición para administración a un paciente, preferiblemente un paciente humano. La composición farmacéutica contempla alternativamente mixturas de vWF o una combinación de vWF y FVIII. En los casos en que la composición comprende más de un compuesto, se entiende que ninguno de estos compuestos tiene un efecto inhibitor sobre los otros compuestos contenidos también en la composición.

50

Se prefiere que dicha composición farmacéutica comprenda un portador, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de portadores, excipientes y/o diluyentes farmacéuticos adecuados son bien conocidos en la técnica e incluyen soluciones salinas tamponadas con fosfato, agua, emulsiones, tales como emulsiones

55

aceite/agua, diversos tipos de agentes humectantes, soluciones estériles, etc. Las composiciones que comprenden tales portadores pueden formularse por métodos convencionales bien conocidos. Estas composiciones farmacéuticas pueden administrarse al individuo a una dosis adecuada. La administración de las composiciones adecuadas puede efectuarse de diferentes maneras, v.g., por administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular. Se prefiere particularmente que dicha administración se lleve a cabo por inyección y/o suministro, v.g., a un punto en el torrente sanguíneo. El régimen de dosificación será determinado por el médico encargado del tratamiento y por factores clínicos. Como es bien conocido en las técnicas médicas, las dosificaciones para cualquier paciente dependen de muchos factores, que incluyen el volumen del paciente, la superficie corporal, la edad, el compuesto particular a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, el estado general de salud, y otros fármacos que se administren concurrentemente.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede administrarse a un paciente en un intervalo de dosificación de 10 a 1000 unidades de vWF por kg de peso corporal. Alternativamente, si se utiliza la combinación FVIII/vWF, el intervalo de dosificación administrado está comprendido entre 5 y 400 unidades de FVIII por kg de peso corporal, y entre 10 y 1000 unidades de vWF por kg de peso corporal.

Un intervalo de dosificación preferido será entre 30 y 500 unidades de vWF por kg de peso corporal o, alternativamente, para la combinación FVIII/vWF se administrará una dosis de 20 a 200 unidades de FVIII y 30 a 500 unidades de vWF por kg de peso corporal.

Como composición farmacéutica que comprende vWF o vWF y FVIII, respectivamente, utilizada de acuerdo con la invención, puede utilizarse cualquier producto comercializado que comprenda vWF o vWF y FVIII, v.g., Haemate® P y Humate® P (CSL Behring) que contienen FVIII además de vWF, u otros productos plasmáticos de vWF o productos vWF o vWF/FVIII fabricados recombinantemente.

El proceso puede monitorizarse por evaluación periódica. Las composiciones de la invención pueden administrarse local o sistémicamente. Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones, y emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilén-glicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Portadores acuosos incluyen agua, soluciones, emulsiones o suspensiones alcohólico/acuosas, con inclusión de solución salina y medios tamponados. Vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, solución de Ringer lactada, o aceites fijos. Vehículos intravenosos incluyen restablecedores de fluidos y nutrientes, restablecedores de electrolitos (tales como los basados en dextrosa de Ringer), y análogos. Pueden estar presentes también conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes, y análogos.

En otra realización preferida del uso del factor von Willebrand o el método de la invención, el vWF se utiliza o se administra para actuar como antídoto.

El término "antídoto", como se utiliza de acuerdo con la presente invención se refiere a una sustancia que mejora la función reducida de los trombocitos. Por tanto, un antídoto de acuerdo con la invención no es cuestión de una función clásica agonista/antagonista, sino que mejora la función de los trombocitos que se ha deteriorado por sustancias inhibitoras de los trombocitos.

En una realización preferida de la invención, el vWF o FVIII/vWF se utilizan o se administran en forma de un concentrado.

En otra realización preferida, el vWF o el FVIII/vWF se ha aislado de plasma sanguíneo humano, o se administra alternativamente como una proteína recombinante.

En el uso del factor von Willebrand en el método de la invención, la sustancia inhibidora de los trombocitos se selecciona del grupo constituido por un inhibidor de la ciclooxigenasa, un inhibidor del receptor de ADP o una combinación de los mismos. En una realización más preferida, el inhibidor de la ciclooxigenasa es ácido acetilsalicílico, y el inhibidor del receptor de ADP es un derivado de tienopiridina, preferiblemente clopidogrel o ticlopidina. En la realización más preferida, la sustancia inhibidora de los trombocitos es ácido acetilsalicílico, clopidogrel o la combinación ácido acetilsalicílico y clopidogrel.

