

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 944**

51 Int. Cl.:

A61K 31/57 (2006.01)

A61K 31/635 (2006.01)

A61P 9/02 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.12.2005 E 05814628 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 1863492**

54 Título: **Uso de acetato de megestrol para la mejora de la función cardiaca y el tratamiento de insuficiencia coronaria**

30 Prioridad:

01.12.2004 EP 04028474

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

25.09.2013

73 Titular/es:

**PAR PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
ONE RAM RIDGE ROAD
SPRING VALLEY, NY 10977, US**

72 Inventor/es:

ANKER, STEFAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 423 944 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

Uso de acetato de megestrol para la mejora de la función cardiaca y el tratamiento de insuficiencia coronaria.

La presente invención se refiere a las reivindicaciones 1 a 19. Se describe el tratamiento mejorado de pacientes que han sufrido de infarto de miocardio y/o de pacientes con insuficiencia cardiaca usando acetato de megestrol (Megace®; MA), en particular usando suspensión para vía oral de acetato de megestrol (Megace®), más precisamente usando la formulación microcristalina avanzada de suspensión para vía oral de acetato de megestrol, a saber Megace® ES.

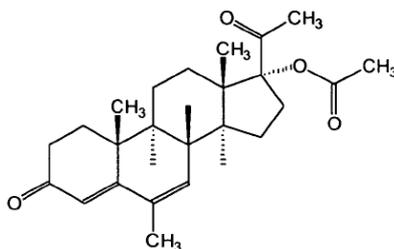
Antecedentes de la invención

La enfermedad cardiovascular es un problema sanitario muy importante en la sociedad moderna. La enfermedad de la arteria coronaria conduce frecuentemente a infarto de miocardio y a insuficiencia cardiaca. En los Estados Unidos la insuficiencia cardiaca crónica es la causa más frecuente de hospitalización en personas de más de 65 años.

La insuficiencia cardiaca crónica (CHI) es un síndrome complejo e influye en muchos sistemas del cuerpo. La razón más común de CHI en personas mayores es la enfermedad coronaria [Ho KKL, Anderson KM, Kannel WB, y col. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham heart study subjects. *Circulation* 1993; 88: 107-115]. En caso de CHI, tiene lugar una serie de modificaciones patofisiológicas de tipo hemodinámico, metabólico o funcional [Anker SD, Coats AJS. Metabolic, functional and haemodynamic staging for CHF. *Lancet* 1996; 348: 1530-1531].

La prevalencia de CHI en la población llega a aproximadamente el 0,3 a 2 % del total [Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, y col. The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J* 1997; 18:208-225]. En todo el mundo, el número se estima por tanto que es de 15 millones de pacientes. La prevalencia de CHI aumenta con la edad y alcanza a más del 10 % de personas mayores de 80 años [Kannel WB, Belanger AJ. Epidemiology of chronic heart failure. *Am Heart J* 1991; 121: 951-957]. Son factores de predisposición de CHI la hipertensión, diabetes mellitus, fumar, adiposidad e hiperlipidemia.

El acetato de megestrol (MA, Megace®) es un derivado producido de forma sintética de la hormona esteroide de origen natural progesterona. Megace® es una sustancia cristalina, blanca que presenta el nombre químico 17- α -acetoxi-6-metilpregna-4,6-dieno-3,20-diona (C₂₄H₃₂O₄) y un peso molecular de 384,5. El acetato de megestrol presenta la fórmula siguiente:



Megace® es una solución activa por vía oral y es excretada principalmente a través de los riñones. La biodisponibilidad no se ha dilucidado por completo. El acetato de megestrol es un estimulante del apetito que actúa por un mecanismo aún desconocido. Inicialmente, Megace® se usó para la inhibición de tumores de mama dependientes de la hormona post-menopáusica malinga [Gregory EJ, Cohen SC. Megestrol acetate therapy for advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1985; 3:155-160. Benghiat A, Cassidy SA. Megestrol acetate in the treatment of advanced post-menopausal breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 1986 12: 43-45, Goss PE. Pre-clinical and clinical review of vorozole, a new third generation aromatase inhibitor. *Report. Breast Cancer Res Tr* 1998; 49: S59-S65] y de la próstata [Keller J, White JM. A phase III randomised comparative trial of megestrol acetate v. diethylstilbestrol in stage D2 prostatic cancer. Preliminary results. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1986, 5:421. Bonomi P, Pessis D, Bunting N, y col. Megestrol acetate used as primary hormonal therapy in stage D prostatic cancer. *Semin Oncol* 1985; 12 (Supl 1): 36-39]. Durante el uso se descubrió un aumento de peso y una estimulación del apetito como efectos secundarios. Inicialmente se usó una dosis de 30 mg/d [Stoll BA. Progestin therapy of breast cancer: comparison of agents. *Br Med J* 1967; 3: 338-341]. En el 10 % de los pacientes se observaba un aumento de peso de al menos 5 % después de seis semanas en caso de una dosis de 60-180 mg/d [Alexieva-Figusch J, Van Glise HA. Progestin therapy in advanced breast cancer: Megestrol acetate -An evaluation of 160 treated cases. *Cancer* 1980; 46: 2369-2372]. Estudios posteriores confirmaron el efecto estimulante del apetito [Tchekmedyan NS, Tait N, Moody M, Aisner J. High dose megestrol acetate: a possible treatment for cachexia. *JAMA* 1987; 257: 1195-1198]. En caso de

una dosis convencional posterior de 160 mg de Megace®/d en aproximadamente un tercio de los pacientes se encontraba un aumento del peso [Keller J, White JM. A phase III randomised comparative trial of megestrol acetate v. diethylstilbestrol in stage D2 prostatic cancer.

5 Preliminary results. Proc Am Soc Clin Oncol 1986; 5:421. Bonomi P, Pessis D, Bunting N, y col. Megestrol acetate used as primary hormonal therapy in stage D prostatic cancer. Semin Oncol 1985; 12 (Supl 1): 36-39, Tchekmedyan NS, Tait N, Moody M, y col. Appetite Stimulation with megestrol acetate in cachectic cancer patients. Sem Oncol 1986; (Supl 4): 37-43]. En dosis superiores a 1600 mg de Megace®/d, en el 81 % de todos los pacientes (>2 kg, mediana de 5,5 kg) y en más del 90 % de los pacientes con carcinoma de mama. Se alcanzaba un aumento de peso. Por tanto tiene lugar un efecto dependiente de la dosificación y del tiempo de Megace®, en el que el efecto dependiente de la dosificación aún no se ha demostrado estadísticamente. Para más información relativa a
10 Menace® y opciones de dosificación, véase, por ejemplo, <http://www.medsafe.govt.nz/profs/Datasheet/m/Megacetab.htm>

Megace® se ha usado durante muchos años de forma exitosa en caquexia de pacientes que presentan carcinoma de mama u otros tumores malignos. En Alemania el medicamento se encuentra sólo registrado para la terapia en
15 carcinoma de mama progresivo. Para una terapia específica en pacientes con carcinoma de mama en fase IV para la mejora de la calidad de vida se compararon las dosificaciones 160 mg/d, 800 mg/d y 1600 mg/d en el estudio CALGB y se encontró 160 mg/d como la dosificación óptima [Kornblith AB, Hollis DR, Zuckerman E, y col. Effect of megestrol acetate on quality of life in a dose-response trial in woman with advanced breast cancer. J Clin Oncol 1993; 11: 2081-2089].

20 En estudios con pacientes que presentan caquexia por SIDA, de Roenn y col. [Von Roenn JH, Armstrong D, Kotler DP, y col. Megestrol Acetate in patients with AIDS-related cachexia. Ann Intern Med 1994; 121: 393-399] se estudiaron 232 pacientes con MA en diferentes dosificaciones: 100 mg/d, 400 mg/d, y 800 mg/d. En este estudio se encontró 800 mg/d como la dosificación óptima. Para un humano se recomienda una dosificación de 13,3 mg/kg/d. Pudo mostrarse que la dosificación más razonable para la terapia de caquexia (mejor aumento de peso en relación a efectos secundarios) en el humano es de 800 mg/d (que corresponde a aproximadamente 13 mg/kg/d a 60 kg de peso corporal) como dosificación general en una o dos aplicaciones [Oster MH, Enders SR, Samuels SJ, y col. Megestrol acetate in patients with AIDS and Cachexia. Ann Intern Med 1994; 121: 400-408, Von Roenn JH, Armstrong D, Kotler DP, y col. Megestrol Acetate in patients with AIDs-related cachexia. Ann Intern Med 1994; 121: 393-399].

30 Recientemente se ha introducido una sustancia nueva designada a continuación en este documento como "Megace® novedoso" que se designa también como "Megace® ES". El Megace® novedoso es esencialmente la misma medicación que el acetato de megestrol habitualmente usado, pero presenta una estructura microcristalina que mejora de forma significativa la resorción. Ambas suspensiones para vía oral contienen el mismo principio activo, no obstante, Megace® ES presenta una formulación diferente con la que se mejora la resorción de forma
35 significativa. Par Pharmaceutical Companies, Inc. fabrica esta formulación avanzada, como se describe en la solicitud PCT WO 03/086354 A1. La mejora es provocada por una composición nanoparticulada que comprende acetato de megestrol y preferiblemente al menos un estabilizador de superficie asociado con la superficie del fármaco. Estas partículas de megestrol nanoparticulado presentan un tamaño de partícula medio efectivo de menos de aproximadamente 2000 nm. Esta formulación avanzada, en una realización preferida de la misma, usa tecnología NanoCrystal™ Dispersion para mejorar la biodisponibilidad del fármaco, en comparación con las formulaciones actualmente disponibles del producto, como se describe en el documento WO 04/050059 como una forma de dosificación líquida de baja viscosidad que comprende partículas de un agente activo, un estabilizador de superficie, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, vehículo o una combinación del mismo, en el que las partículas de agente activo presentan un tamaño medio efectivo de partícula inferior a aproximadamente 2 micrómetros y la forma de dosificación presenta una viscosidad de menos de aproximadamente 2000 mPa.s a un cizallamiento de 0,1 (1/s).
40 NanoCrystal® Dispersion es una marca comercial de Elan Corporation, pic, Dublín, Irlanda. Megace® es una marca comercial registrada de Bristol-Myers Squibb Company con licencia de Par Pharmaceutical, Inc. La U.S. Food and Drug Administration (FDA) ha aprobado Megace® ES para el tratamiento de anorexia, caquexia, o una pérdida de peso significativa inexplicable en pacientes con un diagnóstico de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).
45 Los datos recientes han mostrado que la biodisponibilidad de la formulación original se reduce sustancialmente cuando se toma con el estómago vacío. Con Menace® ES, esta reducción en la biodisponibilidad se minimiza en estado de ayunas, dando lugar a mejor biodisponibilidad en pacientes que no se han alimentado. Megace® ES 625 mg/5 ml y suspensión para vía oral de acetato de megestrol 800 mg/20 ml son bioequivalentes en un estado alimentado. El efecto de Megace® novedoso parece ser más rápido en comparación con el acetato de megestrol
50 inicial (en este documento designado como Megace® "viejo" (común)).
55

Para Megace®, se suponen los efectos anti-andrógenos, anti-estrógenos y similares a pequeño glucocorticoide [Alexieva-Figusch J, Van Glise HA. Progestin therapy in advanced breast cancer: Megestrol acetate -An evaluation of 160 treated cases. Cancer 1980; 46: 2369-2372].

5 La terapia convencional con medicamentos en CHI consiste en general de forma particular en la aplicación de diuréticos, bloqueadores de ACE, opcionalmente angiotensina, antagonistas del receptor del receptor II, bloqueadores beta y/o antagonistas de aldosterona así como también medicamentos para la profilaxis y terapia de arritmias y angina de pecho. Además se usan de forma creciente marcapasos y desfibriladores implantables. En pacientes con CHI más grave se tienen en cuenta terapias quirúrgicas con dispositivos de ayuda y trasplantes cardiacos. Un objetivo principal de la terapia es mejorar la esperanza de vida y la calidad de vida de los pacientes.

10 En casos de CHI grave la mortalidad anual en estudios más recientes a pesar de la terapia con vasodilatadores y digitálicos alcanzó el 52 %, en casos de aplicación adicional de un bloqueador beta aún el 36 % por año [The CONSENSUS Trial Study group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure: results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). N Engl J Med 1987; 316: 1429-1435]. A pesar de más terapias mejoradas que incluyen bloqueadores ACE y bloqueadores beta, la CHI de gravedad media (clase II – III según New York Heart Association) está aún hoy en día relacionada con una mortalidad anual de aproximadamente el 15-30 % [Braunwald E (ed), y col. Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine. 6ª edición. WB Saunders Company 2001; chapter 17: 546-547, Johnson D, Jin Y, Quan H, y col. Beta-Blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors/receptor blockers prescriptions after hospital discharge for heart failure are associated with decreased mortality in Alberta, Canadá. J Am Coll Cardiol 2003; 42: 1438-1445].

