

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 439 455**

51 Int. Cl.:

A61K 38/28 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.08.2006 E 06789148 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2013 EP 1915171**

54 Título: **Procedimiento de preservar la función de las células productoras de insulina**

30 Prioridad:

01.08.2005 US 704295 P

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

23.01.2014

73 Titular/es:

**MANKIND CORPORATION (100.0%)
28903 NORTH AVENUE PAINE
VALENCIA, CA 91355, US**

72 Inventor/es:

**BOSS, ANDERS HASAGER;
CHEATHAM, WAYMAN WENDELL y
DIAMOND, DAVID C.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 439 455 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

Procedimiento de preservar la función de las células productoras de insulina

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a procedimientos para disminuir la tensión pancreática y para prolongar el ciclo de vida de las células productoras de insulina que tienen trastornos relacionados con la insulina en los que existe una liberación inadecuada de insulina en una fase temprana a pesar de una capacidad para producir insulina.

10

Antecedentes de la invención

Actualmente, la diabetes mellitus (en lo sucesivo en el presente documento diabetes) afecta al menos a 200 millones de personas en todo el mundo. Los dos principales subtipos de diabetes incluyen los tipos 1 y 2. La diabetes de tipo 1 representa aproximadamente el 10 % de los 200 millones de afectados por diabetes. La diabetes de tipo 1 está causada por la destrucción autoinmunitaria de las células β secretoras de insulina en los islotes de Langerhans del páncreas. La diabetes de tipo 2 es la causa del 90 % restante de los individuos afectados y su índice de prevalencia va en aumento. A menudo, aunque no siempre, la diabetes de tipo 2 está asociada con obesidad y aunque antes se denominaba diabetes de inicio tardío o de inicio en la edad adulta, ahora es cada vez más prevalente en individuos más jóvenes. La diabetes de tipo 2 se debe a una combinación de resistencia a la insulina y una secreción inadecuada de insulina.

15

20

El papel fisiológico de la insulina

En individuos normales no sometidos a estrés, los niveles basales de glucosa tenderán a permanecer iguales de un día a otro por un bucle de retroalimentación intrínseca. Cualquier tendencia de la concentración en plasma de la glucosa a aumentar se contrarresta por un incremento en la secreción de insulina y una supresión de la secreción de glucagón, que regulan la producción de glucosa en el hígado (gluconeogénesis y liberan glucógeno de las reservas) y la captación de glucosa por los tejidos para mantener constante la concentración plasmática de la glucosa. Si el individuo aumenta de peso o se hace resistente a la insulina por cualquier otra razón, los niveles de glucosa en sangre aumentarán, lo que tendrá como resultado un incremento de la secreción de insulina para compensar la resistencia a la insulina. Por tanto, la glucosa y los niveles de insulina se modulan para minimizar los cambios en estas concentraciones al tiempo que se mantienen una producción y uso de glucosa relativamente normales.

25

30

35

40

45

Se han identificado cinco fases diferentes de la secreción de insulina. (1) secreción basal de insulina, en la que la insulina se libera en el estado postabsorción; (2) la fase cefálica, en la que la secreción de insulina es desencadenada por la vista, el olor y el tacto de alimentos antes de que el intestino absorba los nutrientes y mediada por la inervación pancreática; (3) secreción de insulina de primera fase, en la que se libera una descarga inicial de insulina a los 5-10 minutos de que la célula β haya estado expuesta a un rápido incremento de la glucosa u otros secretagogos; (4) secreción de insulina de segunda fase, en la que los niveles de insulina se elevan de un modo más gradual y están relacionados con el grado y la duración del estímulo y (5) una secreción de insulina de tercera fase, que solo se ha descrito *in vitro*. Durante estas etapas se secreta insulina, como muchas otras hormonas, de un modo pulsátil, lo que tiene como resultado concentraciones oscilantes en la sangre. Las oscilaciones incluyen pulsos rápidos (que se producen cada 8-15 minutos) superpuestos sobre oscilaciones más lentas (que se producen cada 80-120 minutos) relacionados con fluctuaciones en la concentración de glucosa en sangre.

La secreción de insulina puede estar inducida por otros sustratos energéticos además de la glucosa (en particular por aminoácidos), así como por hormonas y fármacos. Cabe destacar que la respuesta a la insulina observada tras la ingesta de alimentos no puede deberse únicamente al incremento de los niveles de glucosa en sangre, sino que también depende de otros factores tales como la presencia de ácidos grasos libres y otros secretagogos en los alimentos, la fase cefálica activada neuralmente y las hormonas gastrointestinales.

50

Cuando se administra a un individuo glucosa intravenosa se observa una respuesta bifásica de la insulina, que incluye un rápido incremento con un máximo, un mínimo entre picos y una fase posterior de incremento más lento. Esta respuesta bifásica solo se observa cuando la concentración de glucosa aumenta rápidamente, como después de un bolo de glucosa o de una infusión de glucosa. Un incremento más lento de la administración de glucosa, que se observa en condiciones fisiológicas, induce un incremento gradual de la secreción de insulina sin la respuesta bifásica bien definida observada en respuesta a una infusión o bolo de glucosa.

55

La modelización de las respuestas de primera fase de la insulina en condiciones fisiológicas normales ha demostrado que, después de una comida, la concentración de glucosa aumenta de un modo más gradual (la $C_{m\acute{a}x}$ se alcanza en aproximadamente 20 minutos) que la observada con inyecciones en bolo intravenoso de glucosa (la $C_{m\acute{a}x}$ se alcanza en aproximadamente 3-10 minutos).

60

Las células β pancreáticas sanas generan una respuesta temprana a una exposición a glucosa de tipo comida que eleva rápidamente la insulina en suero tanto en la circulación portal como en la periferia. Por el contrario, las células

65

β defectuosas, que tienen alterada la respuesta de primera fase de la insulina, generan una vaga respuesta a la exposición a glucosa de tipo comida.

Cada vez hay más pruebas que indican que una respuesta relativamente rápida de la insulina tras la ingesta de glucosa desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa posprandial. Un pico temprano de la concentración de insulina puede limitar las oscilaciones iniciales de la glucosa, principalmente mediante la inhibición de la producción de glucosa endógena. Por tanto, cabe esperar que la inclusión de una respuesta rápida de la insulina en un individuo diabético produzca una homeostasis mejorada de la glucosa en sangre.

En un individuo normal, una comida induce la secreción de una descarga de insulina, lo que genera un pico relativamente rápido de la concentración en suero de la insulina que después decae relativamente rápido (véase la Figura 1). Esta respuesta de la insulina de fase temprana es responsable del apagado, o reducción, de la liberación de glucosa en el hígado. Los mecanismos homeostáticos coinciden con la secreción de insulina (y los niveles de insulina en suero) por la carga de glucosa. Esto se observa como una lenta disminución de los niveles séricos modestamente elevados de insulina hasta los niveles basales y sigue una cinética de segunda fase.

Diabetes

Una característica fundamental de la diabetes es la alteración de la función de las células β . Una anomalía que se produce pronto en la progresión de la enfermedad en la diabetes tanto de tipo 1 como de tipo 2 es la pérdida de una respuesta rápida de la insulina inducida por la comida. En consecuencia, el hígado continúa produciendo glucosa, que se añade a la glucosa que se ingiere y absorbe a partir de los componentes básicos de una comida.

Normalmente, los diabéticos de tipo 2 exhiben una respuesta retardada a los incrementos de los niveles de glucosa en sangre. Aunque los individuos normales suelen comenzar a liberar insulina en 2-3 minutos tras el consumo del alimento, los diabéticos de tipo 2 pueden no secretar insulina endógena hasta que la concentración de glucosa comienza a aumentar y, después, con una cinética de segunda fase, es decir una lenta elevación hasta llegar a una concentración estable extendida. Como resultado no se apaga la producción de glucosa endógena y continúa reas el consumo, y el paciente experimenta hiperglucemia (niveles elevados de glucosa en sangre). Otra característica de la diabetes de tipo 2 es la alteración de la acción de la insulina, que se denomina resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina se manifiesta como una reducción del índice de eliminación máxima de la glucosa (IEG_{máx}) y un incremento de la concentración de la insulina que se necesita para llegar a la IEG_{máx}. Por tanto, para manejar una carga de glucosa dada se requiere más insulina y dicho incremento de la concentración de insulina se debe mantener durante un periodo de tiempo más prolongado. En consecuencia, el paciente diabético también está expuesto a concentraciones elevadas de glucosa durante periodos de tiempo prolongados, lo que agrava todavía más la resistencia a la insulina. Adicionalmente, los propios niveles elevados prolongados de glucosa en sangre son tóxicos para las células β

La diabetes de tipo 1 se produce como resultado de la destrucción de las células productoras de insulina del páncreas (células β) por el propio sistema inmunológico del cuerpo. En última instancia, esto tiene como resultado una deficiencia completa de la hormona insulina. No obstante, durante el periodo inmediatamente posterior al inicio, la mayoría de los pacientes pasan por una fase de "luna de miel". Aunque se ha perdido la liberación de insulina en fase temprana, las células β restantes siguen funcionando y producen alguna insulina, que se libera según una cinética de segunda fase. Dado que incluso una función parcial de las células β puede ser crucial a la hora de evitar muchas de las complicaciones a largo plazo de la diabetes, uno de los puntos de atención de la investigación actual sobre la diabetes es la conservación de la función de estas células β residuales.