La presente invención se refiere adicionalmente a una composición que comprende vWF y una composición que comprende FVIII para uso simultáneo, separado o secuencial destinada a utilización en el tratamiento y/o la prevención de un evento de sangrado causado por la administración de sustancias inhibitoras de los trombocitos. De acuerdo con esta realización, el vWF y el FVIII se utilizan por tanto o se administran en dosis estándar separadas.

Las figuras muestran:

La Figura 1 muestra los diagramas de caja de pérdida total de sangre (significación contra el grupo 1 (control de Plavix®)) en el modelo de clopidogrel de la rata.

La Figura 2 muestra el diagrama Kaplan-Meier de pérdida total de sangre en el modelo de clopidogrel de la rata.

La Figura 3 muestra el efecto de Haemate® P 200 U/kg y concentrado reciente de plaquetas de rata ($1,6 \times 10^9$ PLT/animal) sobre la generación de trombina/trombograma en plasma rico en plaquetas.

5 La Figura 4 muestra los diagramas de caja de pérdida de sangre en cerdos después de la administración de Clopidogrel/Aspirina®.

La Figura 5 muestra el diagrama Kaplan-Meier de pérdida de sangre en los cerdos después de la administración de Clopidogrel/Aspirina®.

10 La Figura 6 muestra el efecto de la administración de Clopidogrel/Aspirina® sobre el recuento de plaquetas en los cerdos.

Sin limitación de la presente invención, los ejemplos ilustran la invención.

EJEMPLO 1:

Influencia de las plaquetas de rata transfundidas combinadas con un concentrado de vWF y FVIII (Haemate® P) sobre el sangrado en el modelo de clopidogrel de la rata

15 Se investigó si una dosis de 120 y 200 U/kg de Haemate® P (intravenosa) en combinación con plaquetas de rata recién preparadas podría reducir el sangrado en ratas tratadas con clopidogrel. Dos grupos de ratas tratadas con clopidogrel recibieron Haemate® P (120 y 200 U/kg) sin plaquetas. El estudio se diseñó como una prueba abierta, de 7 ramas, con 115 ratas (+60 donantes de plaquetas). El régimen de dosificación se resume en la Tabla 1.

Tabla 1: Tratamiento de los grupos

No.	Tratamiento	Dosis / Volumen / Protocolo / Vía	N (f)
1	Solución salina isotónica	- / 1,7 - 2,8 ml/kg peso corp. / inyección simple (t= d 2) / i.v.	25
	Solución salina isotónica	- / 1 ml/animal / inyección simple (t= d 2) / i.v.	
2	Solución salina isotónica	- / 1,67 mUkg peso corp. / inyección simple (t= d 2) / i.v.	25
	Plaquetas de rata recientes	$2,8-3 \times 10^9$ / 1ml/animal / inyección simple (t= d 2) / i.v.	
3	Haemate® P	120 U/kg / 1,67 mUkg peso corp. / inyección simple (t= d 2) / i.v.	10
	Plaquetas de rata recientes	3×10^9 / 1ml/animal / inyección simple (t= d 2) / i.v.	
4	Haemate® P	200 U/kg / 2,8 mUkg peso corp. / inyección simple (t= d 2) / i.v.	15
	Plaquetas de rata recientes	$2,8 \times 10^9$ / 1ml/animal / inyección simple (t= d 2) / i.v.	
5	Haemate® P	120 U/kg / 1,67 ml/kg peso corp. / inyección simple (t= d 2) / i.v.	10
	Solución salina isotónica	- / 1 ml/animal / inyección simple (t= d 2) / i.v.	
6	Haemate® P	200 U/kg / 2,8 mUkg peso corp. / inyección simple (t= d 2) / i.v.	25
	Solución salina isotónica	- / 1 ml/animal / inyección simple (t= d 2) / i.v.	
7	Control negativo para TGA / sin administración de solución salina isotónica	2,8 ml/kg peso corp. / i.v.	5
	Solución salina isotónica	1 ml/animal / i.v.	

Plaquetas de rata

La sangre para preparación de concentrado de plaquetas se obtuvo cuidadosamente por punción en la vena cava inferior de las ratas donantes bajo anestesia profunda. Se mezclaron 3,2 ml de sangre con 0,8 ml de citrato trisódico.