El documento WO 2004/041289 describe el uso de composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos que presentan actividad anti-aldosterónica, tales como drospirenona, como principios activos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Se describe la combinación con progestinas, por ejemplo, acetato de megestrol.

20 La patente de Estados Unidos 5.144.017 describe nuevos compuestos esteroides, entre otros, acetato de megestrol, que se describen como que presentan actividad tipo digoxina. En la publicación de patente internacional WO 03/086354 se describen formulaciones nanoparticuladas de acetato de megestrol.

25 En un estudio de caso (Isaac JH, 1999; Pediatric Cardiology) se describe el uso de acetato de megestrol en el tratamiento de un paciente nacido con estenosis aórtica crítica, estenosis mitral y regurgitación. El fármaco se usa para aumentar el apetito y la ingesta calórica.

La patente de Estados Unidos 4.370.321 describe un tratamiento para vía oral con acetato de megestrol en la terapia adyuvante de cáncer de mama tras mastectomía.

30 Se buscan mejores tratamientos de insuficiencia cardíaca (aguda o crónica) y de infarto de miocardio. Por tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar un mejor tratamiento de infarto de miocardio y de insuficiencia cardíaca con el fin de reducir la gravedad y mortalidad de las enfermedades. Además es un objetivo de la presente invención proporcionar una mejor terapia de insuficiencia cardíaca.

35 El objetivo de la presente invención, en un aspecto particular de la misma, se consigue con la invención de las reivindicaciones 1 a 19. Adicionalmente se describe el uso de Megace® o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de forma opcional con adyuvantes y aditivos apropiados, en la terapia de mejora de la función cardíaca tras infarto de miocardio y en insuficiencia cardíaca. Adicionalmente se describe el uso de Megace® o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de forma opcional con adyuvantes y aditivos apropiados, para la producción de un medicamento para la terapia de caquexia cardíaca y/o insuficiencia cardíaca, en particular tras infarto de miocardio.

40 En la bibliografía no hay reivindicación o evidencia de que Megace® sea útil en el tratamiento de infarto de miocardio o insuficiencia cardíaca.

Basándose en un modelo animal, se analizó la influencia de Megace® estimulante del apetito en insuficiencia cardíaca tras un infarto de miocardio. Para ello se tuvieron en cuenta en particular los siguientes factores:

1. Mortalidad
2. Tamaño del infarto y función cardíaca
- 45 3. Peso comparativo del órgano

De forma sorprendente se pudo encontrar durante estos experimentos que Megace® no presentaba un efecto en la caquexia cardíaca de por sí (no aumentaba el peso corporal), pero mejoraba la función cardíaca como se refleja en mejores pesos de corazón y valores de LVEF así como también supervivencia. Este efecto estaba particularmente presente (y por tanto preferiblemente) cuando se usaba la forma microcristalina novedosa de Megace®, es decir, la

formulación avanzada de suspensión para vía oral de acetato de meggestrol (Megace® ES). Con el fin de obtener medidas de peso válidas se administró un diurético adicionalmente a todos los animales del estudio con Megace®. El uso de diuréticos es una medida rutinaria en pacientes con insuficiencia cardíaca.

5 El Megace® ES que se puede usar de acuerdo con la presente invención pueden proporcionarse en una pluralidad de formas adecuadas para administración. Formas farmacéuticamente aceptables adecuadas comprenden sales o pre- o pro-formas de Megace® ES.

10 Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables comprenden sin limitación sales inorgánicas u orgánicas no tóxicas tales como acetato derivado de ácido acético, aconitato derivado de ácido aconítico, ascorbato derivado de ácido ascórbico, benzoato derivado de ácido benzoico, cinnamato derivado de ácido cinnámico, citrato derivado de ácido cítrico, embonato derivado de ácido embónico, enantato derivado de ácido heptanoico, formiato derivado de ácido fórmico, fumarato derivado de ácido fumárico, glutamato derivado de ácido glutámico, glicolato derivado de ácido glicólico, cloruro derivado de ácido clorhídrico, bromuro derivado de ácido bromhídrico, lactato derivado de ácido láctico, maleato derivado de ácido maleico, malonato derivado de ácido malónico, mandelato derivado de ácido mandélico, metanosulfonato derivado de ácido metanosulfónico, naftalin-2-sulfonato derivado de ácido naftalin-2-sulfónico, nitrato derivado de ácido nítrico, perclorato derivado de ácido perclórico, fosfato derivado de ácido fosfórico, ftalato derivado de ácido ftálico, salicilato derivado de ácido salicílico, sorbato derivado de ácido sórbico, estearato derivado de ácido esteárico, succinato derivado de ácido succínico, sulfato derivado de ácido sulfúrico, tartrato derivado de ácido tartárico, tolueno-p-sulfato derivado de ácido p-tolueno-sulfónico y otros. Tales sales se pueden producir mediante procedimientos concoidos por algún especialista en la técnica y se describen en la técnica anterior.

Otras sales como oxalato derivadas de ácido oxálico, que no se considera como farmacéuticamente aceptable, pueden ser apropiadas como intermedios para la producción de Megace® o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede encontrarse en microvehículos o nanopartículas en preparaciones para vía parenteral, por ejemplo, en partículas finalmente dispersadas basadas en poli(met)acrilatos, polilactatos, poliglicolatos, poliaminoácidos o polieteruretanos. Las formulaciones para vía parenteral se pueden modificar también como preparaciones "depot" (de liberación lenta), por ejemplo, basadas en el "principio de unidad múltiple", si Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es introducido en forma finalmente dispersada, dispersada y suspendida, respectivamente, o como una suspensión de cristales en el medicamento o basándose en el "principio de unidad simple" si Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se encierra en una formulación, por ejemplo, en un comprimido o un tubo que se implanta posteriormente. Estos implantes o medicamentos "depot" (de liberación lenta) en formulaciones unitarias simples o unitarias múltiples consisten frecuentemente en los denominados polímeros biodegradables como, por ejemplo, poliésteres de ácido láctico y glicólico, polieteruretanos, poliaminoácidos, poli(met)acrilatos o polisacáridos.

35 Adyuvantes y vehículos añadidos durante la producción de los medicamentos que se pueden usar de acuerdo con la presente invención formulados como preparaciones para vía parenteral son preferiblemente *aqua sterilisata* (agua esterizada), sustancias que influyen en el valor del pH como, por ejemplo, ácidos o bases orgánicos o inorgánicos así como también sales de los mismos, sustancias tampón para ajuste de valores del pH, sustancias para isotonzación como, por ejemplo, cloruro de sodio, hidrogenocarbonato de sodio, glucosa y fructosa, tensioactivos y surfactantes, respectivamente, y emulsionantes como, por ejemplo, ésteres parciales de ácidos grasos de polioxietilensorbitanos (por ejemplo Tween®) o, por ejemplo ésteres de ácidos grasos de polioxietilenos (por ejemplo, Cremophor®), ácidos grasos como, por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de soja o aceite de ricino, ésteres sintéticos de ácidos grasos como, por ejemplo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y aceite neutro (por ejemplo, Miglyol®) así como también adyuvantes poliméricos como, por ejemplo gelatina, dextrano, polivinilpirrolidona, aditivos que aumentan la solubilidad de disolventes orgánicos como, por ejemplo, propilenglicol, etanol, N,N-dimetilacetamida, propilenglicol o sustancias formadoras de complejos como, por ejemplo, citrato y urea, conservantes como, por ejemplo, éster hidroxipropílico y éster metílico de ácido benzoico, alcohol bencílico, antioxidantes como, por ejemplo, sulfito de sodio y estabilizadores como, por ejemplo, EDTA.

50 Cuando se formulan los medicamentos que se pueden usar de acuerdo con la presente invención como suspensiones en una realización referida se añaden agentes espesantes para evitar la sedimentación de Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tensioactivos y polielectrolitos para asegurar la resuspensabilidad de sedimentos y/o agentes de formación de complejos como, por ejemplo, EDTA. Es también posible alcanzar complejos del principio activo con diversos polímeros. Ejemplos de tales polímeros son polietilenglicol, poliestireno, carboximetilcelulosa, Pluronic® o éster de polietilengliol del ácido graso del sorbitol. Menace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede incorporar también en formulaciones líquidas en la forma de compuestos de inclusión, por ejemplo, con ciclodextrinas. En realizaciones particulares se pueden añadir agentes dispersantes como adyuvantes adicionales. Se pueden usar para la producción de agentes

limpiadores de liofilizados como manitol, dextrano, sacarosa, albúmina humana, lactosa, PVP o variedades de gelatina.

En tanto que Megace® ES no se encuentre incluido en una formulación de fármaco líquida en su forma básica este puede usarse sin parenterales en la forma de sus solvatos de sal de adición de ácido.

- 5 Una formulación para aplicación sistémica importante adicional es la administración por vía oral en la forma de comprimidos, cápsulas de gelatina dura o blanda, comprimidos recubiertos, polvos, agregados, microcápsulas, obleas comprimidas, gránulos, sellos, grageas, goma de mascar o bolsas. Estas formulaciones administradas por vía oral sólidas se pueden formular también como sistemas de retardo y de depósito, respectivamente. Se encuentran comprendidos en estos medicamentos con un contenido de uno o más principios activos micronizados, 10 formas de difusión y erosión basadas en matriz, por ejemplo, usando sustancias grasas, cerosas o poliméricas o los denominados sistemas de depósito. Si el medicamento se formula para liberar Megace® ES durante un periodo prolongado de tiempo se pueden añadir agentes de retardo y agente para la liberación controlada, respectivamente, como sustancias de formación de película o matriz, por ejemplo, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, derivados de poli(met)acrilato, (por ejemplo, Eudragit®), ftalato de hidroxipropil-metilcelulosa ambos en soluciones orgánicas y en 15 la forma de dispersiones acuosas. En este contexto se debería citar también preparaciones bioadhesivas en las que se provoca un tiempo de hinchamiento extenso en el cuerpo con el contacto íntimo con las membranas mucosas del cuerpo. Un ejemplo de un polímero bioadhesivo es, por ejemplo, el grupo de Carbomere®.

- 20 Para el fin de una liberación controlada de Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo dentro de los diferentes segmentos del tracto gastrointestinal es posible usar una mezcla de agregados que se liberen en distintas localizaciones. La formulación de medicamento puede estar recubierta, por ejemplo, con mezclas de películas, sustancias, compuestos o composiciones solubles en el jugo gástrico y resistentes al mismo, respectivamente. La misma finalidad de influir en la liberación en diferentes secciones del tracto gastrointestinal se puede conseguir también con comprimidos recubiertos producidos de forma apropiada con un núcleo, en el que el recubrimiento libera el principio activo en el jugo gástrico rápidamente y el núcleo libera el principio activo en el 25 entorno del intestino delgado. El objetivo de una liberación controlada en diferentes secciones del tracto gastrointestinal se puede conseguir también con comprimidos recubiertos múltiples. Se pueden rellenar mezclas de agregados con diferentes agentes activos liberables de forma diferente, por ejemplo, en cápsulas de gelatina dura.

- 30 Un adyuvante adicional usado en la producción de formulaciones prensadas como, por ejemplo, comprimidos, cápsulas de gelatina dura y blanda así como también comprimidos recubiertos y gránulos son, por ejemplo, agentes antiadherentes, agentes lubricantes y agentes de separación, agentes dispersantes como, por ejemplo, dióxido de silicio de dispersión a la llama, disgregantes como, por ejemplo, diversos tipos de almidón, PVP, celulosa, ésteres como agente de granulación o de retardo como, por ejemplo, sustancias cerosas y/o poliméricas basadas en Eudragit®, celulosa o Cremophor®.

- 35 Medicamentos adicionales formulados para administración por vía oral pueden comprender antioxidantes, agentes edulcorantes como, por ejemplo sacarosa, xilitol o manitol, agentes correctores del sabor, aromatizantes, conservantes, colorantes, tampones, excipientes de compresión directa, celulosa microcristalina, almidón, almidón hidrolizado (por ejemplo, Celutab®), lactosa, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, fosfato de dicalcio, lubricantes, cargas como, por ejemplo, lactosa o almidón, aglutinantes en la forma de lactosa, tipos de almidón como, por ejemplo, trigo o maíz y almidón de arroz, respectivamente, derivados de celulosa como, por ejemplo, metilcelulosa, 40 hidroxipropilcelulosa o sílice, talco, estearato como, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, talco siliconizado, ácido esteárico, alcohol cetílico o grasas hidrogenadas, etc. Se conocen una variedad de sustancias por un especialista en la técnica que se pueden añadir a medicamentos para la formulación para administración por vía oral.