La diabetes de tipo 2 surge por circunstancias diferentes y menos conocidas. La pérdida precoz de la liberación de insulina de fase temprana, y la consiguiente liberación continua de glucosa, contribuye a concentraciones elevadas de glucosa. Los niveles altos de glucosa estimulan la resistencia a la insulina y la resistencia a la insulina genera elevaciones prolongadas de la concentración de glucosa en suero. Esta situación puede conducir a un ciclo autoamplificador en el que cualquier concentración mayor de insulina es menos efectiva en el control de los niveles de glucosa. Además, como se ha indicado anteriormente, los niveles elevados de glucosa son tóxicos para las células β y reducen el número de células β funcionales. Los defectos genéticos que alteran el crecimiento o el mantenimiento de la microvasculatura que nutre los islotes también pueden desempeñar un papel en su deterioro (Clee, S.M., y col., Nature Genetics 38:688-693, 2006). En última instancia, el páncreas se ve superado y el individuo progresa y desarrolla una deficiencia de insulina similar a la de las personas con diabetes de tipo 1.

Tratamiento

La terapia con insulina es el tratamiento estándar para la diabetes de tipo 1, ya que se identifican pocos pacientes en la fase de luna de miel. Aunque la diabetes de tipo 2 incipiente se puede tratar con dieta y ejercicio, la mayoría diabéticos de tipo 2 en estadio temprano, actualmente se trata con agentes antidiabéticos orales pero con un éxito limitado. Los pacientes generalmente pasan a recibir tratamiento con insulina a medida que la enfermedad progresa. No obstante, estos tratamientos no representan una cura.

Las modalidades actuales de tratamiento con insulina pueden complementar o sustituir a la insulina producida de forma endógena para proporcionar perfiles basales y de tipo de segunda fase pero no imitan la cinética de primera fase (véase la Figura 2). Adicionalmente, el tratamiento con insulina convencional solo implica una o dos inyecciones al día de insulina. No obstante, un tratamiento más intenso, como tres o más administraciones al día, que
 5 proporcionen un mejor control de los niveles de glucosa en sangre, es claramente beneficioso (véase, por ejemplo, Nathan, D.M., y col., N Engl J Med 353:2643-53, 2005), pero muchos pacientes son reticentes a aceptar las inyecciones adicionales.

Hasta recientemente, la inyección subcutánea (s.c.) ha sido la única vía de liberación de insulina en pacientes con diabetes tanto de tipo 1 como de tipo 2. No obstante, la administración s.c. de insulina no conduce a una farmacodinámica óptima para la insulina administrada. La absorción en sangre (incluso con análogos de insulina de acción rápida) no imita el patrón de secreción de insulina fisiológico prandial de un pico rápido de la concentración en suero de insulina. Asimismo, las inyecciones subcutáneas rara vez son ideales a la hora de proporcionar insulina a los diabéticos de tipo 2 y en realidad pueden empeorar la acción de la insulina por un inicio de la acción retardado,
 10 variable y superficial. Sin embargo, se ha demostrado que si la insulina se administra por vía intravenosa con una comida, los diabéticos de tipo 2 en estadio temprano experimentan el apagado de la liberación de glucosa hepática y exhiben un incremento del control fisiológico de la glucosa. Además, sus niveles de ácidos grasos libres descienden a una velocidad más rápida que sin el tratamiento con insulina. Aunque posiblemente eficaz en el tratamiento de la diabetes de tipo 2, la administración intravenosa de insulina no es una solución razonable, ya que no es segura no
 15 factible para los pacientes administrarse insulina intravenosa en cada comida.

A pesar de mejores progresos en el tratamiento de la diabetes, la diabetes sigue siendo una afección crónica incapacitante que, si no se trata, se puede asociar con complicaciones de órganos en estado terminal y muerte prematura. Por tanto, muchos investigadores han echado la vista a los abordajes de trasplantes esperando que
 25 alivien la necesidad de las inyecciones crónicas de insulina, frecuente monitorización de la glucosa en sangre y la estricta atención a la dieta y el ejercicio. Los recientes avances en los tratamientos génicos y celulares han proporcionado esperanzas de hallar una curación para la diabetes. Estos incluyen esfuerzos para regenerar las células β existentes mediante replicación o neogénesis, manipulando las células madre embrionarias para que se diferencian en células β y usando células precursoras pancreáticas y hepáticas para servir de fuente de insulina. Los
 30 recientes trabajos han producido pruebas del éxito de la producción de insulina de células hepáticas modificadas genéticamente transplantadas del propio hígado del paciente diabético. El abordaje más avanzado del tratamiento celular de la diabetes, que ya ha alcanzado una aplicación clínica, es el trasplante de células β . En pacientes transplantados existen pruebas de la independencia de la insulina en algunos de estos individuos tratados. El trasplante de células β es menos invasivo que el trasplante de todo el órgano, ya que solo se transplantan las
 35 partes endocrinas del páncreas (los islotes) mediante un catéter percutáneo. Los resultados en esta área de estudio fueron decepcionantes hasta los avances efectuados por el Dr. James Shapiro de Edmonton, Canadá (Shapiro y col., Diabetes July 2002, 5:2148). El Dr. Shapiro desarrolló el Protocolo de Edmonton. El Protocolo de Edmonton usa un régimen antirechazo sin corticoides y el trasplante de un número suficiente de islotes (que requieren alrededor de 2-4 órganos de donante por trasplante). El grupo ha notificado que 7 pacientes consecutivos con diabetes de
 40 tipo 1 habían pasado a ser independientes de insulina durante 1 año tras el trasplante de islotes. (Hirschberg B y col., Diabetes/Metabolism Research and Reviews 2003;19:175-178). No obstante, después de 3 años, los islotes transplantados fallan, como indica el retorno al tratamiento con insulina.

La premisa tras la que se esconde el trasplante de islotes es procesar el páncreas del donante del órgano para
 45 aislar el 5 % de la glándula responsable de la secreción hormonal endocrina (los islotes de Langerhans del páncreas o las células β de los mismos) del 95 % restante de la glándula responsable de sus funciones exocrinas (secreción de enzimas digestivas). Una vez aislados, los islotes productores de insulina se infunden a través de un tubo fino colocado en la vena porta hepática, que es la vena principal que transporta la sangre desde los intestinos hasta el hígado. Una vez realizada dicha infusión, la corriente sanguínea transporta los islotes hacia el hígado, donde se
 50 alojan y comienzan a fabricar insulina para regular el azúcar en sangre. Los procedimientos actuales usan aproximadamente 2-4 páncreas de donantes (De cadáveres) y un régimen inmunosupresor sin corticosteroides para prevenir el rechazo del trasplante.

Un problema con el procedimiento de trasplante de islotes es la longevidad de las células de los islotes. Los
 55 pacientes son independientes de insulina durante hasta 2 años. Después, generalmente vuelven al tratamiento con insulina, aunque a dosis menores que antes del trasplante. El motivo del fallo de los islotes no está claro, pero se ha sugerido que las células de los islotes se estresan y queda comprometida su función global.

El control de la glucemia alcanzado en los receptores de trasplantes de islotes suele ser superior al conseguido con
 60 el tratamiento con insulina y dieta y ejercicio. Siempre que persista la función de los islotes ha habido pocos, si ha habido alguno, informes de episodios de hipoglucemia grave. No obstante, los pacientes no recuperan respuestas hormonales contrarreguladoras "normales" a la hipoglucemia. Solo un pequeño número de pacientes alcanzan niveles de glucosa en sangre normales de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes. Cuando se provoca una respuesta aguda de insulina de primera fase mediante infusión intravenosa de glucosa, los
 65 islotes de pacientes transplantados con éxito muestran un pico de insulina marcadamente disminuido en comparación con los individuos normales.

Por tanto, los diabéticos de tipo 1 en la fase de “luna de miel” de la enfermedad, los diabéticos de tipo 2 (con restos de función de las células β) y los receptores de trasplantes de células β a pesar de las diferentes etiologías tienen un déficit similar de la función pancreática: inadecuada liberación de insulina en la fase temprana y liberación de segunda fase con una eficacia disminuida. Es un objeto de la presente invención compensar la falta de liberación de fase temprana fisiológica y, de este modo, prolongar o conservar la función de las células β .

Sumario de la invención

Un primer aspecto de la invención proporciona una composición de insulina para usar en la conservación de células productoras de insulina en un paciente con diabetes de tipo 1 en fase de luna de miel o en un paciente con diabetes de tipo 1 que es receptor de un trasplante de células productoras de insulina en el que al menos una dosis de dicha composición se administra prandialmente a dicho paciente y en el que dicha composición imita una respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida, de modo que los niveles de insulina en suero alcanzan un máximo a los 15 minutos de la administración, y conserva la función de dichas células productoras de insulina.

Un segundo aspecto de la invención proporciona un uso de una composición de insulina en la fabricación de un medicamento para la conservación de células productoras de insulina en un paciente con diabetes de tipo 1 en fase de luna de miel o en un paciente con diabetes de tipo 1 que es receptor de un trasplante de células productoras de insulina en el que al menos una dosis de dicha composición se administra prandialmente a dicho paciente y en el que dicha composición imita una respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida, de modo que los niveles de insulina en suero alcanzan un máximo a los 15 minutos de la administración, y conserva la función de dichas células productoras de insulina.