- 5 Las muestras de sangre se agruparon y se centrifugaron a 900 RPM durante 30 minutos. El plasma rico en plaquetas se recogió en un tubo nuevo y se centrifugó a 1800-2000 RPM durante 15-17 minutos. El sedimento se resuspendió suavemente en Tyrode HEPES + 0,3% BSA. Dependiendo de la producción de plaquetas, los animales recibieron $1,6-3 \times 10^9$ plaquetas lavadas por vía intravenosa en la vena de la cola.

Modelo animal

- 10 Se indujo la inhibición plaquetaria/hemorragia por 2,5 mg/kg de clopidogrel (Plavix®) el día 0 y el día 1. Las tabletas se disolvieron en solución salina isotónica y se administraron por sonda esofágica. El día 2, se transfundieron en la vena de la cola plaquetas de rata recién preparadas mediante un bolus. Se administró Haemate® P inmediatamente antes de la transfusión de las plaquetas. 15 minutos después de la administración de las plaquetas, se determinó la pérdida de sangre. El volumen de pérdida total de sangre se calculó por medida de la HGB presente en la solución salina utilizada para inmersión de la punta de la cola. El corte en la punta de la cola se realizó con un bisturí bajo anestesia profunda, eliminando aproximadamente 3 mm de la punta de la cola. Inmediatamente después de la lesión, la punta de la cola se sumergió en solución salina, y se mantuvo a la temperatura fisiológica del cuerpo de las ratas, utilizando un baño de agua. El periodo de observación para monitorización del sangrado fue 30 minutos.

Sangrado

- 20 Se determinó la pérdida de sangre como la pérdida total de sangre ($t = 0-30$ min) y se analizó por un test exacto de Wilcoxon de dos lados, diagrama de caja y diagrama Kaplan-Meier. El tratamiento oral con clopidogrel dio como resultado una pérdida total de sangre incrementada (figuras 1 y 2, Tabla 2). La Figura 1 ilustra que la pérdida total de sangre se reducía significativamente en el grupo que recibió transfusión de plaquetas (estadísticas, véase la Tabla 3). La pérdida total de sangre no pudo reducirse por combinación de transfusión de plaquetas y tratamiento con Haemate® P comparado con plaquetas solas. Sin embargo, la monoterapia con Haemate® P dio como resultado una disminución importante en la pérdida de sangre en el grupo que recibió una dosis de 200 U/kg.

No se observó influencia alguna sobre la pérdida de sangre con 120 U/kg.

Tabla 2: Pérdida total de sangre (µl)

	Grupo 0	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
	Solución salina isotónica	Plavix / Solución salina isotónica	Plavix / Solución salina isotónica + plaquetas de rata recientes	Plavix / Haemate-P® 120 U/kg + plaquetas	Plavix / Haemate-P® 120 U/kg	Plavix / Haemate-P® 200 U/kg	Plavix / Haemate-P® 200 U/kg + plaquetas
N	18	20	20	10	10	19	10
Media	103,9	1404,2	974,4	914,0	1403,5	1025,6	865,9
SD	125,5	624,3	626,9	676,6	573,3	553,3	483,0
Mínimo	11	265	189	42	372	81	165
Mediana	65	1466	960	830	1532	940	852
Máximo	507	2345	2716	2259	2193	2002	1613

Tabla 3: Estadísticas de la pérdida total de sangre (test exacto de Wilcoxon)

Valor p	Grupo 0	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
	Solución salina isotónica	Plavix / Solución salina isotónica	Plavix / Solución salina isotónica + plaquetas de rata recientes	Plavix / Haemate-P® 120 U/kg + plaquetas	Plavix / Haemate-P® 120 U/kg	Plavix / Haemate-P® 200 U/kg	Plavix / Haemate-P® 200 U/kg + plaquetas
Grupo 0	-	<0,0001	<0,0001	0,0003	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Grupo 1	<0,0001	-	0,0231	0,0529	0,9649	0,0461	0,0278
Grupo 2	<0,0001	0,0231	-	0,6284	0,0585	0,6940	0,7249
Grupo 3	0,0003	0,0529	0,6284	-	0,0821	0,4629	0,9397
Grupo 4	<0,0001	0,9649	0,0585	0,0821	-	0,1083	0,0494
Grupo 5	<0,0001	0,0461	0,6940	0,4629	0,1083	-	0,4629
Grupo 6	<0,0001	0,0278	0,7249	0,9397	0,0494	0,4529	-

Generación de trombina

5 El tratamiento con clopidogrel dio como resultado un comienzo retardado de la formación de trombina y una disminución en la concentración pico de trombina (figura 3). Cuando se administró Haemate® P a ratas tratadas con clopidogrel, se observó un comienzo más temprano de la formación de trombina, pero sin aumento alguno de la trombina pico. La transfusión de plaquetas dio como resultado un aumento en el pico de trombina. Se observaron efectos adicionales o incluso sinérgicos cuando se combinaron plaquetas y Haemate® P: el pico se incrementada y el comienzo de la formación de trombina era más rápido.