- 45 En una realización adicional Megace® ES o una sal terapéuticamente aceptable del mismo se puede formular también como un sistema terapéutico para vía oral, en particular basado en principios osmóticos como, por ejemplo, GIT (sistema terapéutico gastro-intestinal) u OROS (sistema osmótico oral).

Comprimidos o tabletas efervescentes son también formulaciones prensadas, que se pueden administrar por vía oral y que son ambas de disolución o suspensión rápida en agua y son formulaciones de fármaco que se pueden beber de forma inmediata.

- 50 Formulaciones administradas por vía oral también incluyen soluciones, por ejemplo, gotas, zumos y suspensión que se pueden producir de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica y que pueden comprender – además de los adyuvantes y aditivos ya citados para el aumento de la estabilidad – conservantes y si se desea agentes aromatizantes para facilitar la ingestión y agentes colorantes para distinguir mejor así como también antioxidantes y/o vitaminas y agentes edulcorantes como azúcares o edulcorantes artificiales. Esto también aplica a zumos secos 55 que se preparan con agua antes del uso. En una realización preferida de una formulación de los medicamentos de la

presente invención una formulación líquida que se puede ingerir puede comprender también una resina de intercambio de iones.

5 En una realización preferida de la presente invención, el Megace® es Megace® novedoso. Como un ejemplo Megace® se produce comercialmente por parte de diversas compañías como medicamento genérico. Para el presente estudio se usaron dos formas de Megace® que se adquirieron a la compañía PAR Pharmaceuticals (véase anteriormente).

En otra realización preferida de la presente invención la CHI se basa en enfermedad coronaria.

10 Otra realización preferida de la presente invención se caracteriza porque el medicamento se aplica por vía oral. Preferiblemente, Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en una dosificación entre 30 mg/d y 2000 mg/d, preferiblemente entre 100 mg/d y 1600 mg/d, lo más preferiblemente de 300 a 800 mg/d. El principio activo se puede administrar en una o varias dosis por día; alternativamente el principio activo se puede administrar en intervalos de tiempo prolongados. También preferiblemente Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en una dosificación entre 4 y 15 mg/kg/d. El principio activo se puede administrar en una o varias dosis; alternativamente el principio activo se puede administrar en intervalos de tiempo prolongados.

15 En otra realización importante de la presente invención, Megace® ES o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en combinación con fármacos usados de forma habitual en CHI, tales como diuréticos adecuados, vasodilatadores, digitálicos, un inhibidor de ACE, un antagonista del receptor de la angiotensina-II, un bloqueador beta, un antagonista de aldosterona, un antagonista del receptor de endotelina, un inhibidor de xantinoxidasa, una estatina (un inhibidor de HMG-CoA reductasa) y/o resinas de ácido biliar (tales como colestiramina (Questran®) y colestipol (Colestid®)), inhibidores de absorción de colesterol (tales como Ezetimibe (Zetia®), ácido nicotínico (niacina), y derivados de ácido fibrótico (fibratos), tales como fenofibrato (TriCor®) y gemfibrozilo (Lopid®). Preferiblemente, el diurético es furosemida.

20 La invención también se refiere a una composición que comprende Megace® o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un diurético adecuado, un vasodilatador, digitálicos, un bloqueador de ACE, y/o un bloqueador beta. Preferiblemente el diurético es furosemida.

25 Las composiciones de acuerdo con la presente invención que comprenden uno o más diuréticos adecuados, un vasodilatador, digitálicos, un bloqueador de ACE, y/o un bloqueador beta se pueden producir por un especialista en la técnica en una de las formulaciones descritas anteriormente para Megace® ES y se pueden mezclar con adyuvantes y aditivos respectivamente indicados. En un aspecto adicional la invención también se refiere a la administración separada espacialmente y/o temporalmente de los principios activos respectivos.

30 Fue un objetivo principal del estudio en el que se basa la presente invención así como de otros estudios, alcanzar una mortalidad reducida además de un aumento del peso y una mejor estabilidad del peso del paciente. Debido a que en la mayor parte de los pacientes que presentan insuficiencia cardíaca crónica tiene lugar edema, casi todos los pacientes humanos con insuficiencia cardíaca son sometidos a una terapia con un diurético [Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole- Wilson PA, Sutton GC, y col. The epidemiology of heart failure. Eur Heart J 1997; 18:208-225]. Estudios previos han mostrado que también en ratas enfermas, que se usan como un modelo en la presente invención, tiene lugar edema que interferiría con las medidas de peso y las comparaciones. Así pues, a todos los animales con infarto se les administró furosemida junto con agua potable. Puede esperarse por tanto que los cambios en peso estén relacionados con una alta probabilidad con un aumento o reducción de grasa, músculo o masa ósea y no sean provocados por edema. Además los resultados que se indican en el ejemplo 2, siguiente, muestran que furosemida no tiene efecto en la función cardíaca determinada por ecocardiografía.

35 En un modelo de infarto se desarrollaron infartos sub-agudos que presentan un progreso crónico. La generación de una CHI en humano es provocada en muchos casos por un infarto de miocardio. Así pues, el modelo de infarto permite resultados representativos de insuficiencia cardíaca crónica. En la presente invención se usó por tanto el modelo de infarto roj para la producción de una insuficiencia cardíaca crónica.

45 En otro aspecto de la presente invención la furosemida se usó junto con Megace® ES con el fin de proporcionar una terapia de combinación aún mejor.

50 Se pueden extraer las siguientes conclusiones de los presentes experimentos. El infarto de miocardio inducido en ratas casi siempre conduce a una insuficiencia cardíaca demostrada en estas ratas. Las ratas que presentan un infarto de miocardio inducido quirúrgicamente presentan una menor probabilidad de supervivencia en comparación con ratas con cirugía de simulación. El acetato de megestrol novedoso mejoraba de forma significativa los

parámetros de función cardíaca LVEF y FS en ratas con infarto por cirugía en comparación con el placebo. El acetato de megestrol novedoso mejoraba de forma significativa la supervivencia en ratas con infarto por cirugía en comparación con el placebo.

5 Los siguientes ejemplos y figuras se incluyen para demostrar realizaciones preferidas de la invención. Se debería apreciar por parte de los especialistas en la técnica que las técnicas descritas en los ejemplos que permiten representar técnicas descubiertas por los inventores funcionan bien en la práctica de la invención, y por tanto se pueden considerar modos preferidos para su práctica. Sin embargo, los especialistas en la técnica deberían, a la luz de la presente descripción, apreciar que se pueden realizar muchos cambios en las realizaciones específicas que se describen sin apartarse del espíritu y alcance de la invención como se establece en las reivindicaciones adjuntas.
10 Para los fines de la presente invención todas las referencias que se citan se incorporan a la misma como referencia en su totalidad.

Los ejemplos que se refieren a la materia objeto no comprendidos por las reivindicaciones se proporcionan por meros fines comparativos.

Figuras

15 En la figura 1 se ilustra la progresión del peso para todos los grupos.

En la figura 2 se ilustra los cambios medios de peso en los grupos de infarto placebo, acetato de megestrol viejo y novedoso junto con la desviación habitual. Todos los grupos de infarto quirúrgico recibieron furosemida. A título comparativo se ilustra el grupo de cirugía de simulación que no recibió furosemida.

20 En la figura 3 se ilustran los cambios de peso en los grupos de infarto tras el final de la terapia junto con la desviación habitual. Todos los grupos recibieron furosemida.

La figura 4 muestra la fracción de eyección del ventrículo izquierdo en los grupos de infarto y los grupos de cirugía de simulación en el estudio de acetato de megestrol. *** $p < 0,001$ vs el grupo de infarto correspondiente, $p < 0,05$ vs infarto placebo.

25 La figura 5 muestra la segregación normal del LVEF en los grupos de infarto. El ensayo de Kolmogorov-Smirnov conduce a $p < 0,05$.

La figura 6 muestra los pesos absolutos de todos los grupos. Los grupos recibieron placebo, MA viejo o novedoso en la toma y de forma opcional furosemida en agua potable. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,001$ vs el grupo de simulación correspondiente con la misma terapia en la toma, ### $p = 0,0048$ vs acetato de megestrol novedoso.

30 La figura 7 muestra los pesos de corazón relativos de todos los grupos. Todos los grupos de infarto ilustrados, grupos simulados sin furosemida. ** $p < 0,01$ vs el grupo de simulación correspondiente.

La figura 8 muestra los pesos de corazón relativos de animales con infarto (con furosemida) y con cirugía de simulación (sin furosemida). **** $p < 0,0001$ vs cirugía de simulación.

35 La figura 9 muestra el cambio medio de peso con desviación habitual. Todos los grupos ilustrados recibieron placebo en la toma. Se puede encontrar la significancia ¹A (indicada por * para $p < 0,05$) a partir del día 105 para infarto con furosemida vs infarto placebo. ² El análisis solo contenía animales que sobrevivieron hasta el final del estudio: infarto con furosemida: 23 de 39, infarto con placebo 30 de 33, simulado-placebo 12 de 12.

Ejemplos

40 Brevemente, se llevaron a cabo dos estudios en animales, en los que en el primer estudio se llevó a cabo una ligadura de la arteria coronaria izquierda en 280 animales. El tamaño del infarto fue del 32 ± 1 % y a las 24 horas la mortalidad era del 40 %, ambos indican grandes infartos. Después de dos semanas las ratas comenzaron a tomar un diurético (furosemida, 8,6 mg por 100 ml de agua potable). Después de seis semanas se inició la terapia aleatorizada de doble ciego con una de las dos formas de MA o placebo y se continuó durante 18 semanas. Después del final de la terapia las ratas fueron seguidas durante otras 6 semanas. Luego se estudiaron los animales en cuanto a la función cardíaca (ecocardiografía) y después de esto se sacrificaron.

En el primer estudio ninguna forma de MA aumentaba el peso corporal; más bien se encontraba que lo reducía de forma significativa en animales tratados con MA ($p < 0,001$). Subjetivamente los integrantes de la investigación implicados reportaron que las ratas tratadas con MA nuevo eran más activas.

- 5 Supervivencia: ratas con MA nuevo presentaban una mortalidad un 55 % inferior que ratas que reciben placebo (MA nuevo vs placebo: relación de riesgo 0,45, intervalo de confianza [IC] 0,15-1,32. $p = 0,13$). Este efecto no se encontraba para MA viejo (Megace® viejo vs placebo: relación de riesgo 0,79, $p = 0,63$).

- 10 Función cardíaca y peso: ambos MA viejo y nuevo redujeron la masa ventricular izquierda ($p < 0,05$ vs placebo). Solo el MA nuevo mejoró la función cardíaca de forma significativa, según se evaluó por ecocardiografía de la fracción de eyección ventricular izquierda [LVEF] (41 ± 2 vs $35,5 \pm 2$ %, $p = 0,04$ vs placebo) y acortamiento fraccional [FS] ($17,9 \pm 1$ vs $15,1 \pm 1$ %, $p = 0,04$ vs placebo). Esto no era estadísticamente significativo con MA viejo (LVEF media 39 ± 2 % y FS $16,8 \pm 1$ %: vs placebo: $p = 0,23$ y $p = 0,21$, respectivamente).

Este estudio mostró resultados sorprendentes en cuanto a que acetato de megestrol viejo y nuevo no aumentaban el peso corporal. El acetato de megestrol nuevo parece tener efectos que contribuyen a mejoras significativas en la función cardíaca y a una fuerte tendencia hacia mejor supervivencia.

- 15 Se llevó a cabo un segundo estudio usando la misma metodología que en el primer estudio. De nuevo se llevó a cabo la ligadura de la arteria coronaria izquierda en ratas con terapia diurética comenzando a las 2 semanas y tratamiento con MA comenzando después de 6 semanas. En 4 grupos (todos tratados con un diurético), los animales recibieron bien placebo (número de animales: $n = 38$), MA viejo ($n = 37$) o MA nuevo ($n = 40$) o bien un inhibidor de ACE (Ramipril®, $n = 38$).

- 20 Supervivencia en el estudio 2: después de un seguimiento medio de 15 semanas, se encontró el siguiente número de animales muertos por grupo: MA nuevo: 1 (= 2,5 %); MA viejo: 17 (= 45,9 %); placebo: 16 (= 42,1 %); inhibidor de ACE: 2 (= 5,3 %). Estos resultados fueron significativos para el MA nuevo vs placebo y vs MA viejo (ambos $p < 0,01$).

Este estudio confirmó que acetato de megestrol nuevo mejora la supervivencia en ratas tras un infarto de miocardio.