Se proporcionan composiciones útiles para disminuir el estrés pancreático y prolongar el ciclo de vida de las células productoras de insulina en diabéticos de tipo 1 en la fase de luna de miel y en pacientes con trasplante de islotes. Las realizaciones de la composición son para usar en la imitación de la respuesta de insulina en fase temprana relacionada con la comida usando una dosis suficiente para reducir los niveles en suero de la proinsulina y/o para controlar las desviaciones de la glucosa. Imitando la cinética de fase temprana se pueden alcanzar niveles máximos de insulina en suero a los aproximadamente 12 a aproximadamente 30 minutos de la administración. Los niveles de insulina en suero también pueden retornar al valor basal después de aproximadamente dos o tres horas de la administración. En el presente documento también se divulga que la insulina se administra a un paciente que necesite tratamiento con insulina a la hora de la comida, es decir, en aproximadamente 10 minutos, preferentemente 5 minutos antes, o 30, 25, 15 o 10 después de comenzar una comida. (Los tiempos cortos después de preferirse para los pacientes con un vaciado gástrico normal, los tiempos más largos después de ser adecuado para pacientes con un vaciado gástrico retardado). En una realización preferida, se alcanza una liberación pulmonar mediante inhalación de una formulación en polvo seco de una dicetopiperazina de fumarilo en complejo con insulina facilitada por el uso de un inhalador de dosis unitaria. La expresión “dicetopiperazina de fumarilo” (FDKP), como se usa en el presente documento, también incluye las sales de la misma. Las dosis preferidas están en el intervalo de aproximadamente 15 a 90 UI o más de 24 UI de insulina en complejo con dicetopiperazina de fumarilo, o el equivalente.

Realizaciones de la composición para usar en el incremento del ciclo de vida de las células productoras de insulina incluyen aquellas en las que se mide el estrés pancreático como una pérdida de respuesta de insulina fisiológica (o endógena) de primera fase o de fase temprana; en las que el estrés pancreático se mide como el incremento de los niveles de proinsulina en suero sin tratamiento auxiliar con insulina; en las que se mide el estrés oxidativo debido a las desviaciones agudas de la glucosa p. ej. como el índice de secreción de 24 horas de 8-isoprostaglandina $F_{2\alpha}$ (8-isoPGF $_{2\alpha}$) libre) como sustituto del estrés pancreático; y en las que el estrés pancreático se determina mediante el deterioro de la capacidad para controlar los niveles de glucosa en sangre en ausencia de otro tratamiento, reducción de la capacidad secretora (p. ej., péptido C estimulado), reducción de la sensibilidad a la insulina (p. ej., HOMA-S: Evaluación en modelo de homeostasis de la sensibilidad a la insulina). La longevidad de las células productoras de insulina también se puede evaluar mediante mediciones de la masa de células β o sensibilidad a la apoptosis.

También se divulga una composición útil para conservar las células productoras de insulina. La composición comprende una formulación de insulina de liberación controlada o una preparación de inicio retardado que incluye una formulación de insulina.

Se proporciona un procedimiento para conservar la función de las células productoras de insulina en un paciente no dependiente de insulina que tenga un trastorno relacionado con la insulina, que comprende: proporcionar a dicho paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina una dosis de insulina, administrar dicha dosis de insulina a dicho paciente; en el que dicha dosis de insulina imita a una respuesta fisiológica de insulina de fase temprana relacionada con la comida y conserva la función de dichas células productoras de insulina en dicho paciente.

Se divulga que el paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina puede ser un diabético de tipo 1 en la fase de luna de miel o puede ser un receptor de trasplante de células productoras de

insulina. En el presente documento también se divulga que el paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina es un diabético de tipo 2.

5 En otra realización de la presente invención, la dosis de insulina se administra por vía oral En otra realización, la dosis de insulina se inhala. En otra realización más, la dosis de insulina comprende una formulación en polvo seco

10 En una realización de la presente invención, la dosis de insulina comprende una dosis suficiente para reducir los niveles de proinsulina en suero. En otra realización, la dosis de insulina comprende una dosis suficiente para controlar las desviaciones de la glucosa. En otra realización, la insulina alcanza niveles máximos en suero de insulina aproximadamente a los 15 minutos de la administración. En otra realización, los niveles máximos en suero de insulina son al menos 60 mU/l. En otra realización, la dosis de insulina es suficiente para controlar los niveles de glucosa en sangre. En otra realización más, la dosis de insulina es suficiente para reducir la liberación de glucosa desde el hígado.

15 En otra realización de la presente invención, dicha dosis de insulina comprende una dicetopiperazina de fumarilo (FDKP) asociada con insulina. En otra realización, la dosis de insulina está dentro del intervalo equivalente a aproximadamente 15 UI a aproximadamente 90 UI de insulina FDKP.

20 También se divulga un procedimiento para disminuir el estrés pancreático posprandial en un paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina, que comprende proporcionar el paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina para tratar, administrar una dosis de insulina al paciente suficiente para controlar los niveles de glucosa en sangre y reducir los niveles en suero de proinsulina; y en el que la dosis de insulina imita la respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida y se atenúa el estrés pancreático.

25 También se divulga un procedimiento para aumentar la longevidad de un trasplante de células productoras de insulina en un paciente, que comprende proporcionar un receptor de trasplante de células productoras de insulina para tratar, administrar una dosis de insulina al paciente suficiente para controlar los niveles de glucosa en sangre y reducir los niveles en suero de proinsulina; y en el que la dosis de insulina imita la respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida y se atenúa el estrés pancreático y se alcanza la longevidad de las células productoras de insulina.

30 También se divulga un procedimiento para conservar la función de las células productoras de insulina en un paciente, que comprende proporcionar un paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina, una dosis de insulina y una medicación inmunosupresora; administrar la dosis de insulina al paciente en el que la dosis de insulina imita la respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida; y administrar al paciente la medicación inmunosupresora junto con la dosis de insulina para ralentizar una respuesta autoinmunitaria.

35 También se divulga una composición útil para conservar las células productoras de insulina en un paciente no dependiente de insulina que tenga un trastorno relacionado con la insulina, que comprende una formulación de insulina de liberación controlada

40 También se divulga una composición útil para conservar las células productoras de insulina en un paciente no dependiente de insulina que tenga un trastorno relacionado con la insulina, que comprende una preparación de inicio retardado que incluye una formulación de insulina.

45 También se divulga un procedimiento para conservar la función de las células productoras de insulina en un paciente no dependiente de insulina que tenga un trastorno relacionado con la insulina, que comprende: proporcionar un paciente no dependiente de insulina que tiene un trastorno relacionado con la insulina, en el que dicho paciente es un diabético de tipo 1 en la fase de "luna de miel" o un receptor de trasplante de células productoras de insulina y una dosis de insulina: administrar dicha dosis de insulina a dicho paciente; y en el que dicha dosis de insulina imita a una respuesta fisiológica de insulina de fase temprana relacionada con la comida y conserva la función de dichas células productoras de insulina en dicho paciente.

50 También se divulga un procedimiento para conservar la función de las células productoras de insulina en un paciente que tiene un trastorno relacionado con la insulina, que comprende proporcionar un paciente que tiene un trastorno relacionado con la insulina, en el que el paciente no se ha tratado con una composición de insulina aparte de la insulina basal, una dosis de insulina; administrar al paciente la dosis de insulina y en el que la dosis de insulina imita a una respuesta fisiológica de insulina de fase temprana relacionada con la comida y conserva la función de dichas células productoras de insulina en el paciente.

55 También se divulga un procedimiento para conservar la función de las células productoras de insulina en un paciente que tiene un trastorno relacionado con la insulina, que comprende proporcionar un paciente que tiene un trastorno relacionado con la insulina, en el que el paciente ha perdido su liberación de insulina de fase temprana y tiene un nivel de hemoglobina glicada en suero (HbA1c) inferior al 8 con una dosis de insulina, administrar al paciente la

dosis de insulina y en el que la dosis de insulina imita a una respuesta fisiológica de insulina de fase temprana relacionada con la comida y conserva la función de dichas células productoras de insulina en el paciente. En otra realización, la dosis de insulina se administra con cualquier comida que contiene más de 15 g de hidratos de carbono. En otra realización, el paciente no está siguiendo un régimen de insulina prandial. En otra realización, el paciente tiene niveles de proinsulina en suero dentro de un intervalo normal. En otra realización, el paciente tiene una amplitud media elevada de las desviaciones de la glucosa. En otra realización más, el paciente presenta signos de estrés oxidativo elevado y el estrés oxidativo se mide mediante los niveles de 8-iso PGF(2a). En otra realización, el nivel en suero de HbA1c es inferior al 7 %. En otra realización más, el nivel en suero de HbA1c es inferior al 6,5 %.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 representa la medición de la cinética de la liberación de insulina de primera fase tras la estimulación artificial mediante infusión de glucosa en bolos.

La Figura 2 representa la concentración de insulina en suero tras la administración de insulina humana regular por vía subcutánea (s.c.) o insulina s.c. de acción rápida (Novolog™). Novolog™ es una marca registrada de Novo Nordisk Pharmaceuticals, Bagsvaerd, Dinamarca.