10 Ejemplo 2:

Evolución temporal del sangrado en los cerdos después de la administración de Clopidogrel y Aspirina y después de la infusión adicional de un concentrado de vWF y FVIII (Haemate® P).

15 Se administraron a cerdos macho castrados durante un periodo de tres días 75 mg de clopidogrel (Plavix®) diariamente por vía oral mediante sonda esofágica. El tercer día se administró por vía intravenosa ácido acetilsalicílico (Aspirina®) en una dosis de 200 mg/kg. 15 minutos más tarde se administró un bolus intravenoso de un concentrado que contenía FVIII/vWF (60 unidades/kg de FVIII y aproximadamente 150 unidades/kg de vWF) (grupo de tratamiento, grupo 3, n = 6). Los animales de control recibieron un volumen apropiado de solución salina en lugar del concentrado de vWF y FVIII (grupo de placebo, grupo 2, n = 4). 5 animales no recibieron ni los inhibidores de trombocitos ni tratamiento con Haemate® P (grupo 1, control negativo). Durante el experimento, se 20 determinaron los valores PT y aPTT en plasma, la tromboelastografía y la agregación de los trombocitos se realizaron en sangre entera. Para la generación de trombina, se utilizó un test en plasma rico en plaquetas.

25 La administración combinada de clopidogrel y Aspirina® conduce a una trombocitopatía con agregación deteriorada de las plaquetas y generación de trombina. Después de lesión en el bazo, se produjo una hemorragia sustancial por la trombocitopatía. En contraste, la coagulación plasmática (PT, aPTT) no se vio influenciada por el tratamiento con clopidogrel/ácido acetilsalicílico. La Figura 6 muestra que no se observó disminución significativa del recuento de plaquetas después de la administración de Clopidogrel/Aspirina®; por tanto, no se ha inducido trombocitopenia alguna.

30 En las Tablas 4 y 5, así como las Figuras 4 y 5, puede verse que en esta investigación un tratamiento con Haemate® P reducía significativamente la pérdida de sangre. Así pues, se ha demostrado que un concentrado que contenía vWF y factor VIII de la coagulación era capaz de contrarrestar en parte la trombocitopatía inducida por el inhibidor de los trombocitos.

Tabla 4: Pérdida de sangre (ml) después de lesión en el bazo

	Grupo 1 Control negativo	Grupo 2 Grupo de placebo (Plavix/Aspirina + sol. salina)	Grupo 3 Grupo de Tratamiento Plavix/Aspirina + Haemate® P
N	5	4	6
Media	83,2	811,3	387,7
SD	71,0	148,5	233,9
Mínimo	19	616	50
Mediana	40	827,5	440
M	178	974	670

Tabla 5: Estadísticas de la pérdida de sangre (test de Wilcoxon)

Comparación	Valor p
Control negativo (Grupo 1) - Grupo de placebo (Grupo 2)	0,0143
Control negativo (Grupo 1) - Grupo de tratamiento (Grupo 3)	0,0285
Grupo de placebo(Grupo 2) - Grupo de tratamiento (Grupo 3)	0,0190