25 Animales

Se mantuvieron ratas Wistar macho (Dimed GmbH, Schönwalde, Alemania) en una instalación para animales controlada ambientalmente que presenta una temperatura constante de 23 °C en un ciclo de día-noche de 12 horas.

- 30 Durante todo el experimento todas las ratas se agruparon en 1-3 animales por jaula. Los animales de una jaula pertenecen al mismo grupo. Los animales tenían libre acceso a alimento regular y agua potable o agua potable con diurético respectivamente.

Producción de una insuficiencia cardíaca mediante infarto quirúrgico

- 35 280 animales se sometieron a tratamiento quirúrgico con un peso de aproximadamente 215-230 g (221 ± 1 g). Con el fin de producir una insuficiencia cardíaca los inventores llevaron a cabo el tratamiento quirúrgico de acuerdo con un modelo de infarto que ya se usó en varios estudios previos. El infarto de corazón se produce de acuerdo con un procedimiento ligeramente modificado descrito por Selye y col. [Selye H, Bajusz E, Grassos S, Mendel P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology* 1960; 11: 398-407] mediante ligadura del LAD.

- 40 Cada rata se anestesió con cloralhidrato i.p. (Merck, Darmstadt, Alemania) y posteriormente se entubaba con un catéter de PE (1,2 mm de diámetro) y respiraba usando un respirador Rodent UB 7025-10 (Föhr Medical Instruments GmbH, Seeheim/OB, Alemania). Se abrió el tórax, se preparó el corazón y se hizo una ligadura usando material de sutura Ethibond 7/0 (Ethicon GmbH, Norderstedt, Alemania) en posición de la arteria coronaria izquierda (LAD). Debido a que las arterias coronarias durante este proceso no pueden ser vistas a ojo, la orientación tuvo lugar anatómicamente basándose en la posición del corazón y las venas coronarias visibles. El éxito del infarto pudo verificarse visualmente basándose en la palidez, cianosis y a la distorsión de movilidad que acontecieron.
- 45 Posteriormente se cerró el tórax. La respiración finalizó una vez que se alcanzó ECG estable. Se usaron 41 ratas como animales de control y se trataron quirúrgicamente de la misma forma que los animales infartados. No se introdujo ligadura coronaria en estos animales (cirugía de simulación).

Tras la cirugía los animales se controlaron y se analizó el peso dos veces a la semana durante todo el estudio. 18 días (entre los días 16 y 20) tras la cirugía los animales se seleccionaron al azar y se segregaron en los grupos respectivos. Después de este momento los grupos respectivos recibieron furosemida hasta el final del estudio. Después de unas cuatro semanas más se inició la toma diaria. Esta se mantuvo durante 18 semanas y posteriormente se paró. En el siguiente periodo de observación se controlaron los animales. La ecocardiografía se llevó a cabo y se controló el peso.

Asignación al azar y cegado

14 días tras la cirugía todos los animales con infarto y de control se asignaron al azar en bloques y se segregaron en uno de cuatro grupos de infarto o en uno de tres grupos de control. Los grupos se designaron como sigue: infarto-placebo (sin furosemida), infarto A, infarto B, infarto C, simulado A, simulado B, simulado C. Para los medicamentos A, B y C todas las personas que participan en el estudio eran desconocedoras (ensayo controlado doble ciego). Uno de los medicamentos A, B ó C era un placebo (con furosemida), por lo tanto el grupo correspondiente era el grupo comparativo para ambos estudios (Megace® y estudio de furosemida, respectivamente).

Determinaciones del peso

Durante el progreso de ambos estudios se determinó el peso de los animales dos veces a la semana, partiendo de la fecha de la cirugía (modelo de equilibrio de laboratorio CS2000. Ohaus Corporation, Pine Brook, NJ, EEUU). Se calcularon los resultados en correspondencia con el día post-quirúrgico del respectivo animal.

Tratamiento diurético

Los grupos A, B y C de los animales con infarto recibieron furosemida (ampolla Lasix® de 250 mg, Aventis Pharma GmbH, Frankfurt am Main, Alemania) comenzando en el día 18 (± 2 días) durante todo el estudio en una concentración de 8,6 mg/100 ml en agua potable. Esto corresponde a una dosificación inicial de 10 mg/kg/d con un peso de 300 g y una cantidad de agua potable de 35 ml/d.

Los animales del grupo de infarto-placebo (sin furosemida) y todos los animales simulados recibieron agua potable sin suplemento.

Medicación

Se administraron acetato de megestrol o sustancias de control a los animales mediante toma. En función del tiempo de cirugía, los animales fueron administrados por toma a partir de la sexta semana (día 44 ± 2) hasta la semana 24 tras la cirugía de infarto una vez al día, con lo que la cantidad de toma se ajustó al peso (100 mg de Megace® viejo/kg de peso corporal al día, 1 ml de solución contiene 40 mg de Megace® viejo o nuevo o placebo, respectivamente).

Para el infarto-placebo sin diurético, se produjo una solución de placebo adicional (no cegada) que comprendía el 0,2 % de benzoato de sodio (ICN Biomedicals GmbH, Eschwege, Alemania), disuelta en agua potable. Esto corresponde al disolvente de sustancias A, B y C. En correspondencia a los respectivos grupos, los animales con infarto recibieron la solución de placebo o la sustancia A, B o C y los animales de control meramente sustancia A, B o C. Las sustancias se mezclaron en un agitador magnético (Cycler, Typ RCT basic, IKA Labor Technik, Stauten, Alemania).

Tabla 1: protocolo de toma. 1 ml de solución contenía 40 mg de acetato de megestrol viejo o nuevo o placebo, respectivamente.

Peso del animal (g)	Toma (cantidad)	Peso del animal (g)	Toma (cantidad)
180-219	0,5 ml	500-539	1,3 ml
220-259	0,6 ml	540-579	1,4 ml
260-299	0,7 ml	580-619	1,5 ml
300-339	0,8 ml	620-659	1,6 ml
340-379	0,9 ml	660-699	1,7 ml
380-419	1,0 ml	700-739	1,8 ml
420-459	1,1 ml	740-779	1,9 ml

(continuación)

460-499	1,2 ml	780-819	2,0 ml
---------	--------	---------	--------

Seguimiento de las observaciones

5 A partir de la semana 24 hasta la semana 30 tras la cirugía se sometieron los animales a controles de seguimiento, es decir, la toma fue finalizada (sustancias A, B y C del estudio con Megace® y el placebo en el estudio con diurético), se determinó adicionalmente el peso de los animales dos veces a la semana y los respectivos grupos recibieron adicionalmente agua potable que contiene furosemida. Se llevó a cabo la ecocardiografía con todos los animales que estaban vivos en ese momento con 6-8 animales por grupo, respectivamente.

Preparación de órganos

10 En la semana 31 tras la cirugía se anestesiaron los animales que sobreviven usando cloralhidrato i.p. con 4 mg/kg de peso corporal (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Alemania). A continuación tuvo lugar la preparación del tejido graso subscapular pardo, se llevó a cabo lapratomización y se extrajo sangre de la aorta abdominal en jeringuillas de 10 ml con flujo de EDTA (Roth, Karlsruhe, Alemania) y se añadió a tubos de 12 ml pre-congelados (Sarstedt, Numbrecht, Alemania). Se extrajo el corazón, se determinó el peso, se extrajo la zona de infarto, se separó en atrio, septo, ventrículo, y zona de infarto, y se congelaron las piezas individuales en nitrógeno líquido en tubos Eppendorf de 2,0 ml (Fisher, Schwarte, Alemania) y se conservaron congelados a -80 °C.

Se extrajeron las siguientes partes por completo o parcialmente: pulmón, hígado, riñones, glándulas renales, tejido graso inguinal, tejido graso epididimal, yeyuno, descendentes del colon, cuádriceps derecho y gastrocnemio, cerebro y ojos.

20 Para la preparación histológica se prepararon y fijaron las partes del intestino en Zamboni (15 % de ácido picrínico saturado, 2 % de formaldehído) [119]. Los músculos se diseccionaron y una parte se congeló en nitrógeno y el residuo se fijó también en Zamboni. Todos los otros órganos se congelaron en nitrógeno líquido y se conservaron a -80 °C. Se centrifugó la sangre durante 10 minutos a 4° C y 3000 rpm en una centrífuga congelada (CL-GPICR, Beckmann, RU), y se conservó el plasma a -80 °C en tubos Eppendorf.

Ecocardiografía

25 Entre la semana 28 y 30 tras la cirugía (que corresponde a la semana 22 a 24 en el estudio con acetato de megestrol o semana 25 a 27 en el estudio de diurético), se examinó la función cardiaca de todas las ratas aún vivas mediante ecocardiografía. Para ello, cada rata fue en primer lugar pre-anestesiada usando isoflurano (Curamed Pharma GmbH Karlsruhe, Alemania) en una cámara de la unidad anestésica Univentor 400 Anaesthesia Unit (Agn Tho's, Lidingö, Suecia) y posteriormente se mantuvieron usando una máscara. Para el examen de ecocardiografía se rasuró la región del tórax y se sujetó la rata en una posición tendida sobre el dorso. Se llevó a cabo la ecocardiografía con un equipo Acuson-Sequoia C256 (Siemens, Alemania) que estaba equipado con un cabezal de ultrasonidos de 15 MHz adecuado para ecocardiografía de rata y ratón. Se ajustó el ventrículo izquierdo (LV) en el eje parasternal largo y corto. En el modo M se midieron el eje corto, el espesor sistólico y diastólico final de paredes (anterior e inferior) y el diámetro LV y basándose en el acortamiento fraccional (FS) se determinaron la función ventricular izquierda, y la fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF). Se evaluó la función diastólica basándose en el perfil de flujo LV mediante la válvula mitral (relación E/A) por medio de un PW-Doppler. Se dispuso el volumen de medida del PW-doppler en la punta de la solapa de la válvula mitral abierta. Se llevaron a cabo las medidas con un investigador cegado independiente. En la figura 1 se ilustra el progreso del peso de todos los grupos.

40 Análisis estadístico

Se indicaron todos los resultados como valor medio \pm desviación típica. Con el fin de determinar diferencias entre grupos se llevó a cabo el ensayo t no emparejado en caso de más de dos grupos, en caso de diversos grupos se llevaron a cabo análisis de varianzas (ANOVA) y Fisher post hoc. En medidas repetidas (análisis de peso) se usó ANOVA con medida repetida. En datos no normalmente segregados se usó el ensayo de Mann-Whitney en dos grupos. Para el análisis de supervivencia se usó el modelo de riesgo proporcional de Cox. Se indican la relación de riesgo y el intervalo de confianza del 95 % para los factores de riesgo así como también valores p para χ^2 (ensayo de relación de probabilidad). La relación de riesgo para la variable continua se refiere al riesgo relativo por unidad de las variables que se analizan. Para ilustrar las probabilidades de supervivencia se generaron diagramas de Kaplan-Meier. En datos normalmente segregados se considera un valor $p < 0,05$ como significativo. En los diagramas de

bloques, las pestañas indican la desviación habitual. Todos los cálculos se llevaron a cabo usando el programa de estadística StatView (versión 5.0 para Windows, SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU).

Ejemplo 1: estudio de acetato de megestrol

Progresión del peso en el grupo de infarto por cirugía

- 5 Se compararon los valores de pesos que corresponden al día tras la cirugía de los respectivos animales. Debido a los diferentes pesos (408 ± 3 g / min. 281 g - max. 485 g) de los animales de ensayo al comienzo de la terapia (día 0), la progresión del peso se refirió al peso inicial de cada animal al comienzo de la terapia. En la figura 2 se ilustran los cambios en peso de los tres grupos de estudio de infarto (placebo, acetato de megestrol viejo y novedoso) para todo el curso de la terapia.
- 10 Se observó un aumento de peso en los tres grupos en toda la duración del experimento. Los pesos finales y el curso del aumento de peso fueron muy diferentes entre los grupos. La respuesta del grupo de placebo difiere de forma significativa de los dos grupos de acetato de megestrol (infarto-placebo vs infarto-acetato de megestrol viejo $p = 0,0002$, infarto-placebo vs infarto-acetato de megestrol novedoso $p < 0,0001$). Ambos grupos de acetato de megestrol no difieren de forma significativa ($p = 0,36$).
- 15 Aunque se observó un aumento inmediato y continuo en el grupo de placebo, para los grupos de acetato de megestrol se observó una pérdida de peso hasta el día 35 (acetato de megestrol viejo) o hasta el día 46 (acetato de megestrol novedoso). La máxima pérdida de peso tras el comienzo de la terapia fue de $-15,8 \pm 1,5$ g (4,0 %, $n=31$) y $-17,6 \pm 2,3$ g (4,4 %, $n=32$) en los animales, que experimentaron la terapia con el acetato de megestrol viejo y novedoso, respectivamente. Después del día 35 tras el comienzo de la terapia (hasta el final de la terapia), el peso aumenta en paralelo para todos los grupos. El aumento de peso por día fue de $+0,8$ g/d y $+0,7$ g/d en los grupos con acetato de megestrol viejo y novedoso y $+0,8$ g/d en los grupos de placebo.