La Figura 3 representa el índice de eliminación de glucosa tras la administración de TECHNOSPHERE®/Insulina en seres humanos de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención.

La Figura 4 representa los cambios de los niveles de proinsulina tras la administración de TECHNOSPHERE®/Insulina en seres humanos de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención.

Definición de los términos

Antes de exponer la invención, puede ser útil para proporcionar una comprensión de determinados términos que se usarán en lo sucesivo en el presente documento.

Polvo seco: Como se usa en el presente documento, "polvo seco" se refiere a una composición de partículas finas que no se suspende ni se disuelve en un propelente, vehículo u otro líquido. No se pretende implicar una ausencia completa de todas las moléculas de agua.

Fase temprana: Como se usa en el presente documento, "fase temprana" se refiere a la elevación de la concentración de insulina en sangre inducida en respuesta a una comida. Esta elevación temprana de la insulina en respuesta a una comida en ocasiones se denomina primera fase.

Desviación: Como se usa en el presente documento, "desviación" se refiere a concentraciones de glucosa en sangre que están por encima o por debajo de un valor basal antes de la comida u otro punto de partida. Las desviaciones generalmente se expresan como el área bajo la curva (AUC) de un gráfico de glucosa en sangre en el tiempo. La AUC se puede expresar de varios modos: En algunos casos habrá un descenso por debajo y un incremento por encima del valor basal, creando un área positiva o negativa. Algunos cálculos restarán la AUC negativa de la positiva, mientras que otros sumarán sus valores absolutos. Las AUC positivas y negativas también se pueden considerar por separado. También se pueden usar evaluaciones más sofisticadas. En algunos casos, también puede hacer referencia a las concentraciones de glucosa en sangre que suben o bajan fuera de un intervalo normal. Una concentración de glucosa en sangre normal normalmente entre 70 y 100 mg/dl de un individuo en ayunas, menos de 120 mg/dl dos horas después de comer una comida y menos de 180 mg/dl después de comer.

Primera fase: Como se usa en el presente documento, "primera fase" se refiere al pico en los niveles de insulina inducido por una inyección intravenosa en bolo de glucosa. Una liberación de insulina de primera fase genera un pico en la concentración en sangre de insulina que es un pico rápido que después decae relativamente rápido. La primera liberación de insulina de primera fase también se denomina fase temprana.

Índice de eliminación de glucosa: Como se usa en el presente documento, el "índice de eliminación de glucosa" es la velocidad a la que la glucosa desaparece de la sangre y se determina mediante la cantidad de infusión de glucosa necesaria para mantener niveles estables de glucosa en sangre, a menudo de aproximadamente 120 mg/dl durante el periodo de estudio. Ese índice de eliminación de glucosa es igual al índice de infusión de glucosa, abreviado IIG.

Fase de luna de miel: Como se usa en el presente documento, la "fase de luna de miel" de la diabetes de tipo 1 se refiere a las primeras etapas de la enfermedad en las que se ha perdido la liberación de insulina en la fase temprana y el resto de las células β siguen funcionando y produciendo algo de insulina, que se libera según una cinética de segunda fase.

Hiperglucemia: Como se usa en el presente documento, "hiperglucemia" es una concentración de glucosa en sangre en ayunas normal, normalmente de 126 mg/dl o mayor. En algunos estudios, se definieron los episodios

hiperglucémicos como las concentraciones de glucosa en sangre superiores a 280 mg/dl (15,6mM).

Hipoglucemia: Como se usa en el presente documento, "hipoglucemia" es una concentración de glucosa en sangre inferior a lo normal, normalmente inferior a 63 mg/dl (3,5 mM). La hipoglucemia clínicamente relevante se define como una concentración de glucosa en sangre inferior a 63 mg/dl o que produce síntomas en el paciente como hipotonía, sofocos y debilidad, que son síntomas reconocidos de hipoglucemia y que desaparecen con la adecuada ingesta calórica. La hipoglucemia grave se define como un episodio hiperglucémico que requiere inyecciones de glucagón, infusiones de glucosa o ayuda de un tercero

Cerca: Como se usa en el presente documento, "cerca", como se usa en relación con una comida, se refiere a un periodo cercano en el tiempo al comienzo de una comida.

Composición de la insulina: Como se usa en el presente documento, "composición de la insulina" se refiere a cualquier forma de insulina adecuada para administrar a un mamífero e incluye insulina aislada de mamíferos, insulina recombinante, insulina asociada con otras moléculas, y también incluye insulina administrada por cualquier vía, incluyendo las vías pulmonar, subcutánea, nasal, oral, bucal y sublingual. Las composiciones de insulina se pueden formular como polvos secos o soluciones acuosas para inhalación, soluciones acuosas para administración subcutánea, sublingual, bucal, nasal u oral y formas de dosificación sólidas para administración oral y sublingual.

Trastorno relacionado con la insulina: Como se usa en el presente documento, "trastornos relacionados con la insulina" se refiere a trastornos que implican producción, regulación, metabolismo y acción de la insulina en un mamífero. Los trastornos relacionados con la insulina incluyen, entre otros, prediabetes, diabetes mellitus de tipo 1, diabetes mellitus de tipo 2, hipoglucemia, hiperglucemia, resistencia a la insulina, disfunción secretora, pérdida de función de las células β pancreáticas y pérdida de células β pancreáticas.

Pacientes no dependientes de insulina que tienen trastornos relacionados con la insulina: Como se usa en el presente documento, "pacientes no dependientes de insulina que tienen trastornos relacionados con la insulina" se refiere a pacientes con trastornos para los que la terapia con insulina proporcionada de forma exógena no es el tratamiento estándar actual tras el diagnóstico. Pacientes no dependientes de insulina que tienen trastornos relacionados con la insulina que no se tratan con insulina administrada de forma exógena incluyen diabetes precoz de tipo 2, diabetes de tipo 1 en fase de luna de miel, prediabetes y receptores de trasplantes de células productoras de insulina.

Resistencia a la insulina: Como se usa en el presente documento, la expresión "resistencia a la insulina" se refiere a la incapacidad de las células de un paciente para usar la insulina de forma adecuada. El páncreas responde a este problema a nivel celular produciendo más insulina. En última instancia, el páncreas no mantiene la necesidad del cuerpo de insulina y se acumula un exceso de glucosa en la circulación sanguínea. Los pacientes con resistencia a la insulina a menudo presentan niveles altos de glucosa en sangre y niveles altos de insulina en la circulación sanguínea al mismo tiempo

Micropartículas: Como se usa en el presente documento, el término "micropartículas" incluye microcápsulas que tienen una cubierta externa compuesta por una dicetopiperazina sola o una combinación de una dicetopiperazina y uno o más fármacos. También incluye microesferas que contienen fármaco dispersado por la esfera, partículas de forma irregular y partículas en las que el fármaco está recubierto en la superficie(s) de la partícula o llena huecos en la misma.

Periprandial: Como se usa en el presente documento, "periprandial" se refiere a un periodo de tiempo que comienza poco antes y finaliza poco después de la ingestión de una comida o aperitivo

Posprandial: Como se usa en el presente documento, "posprandial" se refiere a un periodo de tiempo después de la ingestión de una comida o aperitivo. Como se usa en el presente documento, posprandial tardío se refiere a un periodo de tiempo de 3, 4 o más horas después de la ingestión de una comida o aperitivo.

Potenciación: En general, potenciación se refiere a una afección o acción que incrementa la eficacia o la actividad de algún agente sobre el nivel que el agente alcanzaría. De un modo similar puede hacer referencia directamente al incremento del efecto o de la actividad. Como se usa en el presente documento, "potenciación" hace referencia a la capacidad de las concentraciones elevadas de insulina en sangre para reforzar la eficacia de los posteriores niveles de insulina, por ejemplo para elevar el índice de eliminación de la glucosa.

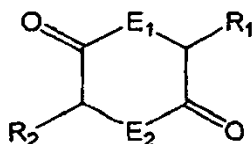
Prandial: Como se usa en el presente documento, "prandial" se refiere a una comida o aperitivo:

Prediabético: Como se usa en el presente documento, el término "prediabético" se refiere a un paciente con alteración de los niveles de glucosa en ayunas o alteración de la tolerancia a la glucosa, es decir con un nivel de glucosa en sangre en ayunas entre 100 mg/dl (5,5 mmol/l) y 126 mg/dl (7,0 mmol/l), o un nivel de glucosa en sangre 2 horas posprandial entre 146 mg/dl (7,9 mmol/l) y 200 mg/dl (11,1 mmol/l).

Segunda fase: Como se usa en el presente documento, "segunda fase" se refiere a la lenta disminución de los niveles de insulina en sangre modestamente elevados de insulina hasta los niveles basales después de pasar la primera fase Segunda fase también puede hacer referencia a la liberación sin picos de insulina en respuesta a niveles elevados de glucosa en sangre.

TECHNOSPHERE[®]/Insulina: Como se usa en el presente documento, "TECHNOSPHERE[®]/Insulina" o "TI" hace referencia a una composición de insulina que comprende insulina humana regular y micropartículas de TECHNOSPHERE[®], un sistema de liberación de fármacos. Las micropartículas de TECHNOSPHERE[®] comprenden una dicetopiperazina, específicamente 3,6-di(fumaril-4-aminobutil)-2,5-dicetopiperazina (dicetopiperazina de fumarilo, FDKP). Específicamente, TECHNOSPHERE[®]/Insulina comprende una composición de FDKP/insulina humana.