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición constituida por factor von Willebrand (vWF) o FVIII/vWF para uso en el tratamiento y/o la prevención de un evento de sangrado asociado con una trombopatía inducida por sustancias inhibidoras de los trombocitos, en donde la sustancia inhibidora de los trombocitos es un inhibidor del receptor de ADP o una combinación de un inhibidor de la ciclooxygenasa y un inhibidor de ADP.
- 10 2. Uso de una composición constituida por factor von Willebrand (vWF) o FVIII/vWF para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un trastorno relacionado con un evento de sangrado asociado con una trombopatía inducida por sustancias inhibidoras de los trombocitos, que comprende administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de factor von Willebrand (vWF) a un paciente que se encuentra en necesidad de ello, en donde la sustancia inhibidora de los trombocitos es un inhibidor del receptor de ADP o una combinación de un inhibidor de la ciclooxygenasa y un inhibidor de ADP.
- 15 3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el vWF o el FVIII/vWF se administra para actuar como antídoto.
- 15 4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 3, o el uso de acuerdo con la reivindicación 2 ó 3, en donde el vWF o el FVIII/vWF se utilizan o se administran como un concentrado.
- 20 5. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 4 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el vWF o el FVIII/vWF ha sido aislado de plasma de sangre humana.
- 20 6. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 4 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el vWF o el FVIII/vWF se administra como una proteína recombinante.
- 25 7. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 6 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde el vWF o el FVIII/vWF se administra al paciente a una dosis de 10 a 1000 unidades de vWF por kg de peso corporal o 5 a 400 unidades de FVIII y 10 a 1000 unidades de vWF por kg de peso corporal.
- 30 8. La composición para uso o el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el vWF o el FVIII/ vWF se administra al paciente a una dosis de 30 a 500 unidades de vWF por kg de peso corporal o 20 a 200 unidades de FVIII y 30 a 500 unidades de vWF por kg de peso corporal.
- 30 9. La composición para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 8 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde el inhibidor del receptor de ADP es un derivado de tienopiridina, preferiblemente clopidogrel o ticlopidina.
- 35 10. Una composición constituida por vWF y una composición constituida por FVIII para uso simultáneo, separado o secuencial para uso en el tratamiento y/o la prevención de un evento de sangrado asociado con una trombopatía inducida por sustancias inhibidoras de los trombocitos, en donde la sustancia inhibidora de los trombocitos es un inhibidor del receptor de ADP o una combinación de un inhibidor de la ciclooxygenasa y un inhibidor de ADP.