25 Tras el final de la terapia se encontró una aceleración significativa del aumento de peso durante el curso de 21 días en los animales de ambos grupos de acetato de megestrol. Por el contrario no se pudo observar cambio alguno en el aumento de peso del grupo de placebo ($p < 0,0001$). Los cambios de peso que comienzan al final de la terapia se ilustran por separado en la figura 3.

Los aumentos hasta el día 21 tras el final de la terapia fueron de $+1,5$ g/d y $+1,4$ g/d para el acetato de megestrol viejo y novedoso, respectivamente, pero solo de $+0,5$ g/d para el placebo. A partir del día 21 tras el final de la terapia hasta el final del experimento el aumento de peso en los tres grupos comenzó a ser casi igual de nuevo ($+0,5$ g/d en ambos grupos de acetato de megestrol y $+0,7$ g/d en los grupos de placebo).

- 30 Al final de la toma (entre los días 119-137), los cambios absolutos de peso desde el comienzo de la terapia en los animales que se sometieron a terapia con acetato de megestrol eran inferiores al de los animales que se sometieron a terapia con placebo (acetato de megestrol viejo 73 ± 12 g [$n=25$], acetato de megestrol novedoso 54 ± 7 g [$n=28$], placebo 144 ± 8 g [$n=27$]; $p < 0,0001$). Esta relación continuó hasta el final del periodo de observación (día 167 a 179), los valores medios en los grupos eran 169 ± 8 g, [$n=23$] para placebo, 116 ± 12 g, [$n=24$] para acetato de megestrol viejo y 93 ± 5 g, [$n=28$] para el acetato de megestrol novedoso. Ambos grupos de acetato de megestrol mostraron diferencias significativas vs placebo para este día (ambos $p < 0,0001$), pero no en comparación uno con otro ($p = 0,06$). Se da una revisión del peso de los animales basándose en animales de ensayo seleccionados en la tabla 2 siguiente.

40 **Tabla 2:** pesos absolutos medios con desviación típica de los grupos de estudio en estudio con acetato de megestrol al comienzo de la terapia (día 0), final de la terapia (día 126) y final del seguimiento (día 168), se indica una significancia de $p < 0,0001$ vs placebo con ***. Todos los grupos recibieron furosemida.

Tiempo (día)	Peso infarto con placebo (g)	n	Peso infarto con MA viejo (g)	n	Peso infarto con MA novedoso (g)	n
0	411 ± 5	33	404 ± 8	32	408 ± 4	32
126	559 ± 12	27	$485 \pm 17^{***}$	25	$462 \pm 10^{***}$	28
168	582 ± 12	23	$525 \pm 16^{***}$	24	$502 \pm 8^{***}$	27

La comparación durante el periodo de observación completo desde el comienzo de la terapia con acetato de megestrol muestra una diferencia significativa entre los grupos (medidas repetidas ANOVA). El aumento de peso en

los animales que recibieron el placebo por toma era significativamente mayor que en ambos grupos que fueron tratados con acetato de megestrol ($p < 0,0001$). En total la diferencia entre los grupos de acetato de megestrol no era estadísticamente significativa ($p = 0,14$).

Ecocardiografía

- 5 Se llevó a cabo el examen por ecocardiografía en todos los animales vivos y se usó para la determinación de las situaciones anatómicas y la función del corazón. Además de la evaluación de parámetros funcionales, se pueden estimar principalmente las relaciones de tamaño de las cavidades del corazón y el espesor de la pared del corazón, con lo que parámetros funcionales tales como la LVEF y la FS deberían permitir una confirmación en lo que respecta a la contractibilidad del miocardio. No se examinó la función de válvulas del corazón.

- 10 **Tabla 3:** parámetros de ecocardiografía para los grupos de infarto por cirugía del estudio de acetato de megestrol.

Todos los grupos de infarto por cirugía recibieron furosemida. LVEDD: diámetro diastólico final del ventrículo izquierdo, LVESD: diámetro sistólico final del ventrículo izquierdo, LVHW: pared posterior del ventrículo izquierdo, IVS: septo inter-ventricular, d: medida diastólica final, FS: acortamiento fraccional (ventrículo izquierdo), LVEF: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, E:A: perfil de efecto sobre la válvula mitral. * $p < 0,05$ vs placebo.

	Infarto-placebo n = 20	Infarto-MA viejo n = 23	Infarto-MA novedoso n = 26
LVEDD (cm)	1,06 ± 0,02	1,04 ± 0,03	1,03 ± 0,02
LVESD (cm)	0,90 ± 0,02	0,87 ± 0,03	0,85 ± 0,02
LVHW d (cm)	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,004
IVS d (cm)	0,13 ± 0,03	0,14 ± 0,04	0,10 ± 0,002
FS (%)	15,1 ± 0,9	16,8 ± 0,9	17,9 ± 0,9*
LVEF (%)	35,5 ± 2,0	39,0 ± 1,8	41,0 ± 1,8*
E (m/s)	0,84 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,80 ± 0,03
A (m/s)	0,62 ± 0,05	0,55 ± 0,05	0,57 ± 0,04
E:A	1,61 ± 0,21	1,85 ± 0,23	1,56 ± 0,11

- 15 **Tabla 4:** parámetros de ecocardiografía en los grupos de cirugía de simulación (sin furosemida)

	Simulado-placebo n = 11	Simulado-MA viejo n = 12	Simulado-MA novedoso n = 12
LVEDD (cm)	0,82 ± 0,02	0,87 ± 0,03	0,83 ± 0,03
LVESD (cm)	0,49 ± 0,04	0,55 ± 0,04	0,51 ± 0,05
LVHW d (cm)	0,17 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,01
IVS d (cm)	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,28 ± 0,02
FS (%)	41,1 ± 3,0	38,0 ± 3,0	39,3 ± 3,2
LVEF (%)	75,8 ± 4,0	71,8 ± 4,1	73,1 ± 4,4
E (m/s)	0,78 ± 0,04	0,78 ± 0,04	0,78 ± 0,04
A (m/s)	0,60 ± 0,05	0,66 ± 0,03	0,71 ± 0,04
E:A	1,39 ± 0,16	1,18 ± 0,06	1,16 ± 0,05

Diámetro sistólico y diastólico del ventrículo

El diámetro del ventrículo izquierdo se determinó sistólicamente y diastólicamente en el modo M. Los grupos de infarto (placebo vs acetato de megestrol) no difieren de forma significativa uno de otro (véase la tabla 3). Todos los grupos de infarto juntos muestran sin embargo diámetros sistólicos y diastólicos significativamente grandes ($p < 0,0001$) en comparación con los grupos de cirugía de simulación (véase la tabla 5). Los grupos de cirugía de simulación no difieren unos de otros en todos los valores de ecocardiografía (véase la tabla 4).

Espesor de la pared posterior y septo ventricular

Con el fin de dilucidar una hipertrofia ventricular se determinaron diastólicamente el espesor del septo interventricular (IVS) y de la pared posterior del ventrículo izquierdo (LVHW). Los valores muestran que no hay presente hipertrofia en la zona del septo (véase la tabla). Sin embargo la pared posterior es significativamente más gruesa en todos los grupos de infarto, en comparación con los animales de cirugía de simulación ($p = 0,02$, véase la tabla 5). Entre los grupos de infarto no hay diferencia (véase la tabla).

Tabla 5: parámetros de ecocardiografía para los grupos de infarto por cirugía y cirugía de simulación del estudio de acetato de megestrol. Los grupos de infarto por cirugía recibieron furosemida, los grupos de cirugía de simulación no recibieron furosemida. LVEDD: diámetro diastólico final del ventrículo izquierdo, LVESD: diámetro sistólico final del ventrículo izquierdo, LVHW: pared posterior del ventrículo izquierdo, IVS: septo inter-ventricular, d: medida diastólica final, FS: acortamiento fraccional (ventrículo izquierdo), LVEF: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, E:A: perfil de efecto sobre la válvula mitral.

	Infarto por cirugía n = 69	Cirugía de simulación n = 34	Valor p
LVEDD (cm)	1,04 ± 0,01	0,84 ± 0,02	< 0,0001
LVESD (cm)	0,87 ± 0,01	0,52 ± 0,02	< 0,0001
LVHW d (cm)	0,17 ± 0,003	0,16 ± 0,004	0,02
IVS d (cm)	0,12 ± 0,01	0,14 ± 0,003	0,39
FS (%)	16,7 ± 0,5	39,3 ± 1,7	< 0,0001
LVEF (%)	38,8 ± 1,1	73,4 ± 2,4	< 0,0001
E (m/s)	0,82 ± 0,02	0,78 ± 0,02	0,19
A (m/s)	0,58 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,05
E:A	1,67 ± 0,10	1,23 ± 0,05	0,01

Fracción de eyección ventricular izquierda y acortamiento fraccional

Con el fin de tener una medida de la contracción de miocardio global (función de bombeo del ventrículo izquierdo) se calculó el acortamiento fraccional (FS) basándose en el diámetro diastólico final y sistólico final del ventrículo izquierdo, y para una determinación del volumen de eyección la fracción de eyección ventricular izquierda (fracción de eyección ventricular izquierda, LVEF).

Por lo general la LVEF era significativamente reducida en los animales con infarto vs a los animales con cirugía de simulación (véase la tabla 5, $p < 0,0001$). El análisis de la LVEF dio lugar a una mejor LVEF de acetato de megestrol novedoso vs placebo ($p = 0,04$), el grupo con acetato de megestrol viejo no difirió de los grupos de placebo ($p = 0,21$), véase la tabla 3. La LVEF que se mejoró en el 5,5 % (valor absoluto, relativo 15,5 %) en el grupo con el acetato de megestrol novedoso dio en ANOVA una diferencia significativa vs al grupo de placebo.

El análisis de la fracción de acortamiento (FS) mostró un comportamiento casi idéntico que para las fracciones de eyección. Los grupos de infarto muestran valores de FS menores en comparación con los animales con cirugía de simulación ($p < 0,0001$), véase la tabla 5. El acetato de megestrol viejo no difirió del grupo de placebo ($p = 0,23$), véase la tabla 3. El acetato de megestrol novedoso da lugar a una fracción de acortamiento mayor y por tanto mejor del 2,7 % en términos absolutos (18,0 % en términos relativos) vs al grupo de placebo ($p = 0,04$). La figura 4 muestra la fracción de eyección del ventrículo izquierdo en los grupos de infarto y los grupos de cirugía de simulación en el

estudio de acetato de megestrol. *** $p < 0,0001$ vs al grupo de infarto correspondiente, # $p < 0,05$ vs infarto-placebo. La figura 5 muestra la segregación normal de la LVEF en los grupos de infarto. El ensayo de Kolmogorov-Smirnov conduce a $p < 0,05$.

Función diastólica

- 5 Para la determinación de la función diastólica se midió el flujo sanguíneo diastólico temprano (E) y tardío (A) desde el atrio izquierdo en el ventrículo usando sonografía Doppler. La relación de E a A (relación E/A) se considera como una medida de la relajación diastólica temprana del miocardio. El valor no dio lugar a diferencias significativas entre los grupos. La comparación general entre los grupos de infarto por cirugía y cirugía de simulación (véase la tabla 5) da un valor significativamente menor y por tanto mejor para los animales con cirugía de simulación ($p = 0,005$).
- 10 En resumen la medida muestra una función cardíaca peor de los animales con infarto en comparación con los animales con simulación. En los grupos de infarto individuales el acetato de megestrol novedoso mejoró la LVEF en el 15,5 % y la FS en el 18,0 % vs al grupo de placebo ($p = 0,04$ cada uno).