Como se usa en el presente documento, "dicetopiperazina" o "DKP" incluye dicetopiperazinas y sales, derivados, análogos y modificaciones de las mismas que entran dentro del ámbito de la fórmula general 1, en la que los átomos de anillo E₁ y E₂ en las posiciones 1 y 4 son O o N y al menos una de las cadenas laterales R₁ y R₂ localizadas en las posiciones 3 y 6, respectivamente, contiene un grupo de ácido carboxílico (carboxilato). Los compuestos de acuerdo con la fórmula 1 incluyen, sin limitaciones, dicetopiperazinas, dicetomorfolinás y dicetodioxanos y sus análogos por sustitución.



Fórmula 1

Las dicetopiperazinas, además de fabricar micropartículas aerodinámicamente adecuadas, también facilitan el transporte a través de capas celulares, que acelera adicionalmente la absorción en la circulación. Las dicetopiperazinas se pueden formar en partículas que incorporan un fármaco o partículas sobre las cuales se puede adsorber un fármaco. La combinación de un fármaco y una dicetopiperazina puede impartir mejor estabilidad al fármaco. Estas partículas se pueden administrar por varias vías de administración Como polvos secos, estas partículas se pueden liberar mediante inhalación en áreas específicas del sistema respiratorio, dependiendo del tamaño de partícula. Adicionalmente, las partículas se pueden hacer lo bastante pequeñas como para incorporar en una forma de dosificación de suspensión intravenosa. También es posible la liberación oral con las partículas incorporadas en una suspensión, comprimidos o cápsulas. Las dicetopiperazinas también pueden facilitar la absorción de un fármaco asociado.

En otra realización de la presente invención, la DKP es un derivado de la 3,6-di(4-aminobutil)-2,5-dicetopiperazina, que se puede formar mediante condensación (térmica) del aminoácido lisina. Ejemplos de derivados incluyen 3,6-di(succinil-4-aminobutil)-, 3,6-di(maleil-4-aminobutil)-, 3,6-di(glutaril-4-aminobutil)-, 3,6-di(malonil-4-aminobutil)-, 3,6-di(oxalil-4-aminobutil)-, y 3,6-di(fumaril-4-aminobutil)-2,5-dicetopiperazina. El uso de DKP para la liberación de fármacos se conoce en la técnica (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n^o 5.352.461, 5.503.852, 6.071.497 y 6.331.318". El uso de sales de DKP se describe en la solicitud de patente de EE.UU. pendiente de tramitación n^o 11/210,710 presentada el 23 de agosto de 2005, La liberación de fármacos en los pulmones usando micropartículas de DKP se divulga en la patente de EE.UU, N^o 6.428.771.

TECHNOSPHERE[®]/Placebo: Como se usa en el presente documento, "TECHNOSPHERE[®]/Placebo" se refiere a partículas de TECHNOSPHERE[®] que no están asociadas con insulina.

Unidades de medida: Las dosis subcutáneas e intravenosas de insulina se expresan en UI, que está definida por una medición biológica normalizada. Las cantidades de insulina formulada con dicetopiperazina de fumarilo también se indican en UI como también las mediciones de la insulina en sangre. Las dosis de TECHNOSPHERE[®]/Insulina se expresan en unidades arbitrarias (U), que son numéricamente equivalentes a la cantidad de insulina formulada en la dosis.

Descripción detallada de la invención

Un aspecto de la invención es conservar la función de las células β y, de este modo, detener o atenuar la progresión de la enfermedad diabética. La función de las células β se conserva reduciendo el estrés causado por la excesiva demanda de insulina que se desarrolla, a través de varios mecanismos, en la diabetes de tipo 1 y 2 y tras procedimientos de trasplante de células β. La función también se puede conservar disminuyendo la toxicidad de la glucosa reduciendo la exposición a concentraciones elevadas de glucosa como se describe en el presente documento. Una excesiva demanda de insulina, un mal control de los niveles de glucosa en sangre y el consiguiente estrés sobre las células β se asocian con la pérdida de función y la muerte de células β. El daño microvascular en el páncreas debido al estrés oxidativo resultante de fluctuaciones agudas en las concentraciones de glucosa en

sangre también puede desempeñar un papel. Como se describe en el presente documento, la demanda biosintética se reduce y el estrés se alivia mediante administración no intravenosa de una preparación de insulina que imita la liberación fisiológica de insulina de fase temprana en la comida.

5 Como se usa en el presente documento, células productoras de insulina hacen referencia a células β de los islotes de Langerhans, células precursoras hepáticas o pancreáticas modificadas genéticamente para producir insulina, células madre embrionarias o adultas diferenciadas en células β , células tratadas con un tratamiento génico de insulina o cualquier tipo celular capaz de producir y secretar insulina. Recientemente se han revisado posibles fuentes de células β para trasplante o regeneración en el páncreas (Bonner-Weir, S. & Weir, G.C., Nature Biotech. 23:857-861, 2005). Aunque aspectos de la invención divulgados en el presente documento se describirán predominantemente aplicados a las células β , debe entenderse que los procedimientos y composiciones descritas de este modo pueden ser útiles de modo similar en la conservación de la funcionalidad de cualquier célula productora de insulina sujeta al estrés de la excesiva demanda de biosíntesis de insulina o la toxicidad de la glucosa etc. Por tanto, se han diseñado procedimientos de imitar la respuesta de insulina de fase temprana en los diabéticos de tipo 1 en la fase de luna de miel, diabéticos de tipo 2 precoces y receptores de trasplantes de islotes u otras células productoras de insulina con el fin de incrementar el ciclo de vida de las células productoras de insulina reduciendo el estrés pancreático.

20 Como se usa en el presente documento, imitar la liberación fisiológica de insulina de fase temprana en la comida (o términos similares) no necesariamente indica una réplica exacta de todas las características de la respuesta fisiológica. Puede hacer referencia a metodologías que producen una descarga o pico de la concentración de insulina en sangre que constituye tanto una elevación relativamente rápida (menos de 30 minutos, preferentemente menos de aproximadamente 20 minutos o 15 minutos desde la administración o la primera desviación con respecto al valor basal) y una disminución de la concentración (un descenso hasta la mitad del máximo en 80 minutos, preferentemente 50 minutos, más preferentemente 35 minutos después del pico). Esto contrasta con los procedimientos que producen una elevación más gradual (desde más de 20 minutos a varias horas) hasta la concentración máxima de insulina alcanzada y una estabilidad prolongada cerca de las concentraciones máxima. También puede hacer referencia a metodologías en las que el pico de la concentración de insulina se puede coordinar de forma fiable con el inicio de una comida. También puede hacer referencia a metodologías que alcanzan un índice máximo de eliminación de la glucosa (IEG_{max}) en aproximadamente 30-90 minutos, preferentemente aproximadamente 45-60 minutos, después de la administración. Una metodología que imita la liberación de fase temprana es, generalmente, también una que pueden poner en práctica los diabéticos por sí mismos sin una especial formación médica, tal como formación en inyección intravenosa. Una formación médica especial no incluiría formación en el uso de dispositivos médicos, tales como inhaladores de polvo seco, que las personas que no son profesionales médicos (formados) usan de forma rutinaria. Como se usa en el presente documento, "comida", "comidas" y/o "hora de la comida" etc. incluyen las comidas y las horas de las comidas tradicionales, aunque también incluyen la ingestión de cualquier alimento con independencia del tamaño y/o la hora. No obstante, se prefiere administrar la insulina únicamente para una comida que proporcione al menos una carga glucémica umbral dependiendo de la dosis de insulina, con el fin de evitar el riesgo de hipoglucemia.

40 Se entiende que la potenciación de la IEG que contribuye a la rápida consecución de una TEG_{máx} depende no solo de la rapidez de la elevación de la concentración de insulina sino también de la consecución de una altura de pico suficiente. Para los diabéticos de tipo 1, este es una concentración máxima de insulina de al menos aproximadamente 60 mU/l, preferentemente de al menos aproximadamente 80 mU/l. Para los diabéticos de tipo 2, la resistencia a la insulina que forma parte de la afección requiere concentraciones de insulina más altas, normalmente de al menos aproximadamente 100 mU/l, preferentemente de al menos aproximadamente 120 mU/l, de al menos aproximadamente 140 mU/l o más, en función del grado de resistencia. Estas concentraciones máximas de insulina son sustancialmente mayores que las conseguidas con dosis típicas de productos de insulina que no dan lugar a descargas tales como preparaciones estándar para administración subcutánea, incluidas las denominadas de acción rápida, y preparaciones para administración no inyectable que tienen una cinética similar que ahora se están desarrollando.

55 Es la comprensión adicional del solicitante que una descarga elevada y una velocidad rápida de cambios en la concentración de insulina suprime la producción de glucagón y reduce la gluconeogénesis hepática. Esto tiene como resultado una menor carga glucémica y, en consecuencia, menor demanda de insulina y menor desviación de la glucosa.