Figura 1

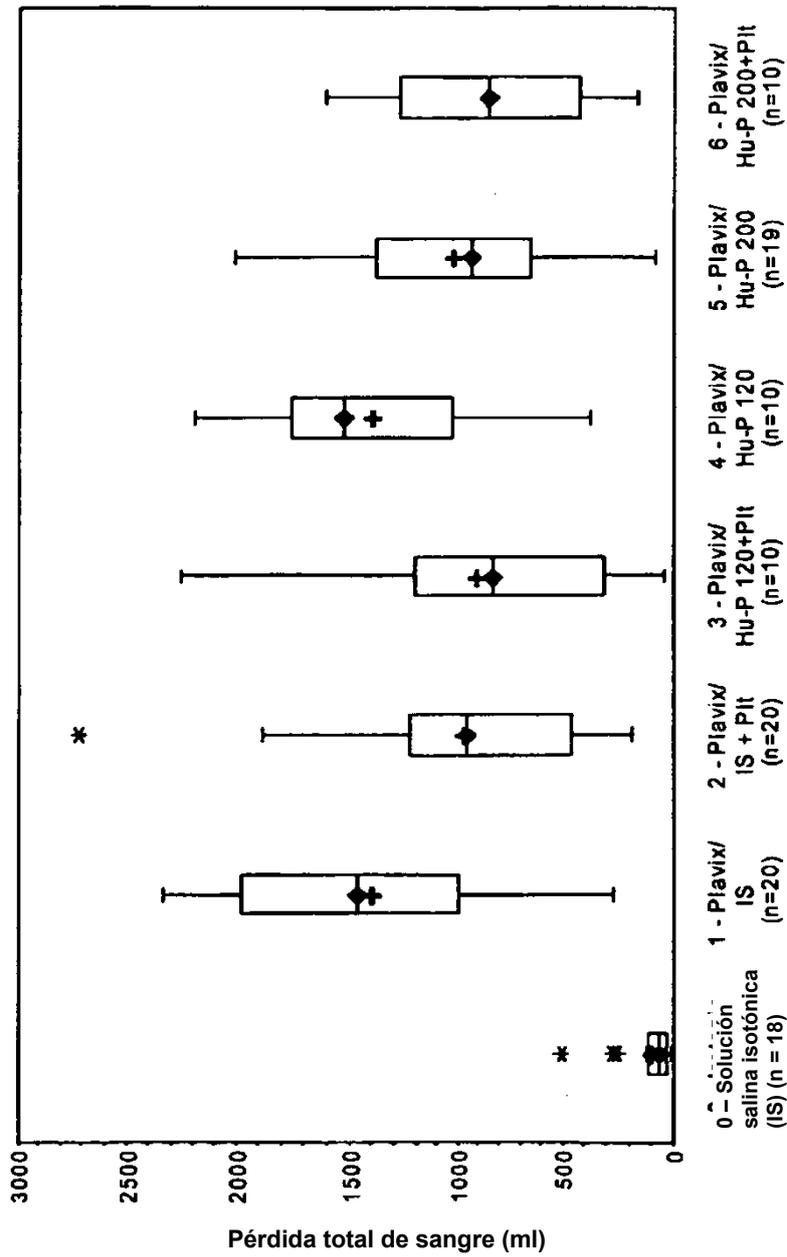


Figura 2

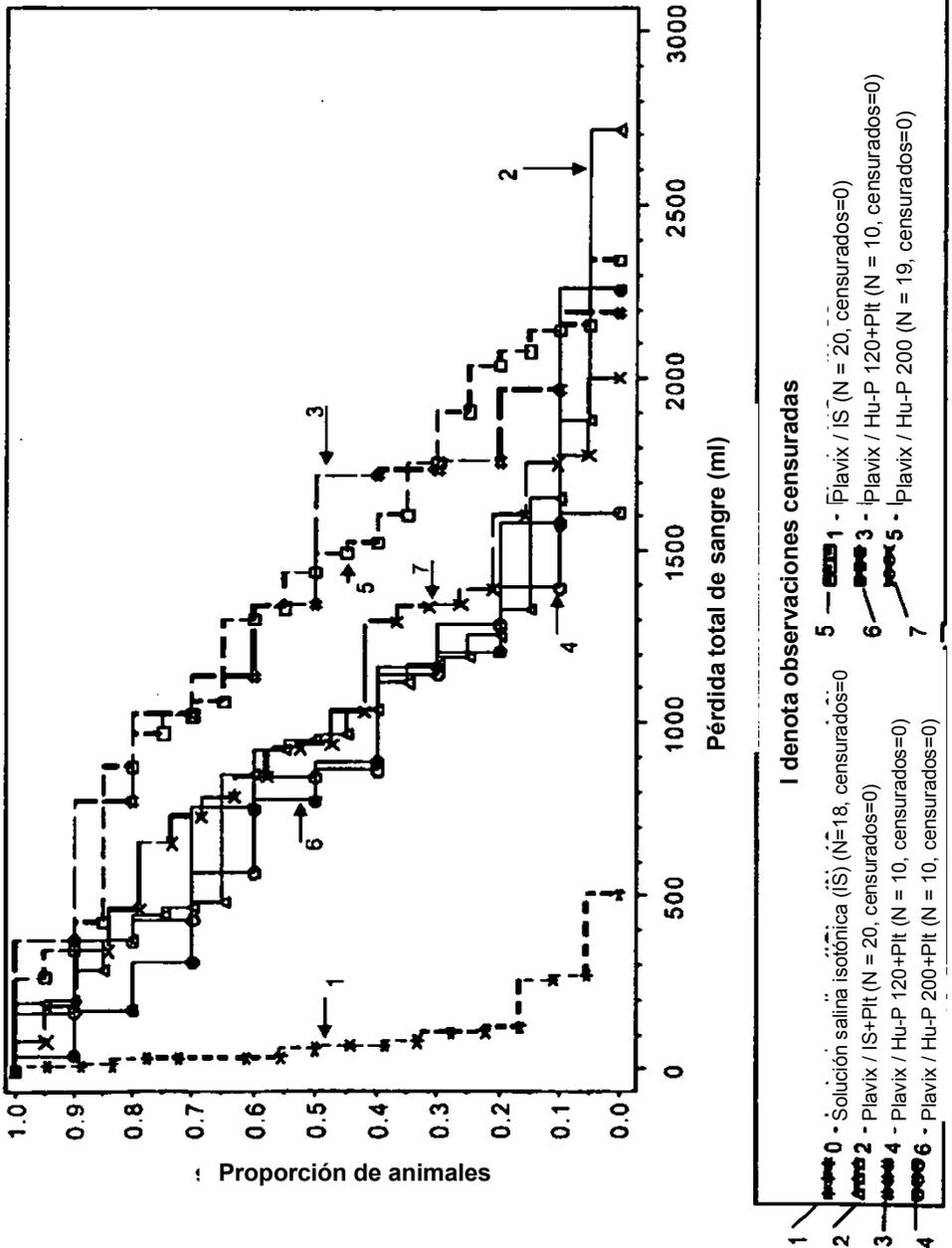