Pesos del órgano

- 15 En todos los animales vivos se extrajeron ciertos órganos para posterior análisis. Con idéntica variación respecto al tamaño de infarto se pudo encontrar un peso de corazón significativamente reducido en aquellos animales que se sometieron a terapia usando el acetato de megestrol novedoso, es decir, la hipertrofia cardíaca era menor (véase la tabla 7). Además, el peso de los pulmones en el grupo con el acetato de megestrol novedoso era significativamente menor vs al grupo de placebo. En ambos grupos de acetato de megestrol los pesos absolutos de los riñones así como también el peso absoluto del músculo cuádriceps son significativamente menores en comparación con los grupos de placebo. Los datos para los pesos individuales de órganos se ilustran y analizan a continuación.
- 20

Corazones y pulmones

- 25 En resumen, los grupos de infarto mostraron mayores pesos en comparación con los grupos de cirugía de simulación (figura 8 y tabla 6). La comparación de todos los grupos con infarto con los de cirugía de simulación dio pesos de corazón un 25 % mayores en el grupo de infarto. La figura 6 muestra los pesos absolutos de todos los grupos. Los grupos recibieron placebo, MA viejo y MA novedoso en la toma y de forma opcional furosemida en el agua potable. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,001$ vs al grupo de simulación correspondiente con la misma terapia en la toma, ### $p = 0,0048$ vs acetato de megestrol novedoso.

- 30 Debido a que el tamaño de cuerpo juega un importante papel el peso del corazón se relaciona con el mismo y se da en mg por 100 g de peso corporal. Incluso tras la relativización los animales con infarto aún presentan un peso relativo de corazón un 23 % mayor, en comparación con los animales con cirugía de simulación (véase la tabla 6). Se encontró una correlación significativa del peso del corazón con el tamaño del infarto (peso de corazón y tamaño de infarto: $R = 0,23$, $p = 0,02$; peso de corazón relativo y tamaño de infarto: $R = 0,30$, $p = 0,002$).

Tabla 6: pesos de corazón y pulmón de animales con infarto por cirugía y cirugía de simulación al final del periodo de observación. ¹Cirugía de simulación $n = 34$.

	Infarto por cirugía $n = 73$	Cirugía de simulación $n = 35$	Valor p
Peso del corazón (mg)	$280 \pm 7,6$	$224 \pm 5,2$	$< 0,0001$
Atrio derecho (mg)	$67 \pm 4,6$	$40 \pm 1,9$	0,0002
Atrio izquierdo (mg)	$67 \pm 4,3$	$33 \pm 1,1$	$< 0,0001$
Ventrículo derecho (mg)	$276 \pm 13,9$	$208 \pm 5,8$	0,0011
Ventrículo izquierdo (mg)	$640 \pm 11,4$	$589 \pm 13,7$	0,0093
Peso del pulmón (mg) ¹	2075 ± 92	1720 ± 23	0,0109

La comparación de las partes individuales del corazón también mostraba partes significativamente más pesadas en los grupos de infarto en comparación con los animales con cirugía de simulación para el atrio del corazón y cámaras de corazón así como también para los pesos del pulmón (tabla 6).

5 La comparación de los pesos de corazón relativos entre los grupos de infarto individuales se muestra en la figura 7. Estadísticamente, no hay diferencias entre los diferentes grupos de infarto (ANOVA $p = 0,52$). Adicionalmente las diferencias en el peso de corazón absoluto (figura 6), atrio izquierdo y ventrículo derecho entre los grupos de infarto individuales y entre los grupos de cirugía de simulación individuales no son significativas (todos $p > 0,01$). Sin embargo el peso de corazón absoluto en el grupo de infarto con acetato de megestrol novedoso (con furosemida) es significativamente menor que en el grupo de infarto-placebo sin furosemida (ensayo de Mann-Whitney $p = 0,0048$).
10 La figura 7 muestra los pesos de corazón relativos de todos los grupos. Todos los grupos de infarto ilustrados con furosemida, grupos de simulación sin furosemida. ** $p < 0,01$ vs grupo de simulación correspondiente. La figura 8 muestra los pesos de corazón relativos de animales con infarto (con furosemida) y con cirugía de simulación (sin furosemida). **** $p < 0,0001$ vs cirugía de simulación.

15 **Tabla 7:** valores medios de pesos de corazón y pulmón de los grupos de infarto al final del periodo de observación. Valores significativos vs placebo se indican con * ($p < 0,05$), vs acetato de megestrol viejo con # ($p < 0,05$).

	Infarto-placebo n = 23	Infarto-MA viejo n = 24	Infarto-MA novedoso n = 27
Peso del corazón (mg)	1563 ± 89	1481 ± 58	1431 ± 62
Peso del corazón rel. (mg/100 g Kg)	267 ± 13	283 ± 11	287 ± 14
Atrio derecho (mg)	78 ± 11	67 ± 6	57 ± 6*
Atrio izquierdo (mg)	72 ± 7	70 ± 8	59 ± 8
Ventrículo derecho (mg)	294 ± 31	291 ± 24	249 ± 18
Ventrículo izquierdo (mg)	683 ± 24	624 ± 20*	622 ± 14*
Peso del pulmón (mg) ¹	2238 ± 189	2246 ± 183	1778 ± 81*#
Peso del pulmón rel. (mg/100g Kg)	384 ± 30	429 ± 34	357 ± 18#

En relación al grupo de infarto-placebo el peso del atrio derecho en el grupo de infarto que fue tratado con el acetato de megestrol novedoso se reduce ($p = 0,02$). En ambos grupos de infarto-acetato de megestrol el ventrículo izquierdo muestra un peso final reducido (acetato de megestrol viejo vs placebo $p = 0,03$, acetato de megestrol novedoso vs placebo $p = 0,02$). El peso del pulmón se ve aumentado en los grupos de infarto con placebo y acetato de megestrol viejo vs acetato de megestrol novedoso ($p = 0,01$ acetato de megestrol novedoso vs placebo y $p = 0,01$ acetato de megestrol novedoso vs viejo), véase la tabla 7. En la relativización del peso del pulmón a peso corporal el resultado vs placebo no es más significativo (acetato de megestrol novedoso vs placebo: $p = 0,45$). La relativización sin embargo confirmó el peso de pulmón creciente en el grupo con acetato de megestrol viejo vs acetato de megestrol novedoso ($p = 0,04$).

25 **Resultados** **Progresión del peso**

El aumento de peso en ambos grupos de infarto-acetato de megestrol se redujo de forma significativa vs al grupo de infarto-placebo ($p < 0,0001$). Estos resultados son acordes con estudios que reportaron un aumento de peso reducido con terapia de acetato de megestrol en ratas macho [Engelson ES, Pi-Sunyer FX, Kotler DP. Effects of Megestrol Acetate and Testosterone on body composition in castrated male Sprague-Dawley rats. Nutrition 1999; 15: 465-473, Williamson PS, Browning JD, MacDonald RS. Megestrol acetate increases short-term food intake in zinc-deficient rats. Physiol Behav 2002; 75: 323-330, Browning JD, MacDonald RS, Thornton WH. Reduced food intake in zinc deficient rats is normalized by megestrol acetate but not by insulin-like growth factor-I. J Nutr 1998; 128: 136-142]. Tissel y col. [Tissel LE, Salander H. Androgenic properties and adrenal depressant activity of megestrol acetate observed in castrated male rats. Acta Endocrinol 1975; 78: 316-324] encontraron una ingesta de alimento no modificada, otros autores demuestran una mayor ingesta de alimento con terapia de acetato de megestrol [Williamson PS, Browning JD, MacDonald RS. Megestrol acetate increases short-term food intake in zinc-deficient

rats. *Physiol Behav* 2002; 75: 323-330, McCarthy HD, Crowder RE, Dryden S, Williams G. Megestrol acetate stimulates food and water intake in the rat: effects on regional hypothalamic neuropeptide Y concentrations. *Eur J Pharm* 1994; 265: 99-102, Browning JD, MacDonald RS, Thornton WH. Reduced food intake in zinc deficient rats is normalized by megestrol acetate but not by insulin-like growth factor-I. *J Nutr* 1998; 128: 136-142].

- 5 Las progresiones del peso de los grupos de infarto (todos con furosemida) no son diferentes en comparación con los grupos de cirugía de simulación correspondientes. Ya que la formación de edema debido a la aplicación de furosemida es poco probable (confirmado subjetivamente durante los experimentos) puede considerarse que no se ha desarrollado caquexia debido a la insuficiencia cardiaca.

Ecocardiografía y peso del corazón

- 10 Los presentes resultados de la ecocardiografía muestran crecientes paredes posteriores más gruesas de ventrículos y una función cardiaca significativamente reducida en los animales con infarto en comparación con los animales con cirugía de simulación (véase también la tabla 3). Esto verifica la presencia de una insuficiencia cardiaca en animales con infarto y confirma los resultados de otros estudios [Takahashi K, Ito Y, Morikawa M, y col. Adeno viral-delivered angiopoietin-1 reduces infarction and attenuates the progression of cardiac dysfunction the rat model of acute myocardial infarction. *Mol Ther* 2003; 9: 584-592, Cittadini A, Monti MG, Isgaard J. Aldosterone receptor blockade improves left ventricular remodeling and increases ventricular fibrillation. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 555-564, Francis J, Weiss RM, Wie SG, y col. Progression of heart failure after myocardial infarction in the rat. *Am J Phys-Reg* 12001. 281; RI 734-1745].

- 20 Con la terapia de acetato de megestrol se pudo encontrar una mejora de la función cardiaca. En comparación con placebo tras la terapia con acetato de megestrol novedoso, la LVEF así como también la FS se mejoraron de forma significativa según la ecocardiografía en un 15 y 19 %, respectivamente. Usando el acetato de megestrol viejo, la mejora de la función cardiaca era sólo ligeramente menor que con el acetato de megestrol novedoso. En comparación con placebo la LVEF en terapia con acetato de megestrol viejo aumentaba en un 10 % y la FS en 11 % (tabla 3), pero ambos resultados no eran estadísticamente significativos ($p = 0,21$ y $p = 0,23$, respectivamente).
- 25 Debido a que el acetato de megestrol se usa por vez primera en un estudio animal en cardiología no hay estudios comparativos disponibles. Sin pretender ligarse a teoría alguna, la inhibición de IL-6 podría ser responsable de la mejor función cardiaca.

- 30 Además de los parámetros determinados por ecocardiografía para la función cardiaca también el peso del corazón puede ser un factor adicional de la presencia y la gravedad de una insuficiencia cardiaca. Como una compensación en insuficiencia cardiaca tiene lugar una hipertrofia de miocardio, y la pared del músculo es por tanto más pesada. El peso significativamente menor del ventrículo izquierdo, la zona de infarto principal, parece apuntar a una mejor función cardiaca en ambos grupos de infarto-acetato de megestrol. Los tamaños del infarto no diferían entre los grupos de terapia. Además, un menor peso de pulmón y un atrio derecho más pequeño en el grupo con acetato de megestrol novedoso son indicadores de una mejor función del corazón.

35 Ejemplo 2: estudio de furosemida

- El grupo de infarto-furosemida corresponde al grupo de infarto-placebo ciego del estudio de acetato de megestrol (aquí: grupo de infarto-furosemida). Un grupo de infarto por cirugía adicional recibió agua potable sin furosemida y sirvió como grupo de control para el estudio de furosemida (aquí: grupo de infarto-placebo). Con el fin de exponer todos los animales a iguales condiciones a este grupo del estudio de furosemida se le administró placebo. Un grupo adicional es el grupo de simulación-placebo, que corresponde al grupo de simulación-placebo ciego del estudio de acetato de megestrol (aquí: grupo de simulación-placebo).

Progresión del peso

- Al igual que el estudio de acetato de megestrol se compararon los valores del peso que corresponde al día posterior a la cirugía del animal respectivo, pero esta vez los datos se analizaron como un cambio de peso a partir del comienzo de la terapia del estudio de furosemida (18° día tras la cirugía = día 0 del estudio de furosemida). Por tanto esto resultó en un periodo de 26 días de observación para el estudio de diurético en comparación con el estudio de acetato de megestrol. La furosemida se administró hasta el final del periodo de observación y hasta la extracción de órganos, respectivamente.

- 50 Al comienzo del estudio de diurético (día 18 tras la cirugía $\pm 0,1$) los animales presentaban un peso medio de 322 ± 3 g [$n = 33$] en el grupo de infarto-furosemida y 328 ± 4 g [$n = 33$] en el grupo de infarto-placebo, respectivamente, y 329 ± 4 g [$n = 12$] en el grupo de cirugía de simulación. Al final del periodo de observación los animales de infarto-

furosemida ganaron peso en un 81 % (583 ± 12 g, n = 23), los animales de infarto-placebo en un 88 % (618 ± 10 g, [n = 30]), y los animales de cirugía de simulación en un 72 % (566 ± 17 g [n = 11]).

5 La figura 9 muestra el cambio medio de peso con desviación habitual. Todos los grupos ilustrados recibieron placebo en la toma. Se puede encontrar significancia ¹A (indicada con * para p < 0,05) a partir del día 105 para infarto-furosemida vs infarto-placebo. ²El análisis solo contenía animales que sobrevivieron hasta el final del estudio: infarto-furosemida: 23 de 39, infarto-placebo 30 de 33, simulación-placebo 12 de 12.