60 Las poblaciones de pacientes tratados de acuerdo con los procedimientos divulgados en el presente documento con coinciden completamente con aquéllos que habitualmente reciben tratamiento con insulina. De hecho, el procedimiento se puede poner en práctica con gran ventaja en las primeras etapas de estas afecciones, cuando las poblaciones de células β funcionales son mayores, aunque los tratamientos actuales con insulina habitualmente no se ofrecen a estos pacientes. Por tanto, como se usa en el presente documento, "un paciente que necesita tratamiento con insulina" comprende estas poblaciones. Estos pacientes también se definen como pacientes no dependientes de insulina. En general, los pacientes con alguna capacidad de producción de insulina, pero una liberación inadecuada en la fase temprana, constituyen poblaciones diana preferidas seleccionadas para el tratamiento en realizaciones de la invención. Dichas poblaciones incluyen, entre otras, receptores de trasplantes de

islotos, células β o células modificadas por ingeniería para producir insulina y receptores de tratamientos génicos con insulina; los diabéticos de tipo 1 en la fase de luna de miel o en los que la enfermedad es incipiente y los diabéticos de tipo 2 tratados tradicionalmente con dieta y ejercicio, medicamentos orales, únicamente insulina de acción prolongada (basal) o insulina de acción corta, sola o mezclada con insulina de acción prolongada, junto con dos o menos comidas diarias. Dichas poblaciones incluyen pacientes con niveles de HbA1c (hemoglobina glicada) (una medida de hiperglucemia crónica) por otro lado aceptables que generalmente no se tratarían con ninguna modalidad concreta o en absoluto. Los niveles normales de HbA1c son 4,5 % a 5,7 % (o cuando se indica con menor precisión, 4-6 %). Generalmente, el tratamiento de la diabetes está dirigido a reducir los niveles de HbA1c a menos del 7 %. Los niveles de HbA1c por encima del 8 % indican que el tratamiento actual del paciente debe reevaluarse. Sería deseable alcanzar niveles normales de HbA1c, pero con los productos de insulina comercializados en la actualidad esto solo se podría conseguir a un riesgo inaceptable de hipoglucemia grave. En realizaciones de preparaciones de insulina de la presente invención, el riesgo de hipoglucemia se reduce mucho y es posible tratar a los pacientes con un nivel de HbA1c inferior al 7 %. Por tanto, los pacientes con niveles de HbA1c inferiores al 8 % no se considerarían candidatos a un tratamiento más intenso, es decir a tratamiento con insulina; o su ya están recibiendo insulina basal o mixta, al tratamiento con un régimen de insulina prandial. Adicionalmente cabe esperar beneficios de la disminución de los niveles de glucosa en sangre incluso en el límite superior del intervalo normal, de modo que se seleccionan para tratamiento pacientes con niveles de HbA1c ≤ 6 %. Aunque la invención generalmente se trata en referencia a pacientes humanos, la adaptación a mamíferos no humanos no se aleja del ámbito de la invención ni de las capacidades de un experto en técnicas relacionadas.

Los pacientes con trastornos de insulina en estadio temprano se pueden dividir en varias subpoblaciones y tratar de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención. Algunas personas fabrican suficiente insulina para mantener un nivel de glucosa en ayunas no hiperglucémico pero no pueden evitar fluctuaciones agudas de la glucosa en sangre después de comer. Los pacientes con alteración de los niveles de glucosa en ayunas o alteración de la tolerancia a la glucosa, es decir con un nivel de glucosa en sangre en ayunas entre 100 mg/dl (5,5 mmol/l) y 126 mg/dl (7,0 mmol/l), o un nivel de glucosa en sangre 2 horas posprandial entre 146 mg/dl (7,9 mmol/l) y 200 mg/dl (11,1 mmol/l), a menudo denominados prediabéticos, se pueden tratar para retrasar o prevenir la progresión a diabetes. Los diabéticos de tipo 2 tempranos a menudo pueden usar dieta y ejercicio para controlar incluso una hiperglucemia sustancial, pero ya habrán perdido la liberación de insulina en fase temprana. En la práctica actual, los pacientes en los que falla la dieta y el ejercicio se suelen tratar con mayor frecuencia con un sensibilizador a la insulina, como metformina, con el objetivo de superar la resistencia a la insulina y mejorar la eficacia de la insulina que se produce. En realizaciones de la presente invención, se administra a estos pacientes una preparación de insulina similar a una de fase temprana en lugar de, o además de, el sensibilizador a la insulina. Con menor frecuencia (y anteriormente), la primera medicación oral que se ofrece a los diabéticos era un secretagogo de la insulina, tal como sulfonilurea, para aumentar la secreción de insulina. No obstante, el incremento de la secreción de insulina puede aumentar el estrés metabólico en los islotos por lo que se usa una preparación de insulina de tipo fase temprana en lugar de un secretagogo.

Una deficiencia con las formulaciones existentes de insulina para inyecciones subcutáneas ha sido la variabilidad impredecible de la absorción y el relativamente lento incremento de los niveles de insulina en suero en comparación con la respuesta fisiológica de insulina en fase temprana relacionada con la comida, en la que los niveles de insulina en suero pueden alcanzar un máximo en aproximadamente 6 minutos. La insulina en fase temprana relacionada con la insulina se origina en vesículas de almacenamiento en las células β de los islotos de Langerhans del páncreas, mientras que la proinsulina sufre escisión enzimática en insulina y péptido C. La falta de una respuesta de fase temprana adecuada es un elemento común en las primeras fases de la diabetes de tipo 1 y de tipo 2 y en receptores de trasplantes de islotos. La liberación rápida de grandes cantidades de insulina para crear el pico característico de la concentración de insulina en sangre supone una carga biosintética significativa para el páncreas. La pérdida de una liberación adecuada en la fase temprana es un indicador de estrés o alteración pancreática, pero también contribuye a estresar más las células β . La diabetes también se caracteriza por niveles elevados de proinsulina en suero. Dicha proinsulina intacta (iPi) en circulación significa que los requisitos de insulina superan la capacidad de las células β , lo que causa una liberación prematura y refleja el estrés pancreático.

La elevación comparativamente lenta y superficial de la concentración de insulina y el periodo prolongado de acción asociado con las preparaciones de insulina que no imitan la liberación de fase temprana limita la capacidad para controlar las desviaciones de la glucosa. La dosis que se puede administrar suele ser inadecuada para controlar la elevación de la glucosa en sangre tras una comida mediante la necesidad de evitar inducir la hipoglucemia una vez que se ha reducido la carga glucémica de la comida. Estos temas se tratan adicionalmente en la solicitud de patente de EE.UU. pendiente de tramitación nº 11/278,381 titulada "Control superior de la glucosa en sangre en el tratamiento de la diabetes". Actualmente está apareciendo que las fluctuaciones agudas de las concentraciones de glucosa en sangre (medidas como, por ejemplo, MAGE: amplitud media de las desviaciones glucémicas) tienen un efecto mayor que la hiperglucemia crónica (medida normalmente como el nivel de Hb1Ac) sobre el estrés oxidativo asociado con la diabetes y, por tanto, es un importante parámetro a controlar para evitar las complicaciones diabéticas atribuibles a dicho estrés (véase Monnier, L., y col., JAMA 295:1681-1687, 2006; y Brownlee, M. & Hirsch, I. JAMA 295:1707-1708).

Tradicionalmente, el tratamiento con insulina se ha centrado en el control de las concentraciones medias de la glucosa en sangre, reflejado por los niveles de Hb1Ac. Por tanto, relativamente pocos pacientes capaces de producir cantidades significativas de insulina reciben tratamiento basal-prandial (lo que implica la administración de una insulina basal más insulina con cada comida). Abordajes más frecuentes implican una insulina de acción prolongada
 5 sola (basal), mezclas de insulinas de acción rápida e intermedias y otras diversas combinaciones de inyecciones. Los criterios clínicos para la adopción de unos u otros de estos regímenes no están bien definidos. Generalmente, el tratamiento comienza con insulina basal, si o cuando esta no consigue alcanzar los niveles diana de Hb1Ac, el tratamiento se intensifica usando inyecciones adicionales y varias mezclas (premezclas o automezclas). Si se sigue sin alcanzar el objetivo, el tratamiento progresa a una terapia basal-prandial. El tratamiento prandial en pacientes
 10 que no reciben insulina basal es infrecuente y, el uso de las preparaciones de insulina comercializadas en la actualidad (sin descargas), no confiere el alivio del estrés pancreático de la presente invención. Además, las preparaciones de insulina disponibles actualmente proporcionan actividad durante periodos de tiempo más prolongados que lo que se prefiere en la presente invención, lo que las convierte en menos adecuadas para controlar las desviaciones de glucosa.