Figura 3

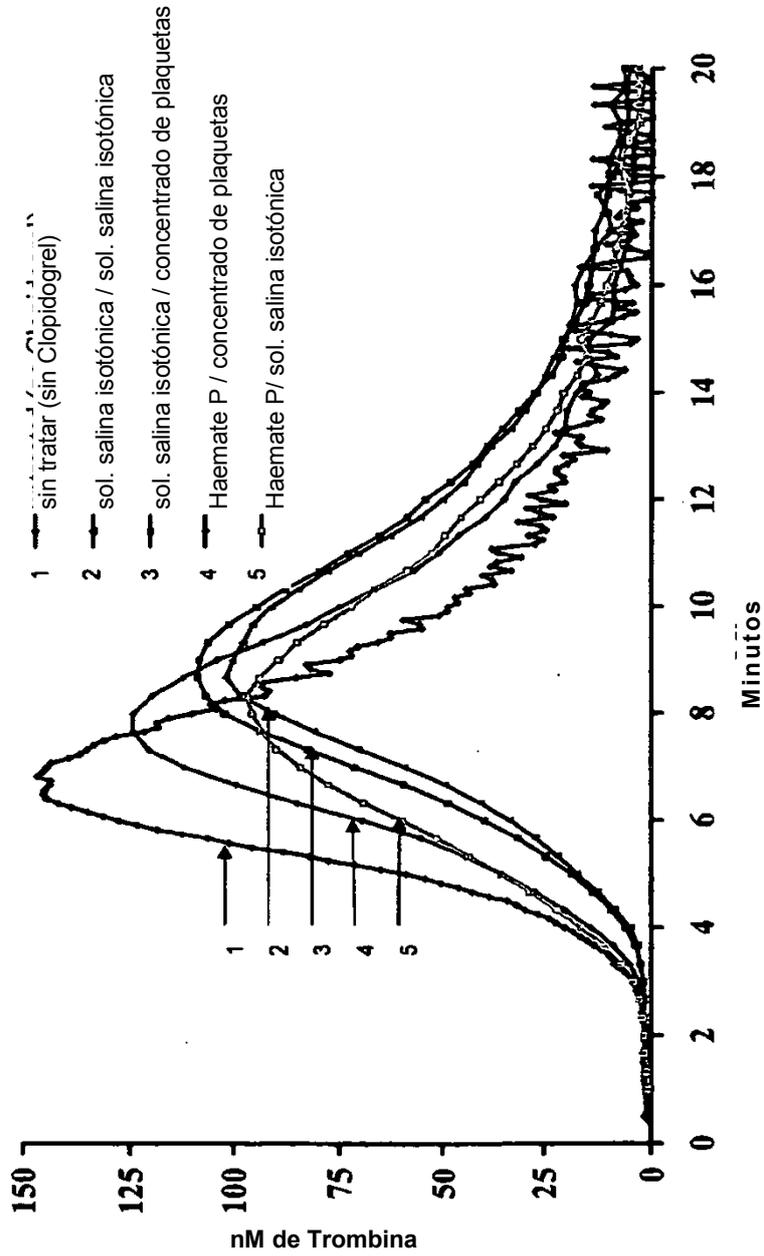


Figura 4