10 Los cambios de peso de las cohortes de ensayo de infarto por cirugía que se trataron con furosemida y placebo (agua potable), respectivamente, se ilustran en toda la duración de la terapia en la figura 9. A título comparativo, los animales con cirugía de simulación que se trataron con placebo se ilustran también en la figura 9. El último presenta una progresión de peso significativamente reducida en comparación con los animales con infarto sin diurético (p = 0,0021).

En los dos grupos de infarto se puede encontrar un aumento de peso en todo el periodo de tiempo. El grupo de furosemida mostró un progreso menos pronunciado en comparación con el grupo de placebo con infarto que comienza el día 105 tras el comienzo de la terapia, esta diferencia es significativa (figura 9).

15 A la vista de todo el periodo de tiempo los animales de infarto-placebo con 1,5 g/día mostraron el mayor aumento de peso, seguido del grupo de infarto-furosemida con 1,4 g/día y de los animales con cirugía de simulación con 1,3 g/día. En los animales sin diurético, se apreciaron subjetivamente edemas, que podrían explicar el mayor aumento de peso.

Ecocardiografía

20 Entre los grupos de infarto-cirugía con y sin furosemida no pudieron encontrarse diferencias en los parámetros determinados por ecocardiografía. Los parámetros de función cardiaca ecocardiográficos LVEF y FS para ambos grupos de infarto eran peores vs al grupo de cirugía de simulación (p < 0,0001, véase la tabla 8).

25 **Tabla 8:** parámetros determinados por ecocardiografía para los grupos del estudio de furosemida (todos los grupos indicados con placebo en la toma). El grupo de infarto-furosemida recibió furosemida con el agua potable, ambos grupos de placebo indicados recibieron agua potable sin suplementos. LVEDD: diámetro diastólico final del ventrículo izquierdo, LVESD: diámetro sistólico final del ventrículo izquierdo, LVHW: pared posterior del ventrículo izquierdo, IVS: septo inter-ventricular, d: medida diastólica final, FS: acortamiento fraccional (ventrículo izquierdo), LVEF: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, E:A: perfil de efecto sobre la válvula mitral. Se indican valores significativos vs simulación-placebo con **** para p < 0,0001.

	Simulación-placebo n = 10	Infarto-furosemida n = 20	Infarto-placebo n = 30
LVEDD (cm)	0,83 ± 0,02	1,06 ± 0,02 ****	1,06 ± 0,01 ****
LVESD (cm)	0,45 ± 0,04	0,90 ± 0,02 ****	0,89 ± 0,02 ****
LVHW d (cm)	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,004
IVS d (cm)	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,10 ± 0,004
FS (%)	41,1 ± 3,0	15,1 ± 1,0 ****	15,8 ± 0,7 ****
LVEF (%)	75,8 ± 4,0	35,5 ± 2,0 ****	37,0 ± 1,4 ****
E (m/s)	0,78 ± 0,04	0,84 ± 0,03	0,78 ± 0,03
A (m/s)	0,60 ± 0,05	0,62 ± 0,05	0,49 ± 0,04
E:A	1,39 ± 0,16	1,61 ± 0,21	1,85 ± 0,14

30 Progresión del peso

En el estudio de furosemida el mayor aumento de peso se encontró en el grupo de infarto placebo (sin furosemida) (p < 0,05 comenzando en el día 105 vs grupo de infarto con furosemida y p = 0,0021 vs grupo de placebo simulado).

Ecocardiografía

Los resultados muestran que furosemida no presenta efecto directo sobre la función cardiaca determinada ecocardiográficamente.

REIVINDICACIONES

1. Uso de acetato de megestrol microcristalino (Megacel®) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente con adyuvantes y aditivos apropiados para la producción de un medicamento para la mejora de la función cardíaca y/o el tratamiento de insuficiencia cardíaca crónica.
- 5 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la insuficiencia cardíaca crónica resulta de una cardiomiopatía.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la insuficiencia cardíaca crónica resulta de una cardiomiopatía debida a infarto de miocardio.
- 10 4. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el medicamento se aplica por vía oral.
5. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en una dosificación de entre 30 mg/d y 2000 mg/d, preferiblemente de entre 100 mg/d y 1600 mg/d, lo más preferiblemente de 300 a 800 mg/d.
- 15 6. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en una dosificación de entre 4 y 15 mg/kg/d.
- 20 7. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en combinación con fármacos usados de forma habitual en insuficiencia cardíaca crónica seleccionados de un diurético, un vasodilatador, digitálicos, un inhibidor de ACE, un antagonista del receptor de la angiotensina II, un bloqueador beta, un antagonista de aldosterona, antagonista del receptor de la endotelina, un inhibidor de xantina oxidasa, una estatina (un inhibidor de la HMG-CoA reductasa) y/o resinas de ácido biliar, inhibidores de la absorción de colesterol, ácido nicotínico, y derivados de ácido fólico.
- 25 8. Uso de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque el diurético es furosemida.
- 30 9. Composición que comprende acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con fármacos usados de forma habitual en insuficiencia cardíaca crónica seleccionados de un diurético, un vasodilatador, digitálicos, un inhibidor de ACE, un antagonista del receptor de la angiotensina II, un bloqueador beta, un antagonista de aldosterona, antagonista del receptor de la endotelina, un inhibidor de xantina oxidasa, una estatina (un inhibidor de la HMG-CoA reductasa) y/o resinas de ácido biliar, inhibidores de la absorción de colesterol, ácido nicotínico, y derivados de ácido fólico.
10. Composición de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque el diurético es furosemida.
11. Acetato de megestrol microcristalino para uso en la mejora de la función cardíaca y/o el tratamiento de insuficiencia cardíaca crónica en un mamífero.
- 35 12. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con la reivindicación 11, en la que dicho mamífero es un ser humano.
13. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 ó 12, en la que dicha insuficiencia coronaria crónica resulta de una cardiomiopatía.
14. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con la reivindicación 13, en la que dicha insuficiencia coronaria crónica resulta de una cardiomiopatía debida a infarto de miocardio.
- 40 15. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, en la que dicho tratamiento comprende la administración por vía oral de una cantidad efectiva de acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
16. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15, en la que dicho acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en una dosificación

de entre 30 mg/d y 2000 mg/d, preferiblemente de entre 100 mg/d y 1600 mg/d, lo más preferiblemente de 300 a 800 mg/d.

5 17. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15, en la que dicho acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en una dosificación de entre 4 y 15 mg/kg/d.

10 18. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 17, en donde dicho acetato de megestrol microcristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se aplica en combinación con fármacos usados de forma habitual en insuficiencia cardíaca crónica seleccionados de un diurético, un vasodilatador, digitálicos, un inhibidor de ACE, un antagonista del receptor de la angiotensina II, un bloqueador beta, un antagonista de aldosterona, antagonista del receptor de la endotelina, un inhibidor de xantina oxidasa, una estatina (un inhibidor de la HMG-CoA reductasa) y/o resinas de ácido biliar, inhibidores de la absorción de colesterol, ácido nicotínico, y derivados de ácido fíbrico.

19. Acetato de megestrol microcristalino de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho diurético es furosemida.