La presente invención se ha diseñado para minimizar no solo los niveles de Hb1Ac (concentración media de glucosa en sangre) y la consiguiente toxicidad de la glucosa, sino también para reducir la demanda biosintética de insulina proporcionando una insulina exógena que imita una respuesta de fase temprana, y el control de las fluctuaciones agudas en la concentración de la glucosa (desviaciones de glucosa), lo que reduce adicionalmente la
 20 demanda de insulina. La reducción de las desviaciones de glucosa también alivia la carga inflamatoria general y el daño oxidativo a la microvasculatura resultante del estrés oxidativo, en general y en los islotes. Esto se consigue administrando de forma rutinaria una preparación de insulina que imita la liberación en fase temprana junto con al menos tres comidas al día, preferentemente con cada comida o aperitivo. Dicho tratamiento debe mantenerse, con preferencia creciente y para incrementar la eficacia, durante un número cualquiera de días, semanas, meses y años,
 25 hasta el resto de la vida del paciente o hasta el momento en el que se cure el trastorno relacionado con la insulina subyacente. Es la hipótesis no vinculante de los solicitantes que con dicho tratamiento de soporte como se describe en el presente documento mejorará la función pancreática con el tiempo, por ejemplo debido al incremento de la masa de células β , lo que tiene como resultado una capacidad recuperada de la liberación endógena en fase temprana. En estas condiciones puede ser posible reducir el número de administraciones diarias. Por de forma rutinaria se quiere decir que el programa de administración propuesto es el uso ideal y habitual, pero en la práctica
 30 en el mundo real, las desviaciones de este protocolo, como omisión de dosis ocasional, no se desvían del alcance de la invención. También se divulga en el presente documento que la insulina se administra con cualquier comida o aperitivo que, de otro modo, haría que la glucosa en sangre superara los 140 mg/dl; constituyendo cualquier comida o aperitivo 1, 2, 3 o más intercambios de pan, conteniendo cualquier comida o aperitivo más de aproximadamente
 35 15, 20, 30 o 45 g de hidratos de carbono.

En el presente documento también se divulga varios regímenes de dosificación incluidos, entre otros, regímenes de dosis en cada comida o aperitivo con un contenido en hidratos de carbono de más de 15 g, regímenes de dosis en cada comida o aperitivo con un contenido en hidratos de carbono de más de 30 g, teniendo cada comida o aperitivo
 40 un contenido en hidratos de carbono de más de 45 g. Las dosis y las concentraciones deseadas de la composición de insulina pueden variar en función del uso concreto previsto. La determinación de la dosis o vía de administración adecuadas está dentro del alcance de un médico habitual. Además, la duración del tratamiento de acuerdo con la presente invención puede variar con el uso concreto y la determinación de la duración del tratamiento está dentro de la experiencia de un médico.

En el caso de la diabetes de tipo 1, una inflamación inicial y ataque autoinmunitario reduce el número de células β funcionales, limitando de este modo la capacidad biosintética de los islotes. De un modo similar, una explicación del fallo de los islotes en pacientes transplantados es que reciben demasiados pocos islotes, incluso si reciben células de múltiples donantes. Un páncreas normal tiene aproximadamente 1 millón de islotes, pero las técnicas actuales
 50 solo permiten la extracción de 400.000 células como máximo de un donante de páncreas y muchas de estas mueren poco después del trasplante. De hecho, se entiende que el agotamiento de los islotes debido a la hiperestimulación crónica de una masa de células de islotes marginales es la razón principal por la cual fallan los trasplantes tardíos (Shapiro, A.M.J., The Scientist 20:43-48, 2006). En cualquiera de los casos, las células de los islotes que quedan están forzadas a trabajar de un modo inusualmente furo y pueden perder su función con el tiempo. Esto se puede agravar por la ausencia del efecto de potenciación que la descarga en la concentración de insulina tiene sobre los
 55 posteriores niveles de insulina, ya que aumentará la cantidad de insulina necesaria en la liberación de segunda fase para manejar la carga de glucosa resultante de una comida. Este efecto de potenciación se describe más completamente en la solicitud de patente de EE.UU. pendiente de tramitación nº11/329,686 presentada el 1 de octubre de 2006 titulada "Potenciación de la eliminación de glucosa". En la diabetes de tipo 2, al menos inicialmente
 60 no hay una falta evidente de las células de los islotes, pero la resistencia a la insulina reduce la eficacia de la insulina producida más allá de lo debido a causa de la pérdida de potenciación resultado de la pérdida de la liberación en fase temprana. Esto propone el requisito de más insulina para eliminar la carga de glucosa, lo que supone estrés sobre el páncreas para la producción de insulina. Esta ineficiencia en la eliminación de glucosa también tiene como resultado elevaciones prolongadas de la concentración de glucosa y la consiguiente toxicidad de la glucosa sobre las células β . A través de estas diversas vías se supera la capacidad biosintética de los islotes. En este caso, se produce una disminución progresiva de la secreción de insulina, una consiguiente pérdida de
 65

liberación de insulina de segunda fase y, al final, una deficiencia completa de insulina.

5 Dado que se cree que el estrés pancreático es una causa de la progresión de la diabetes de tipo 1 y 2 y de la pérdida de función del trasplante de islotes, se deduce que un procedimiento para reducir el estrés pancreático mejoraría la función y el ciclo de vida de las células productoras de insulina en estas poblaciones de pacientes. Usando un procedimiento de liberación de insulina que imite a la liberación en fase temprana se pueden aliviar muchas de las deficiencias causadas por la pérdida de esta respuesta y, de este modo, se reduce el consiguiente estrés. Creando un pico en la concentración de insulina al principio de una comida, se alivia esta demanda en las células β , lo que les permite suministrar con más facilidad otras necesidades de insulina (es decir, insulina de 10 segunda fase y basal). Además, la potenciación que es el resultado de un pico de tipo fase temprana reduce la cantidad de insulina necesaria en la liberación de segunda fase para cualquier carga de glucosa concreta, incluso con un fondo de resistencia a la insulina. El uso más eficiente de insulina también contribuye a reducir la magnitud y la duración de cualquier desviación con respecto a los niveles normales de glucosa en sangre, de modo que se alivian los efectos de la toxicidad de la glucosa y el estrés oxidativo. Por tanto, se puede interrumpir la espiral 15 aumento de la demanda biosintética y la disminución de la capacidad y el requisito de la producción de insulina se puede acercar más a la capacidad restante.

En el caso de los trasplantes de islotes, algunos fármacos antirechazo, como el sirolimus, inhiben la revascularización de los islotes y se entiende que interfieren en la capacidad del injerto de los islotes para regenerarse (Shapiro, A.M.J., *The Scientist* 20:43-48, 2006). Por tanto, un tratamiento auxiliar con insulina que 20 minimice otras causas de daño vascular, como el estrés oxidativo debido a las fluctuaciones agudas de las concentraciones de glucosa en sangre, puede ser particularmente ventajoso en este contexto.

La inyección intravenosa de la insulina puede replicar de forma eficaz la respuesta de fase temprana, pero no es un 25 tratamiento práctico para una afección que dura toda la vida y que requiere múltiples administraciones al día. Las inyecciones subcutáneas tradicionales se absorben en la corriente sanguínea lentamente por comparación, incluso usando formulaciones de acción rápida, que todavía necesitarán una hora para alcanzar la concentración máxima en sangre y tienen una estabilidad de varias horas de duración. Muchas formulaciones pulmonares evaluadas son equivalentes a la insulina subcutánea en cuanto a eficacia y fallan de un modo similar en cuanto a alcanzar la 30 cinética rápida necesaria para imitar la liberación de fase temprana, como se ha definido anteriormente. No obstante, sí existe el potencial para una absorción verdaderamente rápida usando una liberación no inyectable, como una administración pulmonar y oral. Por ejemplo, se ha usado liberación pulmonar usando formulaciones en polvo seco a base de dicetopiperazina.

35 La pérdida de la respuesta de insulina de fase temprana, el incremento de los niveles de proinsulina y la disminución del control de la glucosa en un paciente diabético son cada uno una medida de pérdida de función de las células productoras de insulina. Esta pérdida de función se puede atribuir a la muerte celular y/o al estrés de las células de los islotes. De hecho, la mayor carga impuesta sobre las células productoras de insulina en pacientes diabéticos es para liberar insulina para la respuesta de fase temprana. La administración de una fuente exógena de insulina para 40 imitar esta respuesta puede eliminar esta carga (estrés) y conservar la liberación de insulina basal y de segunda fase (dependiente de glucosa y relacionada con la comida).

En el presente documento también se divulga un procedimiento para conseguir la cinética de fase temprana deseable mediante la administración pulmonar de una formulación de insulina en polvo seco que contiene insulina 45 en complejo con micropartículas de dicetopiperazina. Esta formulación se absorbe rápidamente y alcanza niveles máximos en suero en aproximadamente 10 a 15 minutos. Esto es lo bastante rápido para imitar la cinética de la respuesta fisiológica de insulina en fase temprana relacionada con la comida. El corto y brusco aumento hasta la concentración máxima de la insulina en suero es crucial para aliviar la demanda biosintética que, de otro modo, se impone a las células β y tiene el efecto adicional de comprimir el grueso de la acción de la insulina al intervalo de tiempo periprandial, en contraste con las formulaciones de acción más lenta. Esto reduce la magnitud y la duración 50 de cualquier desviación relacionada con la comida con respecto a los niveles normales de glucosa y la toxicidad de la glucosa asociada, así como el riesgo de hipoglucemia posprandial. Este control mejorado de los niveles de glucosa en sangre obtenibles con esta insulina en polvo seco se describe más completamente en la solicitud de patente de EE.UU. pendiente de tramitación nº11/278.381 presentada el 31 de marzo de 2006, titulada "Control superior de los niveles de glucosa en sangre en el tratamiento de la diabetes". Como se divulga en la solicitud de 55 patente de EE.UU. Nº 11/329,686 y como se ha indicado en lo que antecede, niveles previos elevados de insulina potencian el índice de eliminación de la glucosa, lo que significa que la glucosa se puede eliminar con más rapidez si hay un pico previo de concentración alta de insulina. Dicho tratamiento también conduce a menores niveles de proinsulina en suero, lo que indica una reducción del estrés pancreático biosintético.