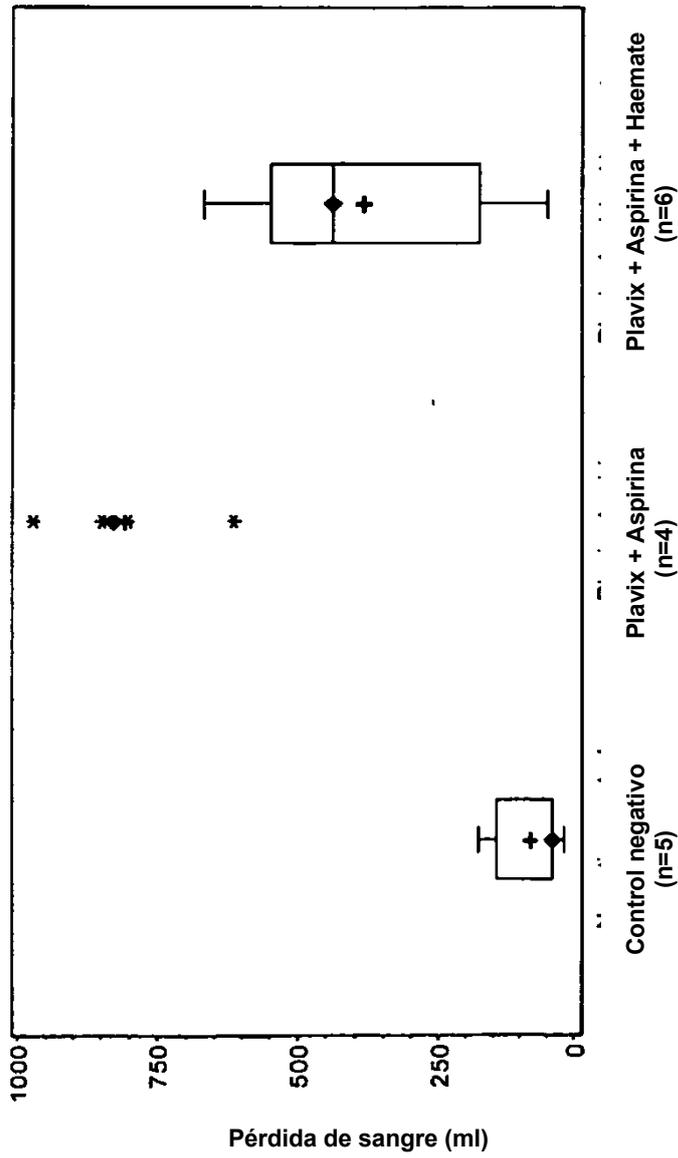


Figura 5

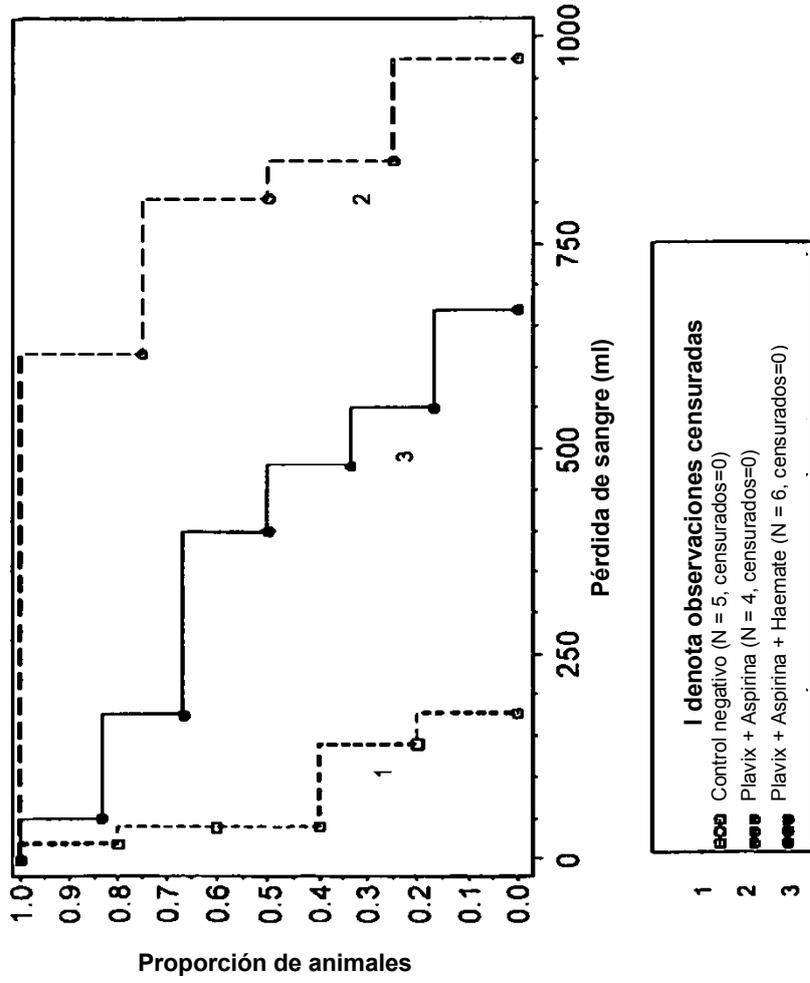


Figura 6