Figura 1

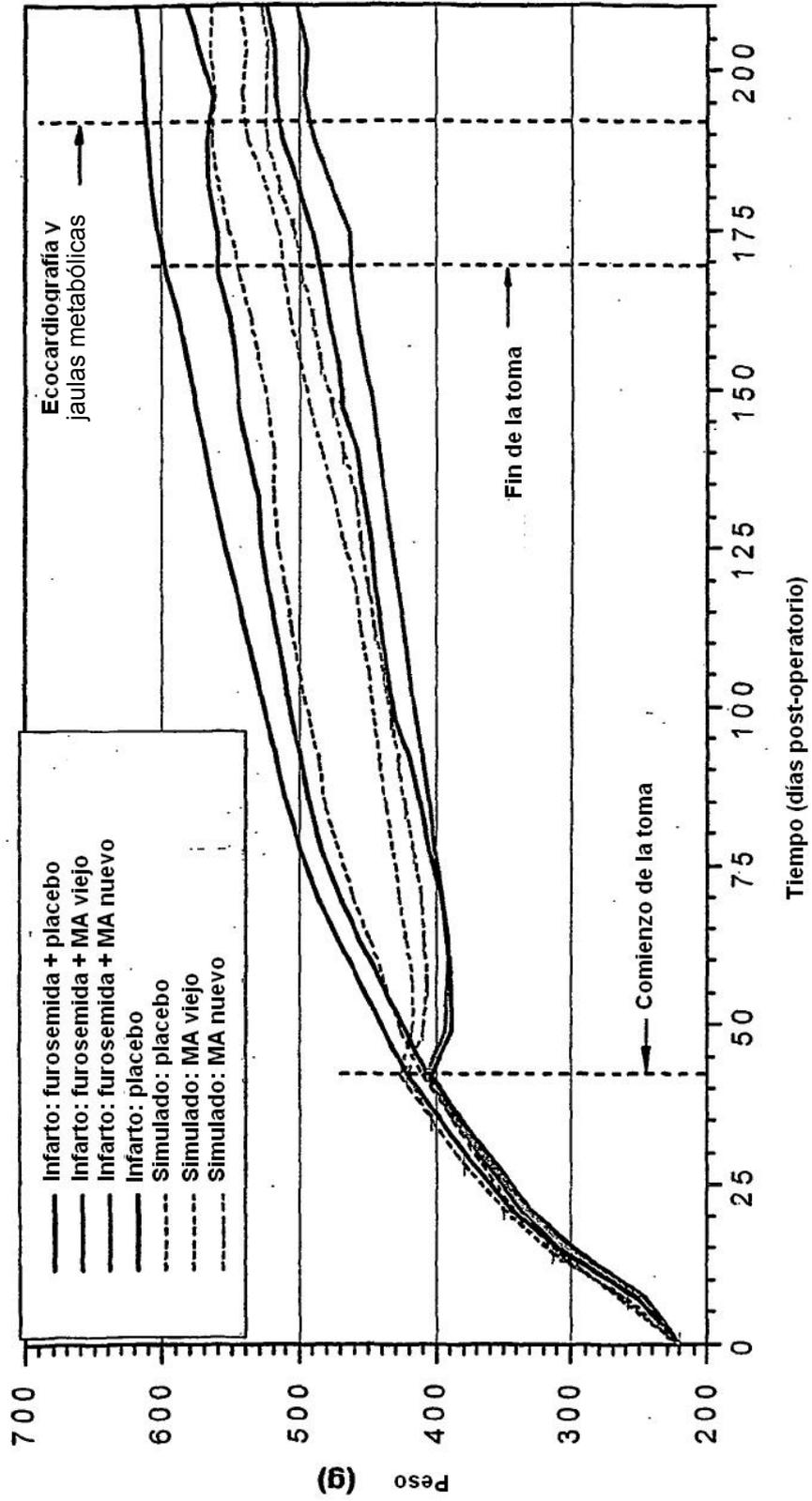


Figura 2

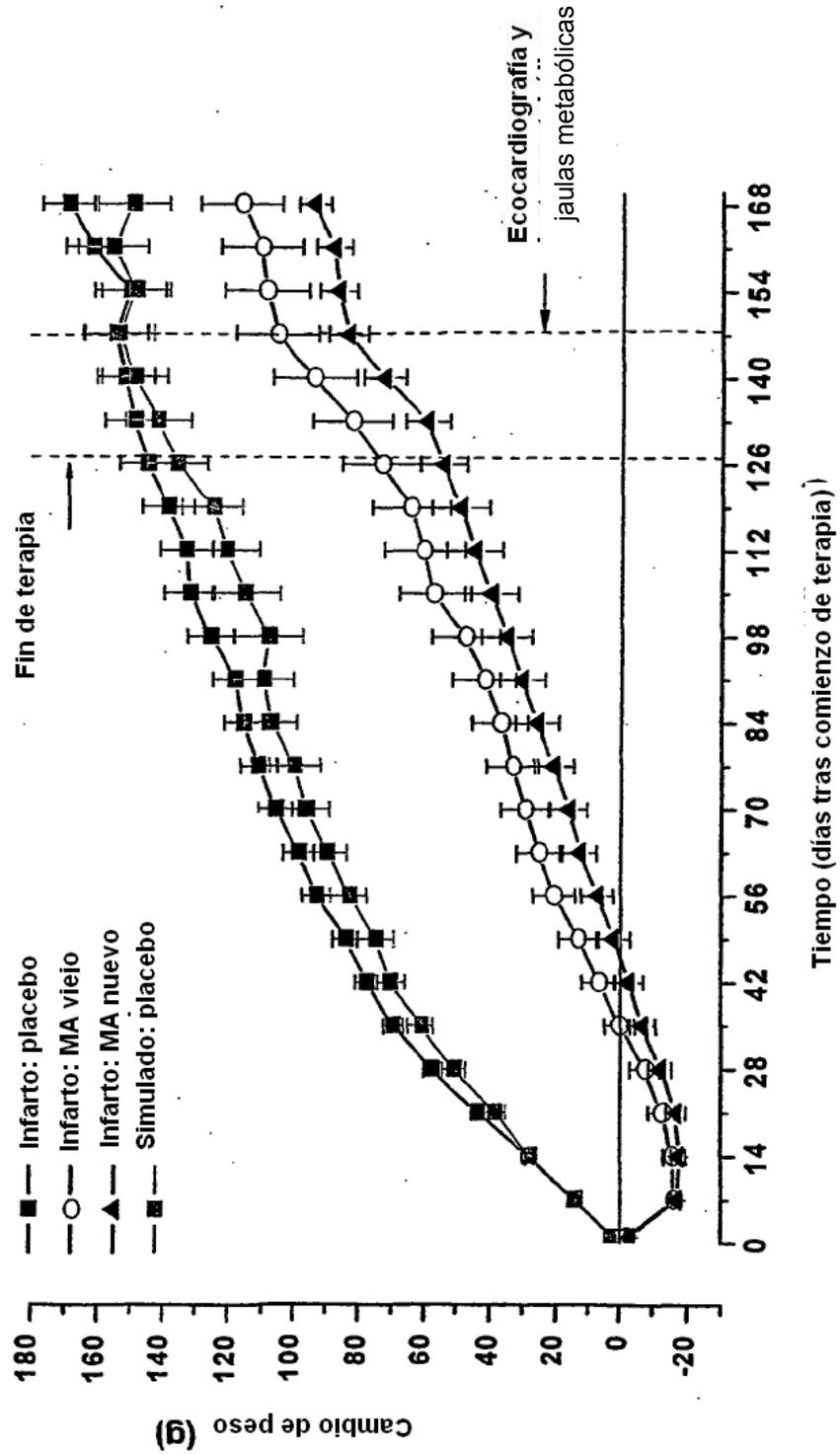


Figura 3

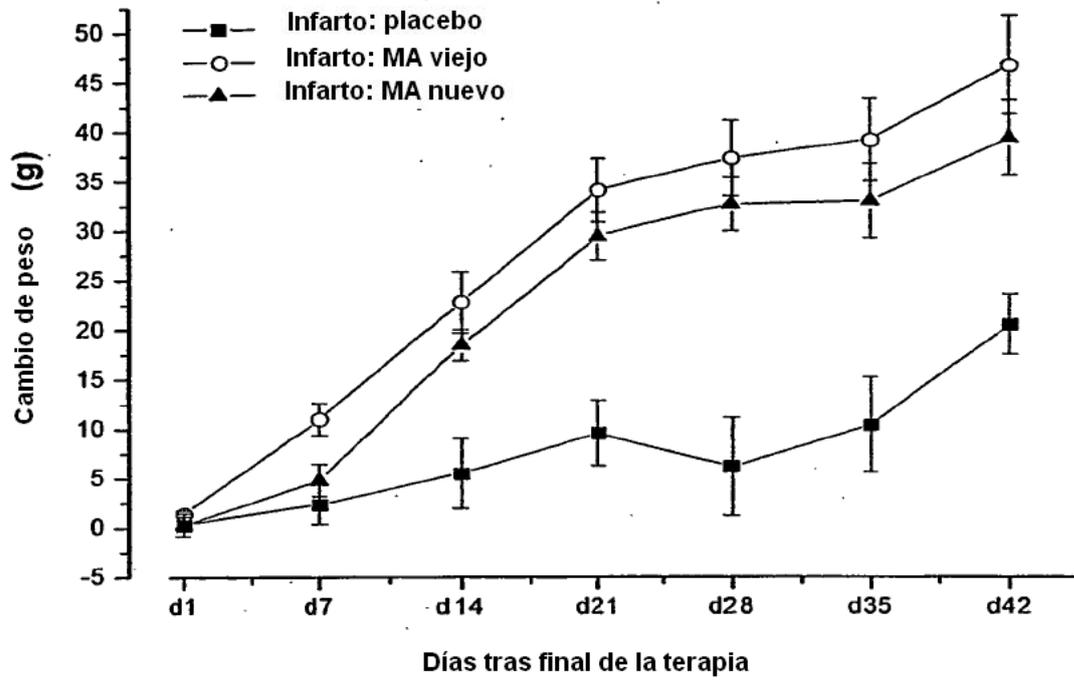


Figura 4

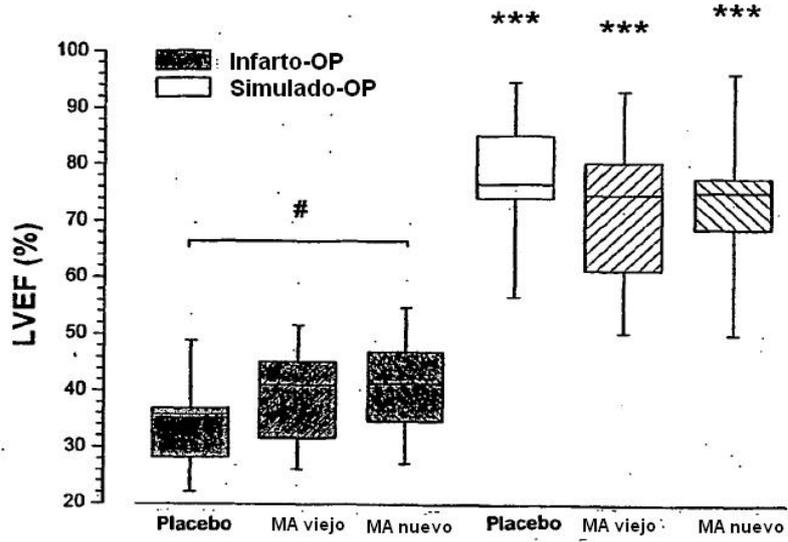


Figura 5

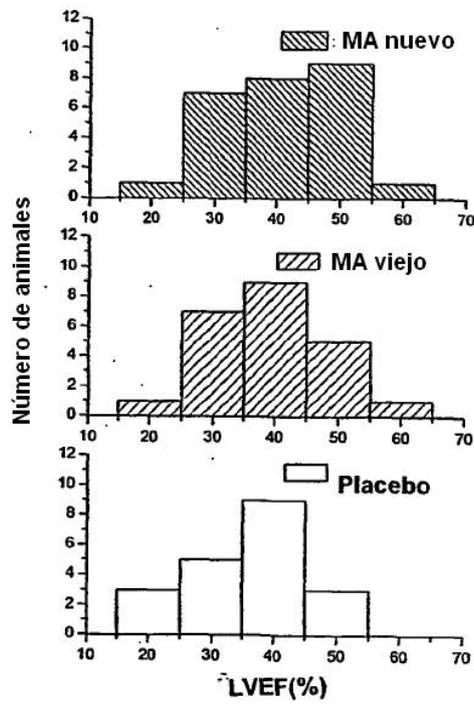


Figura 6

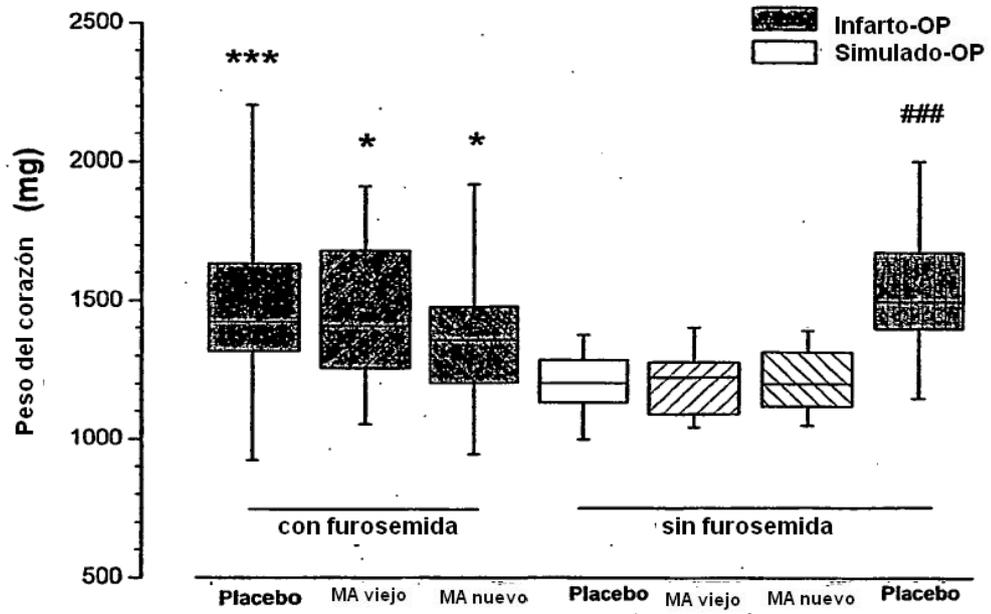


Figura 7

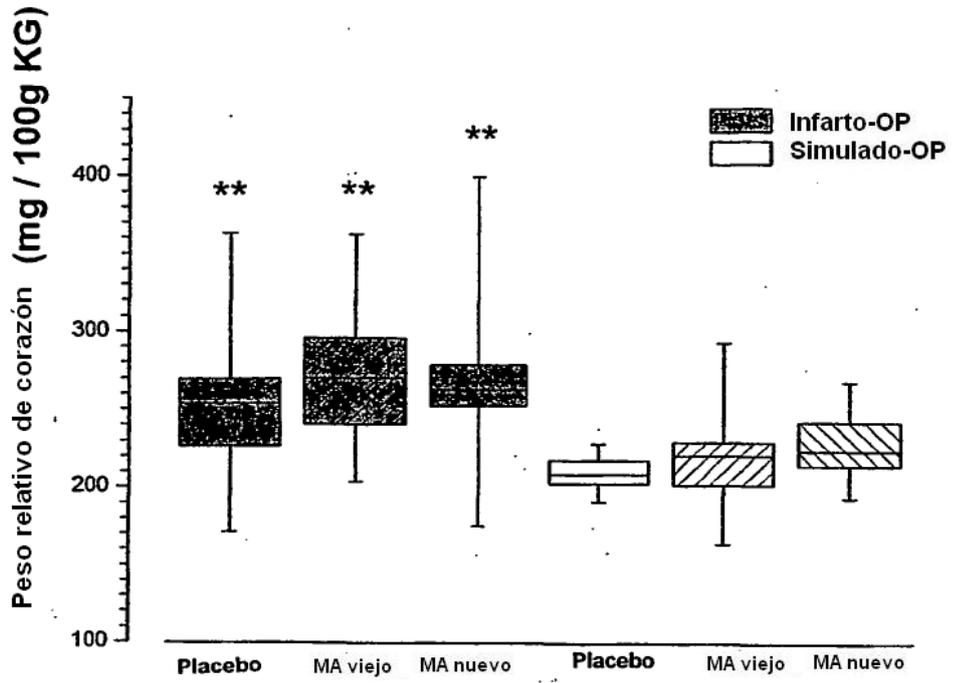


Figura 8

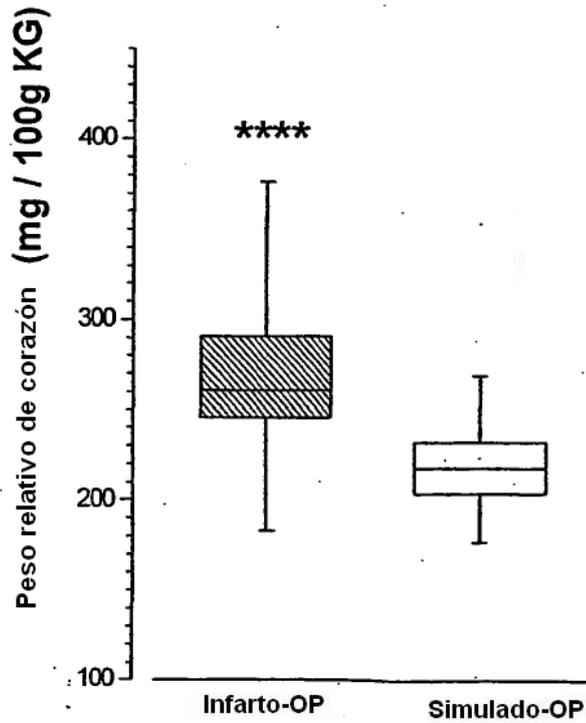


Figura 9