60 Los sistemas de liberación de fármaco en micropartículas de dicetopiperazina y procedimientos asociados se describen en las patentes de EE.UU. 5,352,461 y 5,503,852 tituladas "Autoensamblaje del sistema de liberación de fármaco en dicetopiperazina" y "Procedimiento para fabricar sistemas de liberación de fármaco en dicetopiperazina de autoensamblaje", respectivamente. El uso de micropartículas de dicetopiperazina y de polímero biodegradable en liberación pulmonar se describe en las patentes de EE.UU. 6.428.771 y 6.071.97 tituladas 65 "Procedimientos para la liberación de fármacos en el sistema pulmonar" y "Micropartículas para liberación pulmonar

que comprende dicetopiperazina”, respectivamente. Los detalles sobre varios aspectos de los posibles procedimientos de formulación y fabricación se pueden encontrar en las patentes de EE.UU. 6.444.226 y 6.652.885 ambas tituladas "Purificación y estabilización de agentes farmacéuticos peptídicos y proteicos"; en la patente de EE.UU. 6.440.463 titulada "Procedimientos para formación de polvo fino"; en las solicitudes de patente de EE.UU. provisionales pendientes de tramitación N^o. 60/717,524, presentada el 14/09/05, titulada "Procedimiento de formulación de fármaco en base a un incremento de la afinidad de los agentes activos por superficies de micropartículas cristalinas"; y 60/776.605, presentada el 14/04/06, titulada "Un procedimiento para mejorar las propiedades farmacéuticas de micropartículas que comprenden dicetopiperazina y un agente activo". Las propiedades y el diseño de un sistema de inhalador en polvo seco potenciado por la respiración se divulgan en la solicitud de patente de EE.UU. N^o 10/655.153 titulada "Cartucho de dosis unitaria e inhalador de polvo seco". Aspectos del tratamiento usando insulina en complejo con micropartículas de dicetopiperazina se divulgan en la patente de EE.UU. 6,652,885 así como en la solicitud de patentes de EE.UU. pendiente de tramitación n^o 11/032,278, titulada "Procedimiento de reducción de los niveles de proinsulina en suero en la diabetes de tipo 2". Adicionalmente, la solicitud de patentes de EE.UU. n^o 11/210,710 titulada "Sales de dicetopiperazina para liberación de fármaco y procedimientos relacionados" divulga el uso de sales de dicetopiperazina para formular la insulina para liberación tanto pulmonar como oral.

También se contempla que cualquier medicación se puede administrar en combinación con la insulina divulgada en el presente documento. Estos medicamentos pueden incluir, entre otros, medicamentos antidiabéticos, miméticos de la incretina, los que conservan la función de las células β , agentes de bloqueo de la coestimulación tales como anticuerpos anti-CD28 o belatacept, anticuerpos anti-CD3 y/o cualquier medicamento inmunosupresor (normalmente usado en un caso de trasplante de islotes), aunque se prefieren los medicamentos que conservan la función de las células β . Ejemplos de medicamentos inmunosupresores incluyen, entre otros, daclizumab, sirolimus, tacrolimus, ácido micofenólico, rapamicina, glucocorticoides, prednisona, azatioprina y ciclosporina, aunque los glucocorticoides, la prednisona, la azatioprina y la ciclosporina se encuentran entre los que son menos preferidos.

Más específicamente, en el presente documento se divulga la administración de TECHNOSPHERE[®]/Insulina (TI) junto con uno o más medicamentos inmunosupresores, por ejemplo un anticuerpo anti-CD3, para prolongar la fase de luna de miel en los pacientes diabéticos de tipo 1. Estos anticuerpos anti-CD3 bloquean la función de los linfocitos T inmunitarios, que son las células responsables de la destrucción de las células beta de los islotes en el páncreas. La expresión "junto con", como se usa en el presente documento significa que TR y los medicamentos inmunosupresores se usan como tratamientos dobles para, en última instancia, reducir el estrés pancreático.

Aunque TI y otra insulina imitadora de la liberación en fase temprana se administran solos o junto con un medicamento inmunosupresor, la insulina se puede administrar en asociación con comidas, preferentemente de una a cuatro veces al día, dependiendo de la necesidad. Con el fin de alcanzar el beneficio máximo del tratamiento, se debe tomar durante periodo de tiempo extendido, preferentemente hasta aproximadamente un mes, más preferentemente de aproximadamente dos meses a aproximadamente seis meses y, lo más preferentemente, durante el resto de la vida del paciente o hasta que se cure la diabetes subyacente. Un indicador de la eficacia y/o un parámetro de monitorización incluyen una evaluación periódica de los niveles de proinsulina del paciente. Por supuesto, la frecuencia de administración y la cantidad de dosis se pueden ajustar de acuerdo con esta determinación periódica de los niveles de proinsulina.

En el presente documento también se divulga un procedimiento de tratar a pacientes diabéticos con una cantidad de dosis administrada por vía pulmonar de TI en polvo seco suficiente para imitar una respuesta de insulina en fase temprana, para disminuir los niveles de proinsulina en suero y/o para controlar los niveles de glucosa en sangre con el fin de mejorar la longevidad de las células productoras de insulina en pacientes diabéticos precoces de tipo 1 y tipo 2 y en pacientes con trasplante de islotes, como se describe en los ejemplos siguientes.

50 Ejemplos

Ejemplo 1

Estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo de la eficacia y seguridad de TECHNOSPHERE[®]/Insulina inhalado en pacientes con diabetes de tipo 2

TECHNOSPHERE[®] polvo seco, insulina pulmonar liberada mediante un pequeño inhalador pulmonar tiene una disponibilidad que imita la liberación normal de insulina de primera fase o fase temprana relacionada con la comida. Este estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo se realizó en pacientes de diabetes mellitus de tipo 2 controlados de forma inadecuada con dieta y tratamiento con agentes orales (HbA1c >6,5 % a 10,5 %). Se reclutó un total de 123 pacientes y 119, la población de intención de tratar (ITT), se aleatorizaron en una proporción de 1:1 a recibir TECHNOSPHERE[®]/Insulina inhalada prandial de cartuchos de dosis unitaria que contienen entre 6 a 48 unidades de insulina humana (origen de ADNr) o TECHNOSPHERE[®]/placebo (PBO) inhalado.

65

Los resultados de hemoglobina glicosilada (HbA1c) se analizaron mediante un plan de análisis estadístico predeterminado para la población de eficacia primaria (PEP, definida antes de desenmascarar como los que cumplían los requisitos del estudio, incluyendo dosis mínimas y sin ajustar los fármacos concomitantes para diabetes), para un subgrupo PEP A (aquéllos con niveles basales de HbA1c de 6,6 a 7,9 %), para un subgrupo PEP B (aquéllos con niveles basales de HbA1c de 8,0 a 10,5 %), así como para la ITT. Estos resultados se resumen en la tabla 1. En este estudio de dosis individualizado, la dosis media de TI usada antes de cada comida en el grupo de tratamiento activo fue aproximadamente 30 unidades, con 28 unidades usadas en el subgrupo PEP A Y 33,5 unidades en el subgrupo PEP B.

Tabla 1

	TECHNOSPHERE®/Placebo	TECHNOSPHERE®/Insulina
PEP n = 90	n = 42	n = 48
Niveles medios basales de HbA1c (%)	7,75	7,74
Δ medio con respecto al valor basal	-0,32	-0,76 (p < 0,0001)
Comparación con el placebo		p = 0,0019
Subgrupo PEP B n= 35	n = 18	n = 17
Niveles medios basales de HbA1c (%)	8,52	8,72
Δ medio con respecto al valor basal	-0,51 (p = 0,0094)	-1,37 (p < 0,0001)
Comparación con el placebo		p = 0,0007
Subgrupo PEP A n= 35	n = 24	n = 31
Niveles medios basales de HbA1c (%)	7,16	7,19
Δ medio con respecto al valor basal	-0,18 (p = 0,1292)	-0,43 (p = 0,0001)
Comparación con el placebo		p < 0,05
IIT (LOCF) n = 119	n = 61	n = 58
Niveles medios basales de HbA1c (%)	7,78	7,87
Δ medio con respecto al valor basal	-0,31 (p = 0,0020)	-0,72 (p < 0,0001)
Comparación con el placebo		p = 0,0016

En el grupo tratado con TI no se produjeron episodios de hipoglucemia grave. Pruebas de función pulmonar, incluyendo Dlco, FEV1 y el volumen alveolar total no mostraron diferencias significativas entre pacientes tratados con TI en comparación con sus valores basales o en comparación con los resultados de los que reciben PBO. No se observaron pruebas de inducción de anticuerpos de insulina con TI durante el periodo de exposición de 12 semanas.

Ejemplo 2Imitación de la respuesta de insulina de fase temprana en seres humanos con insulina inhalada rápidamente biodisponible acelera la eliminación de glucosa posprandial en comparación con la insulina con una biodisponibilidad más lenta

Se estudió la relación entre el tiempo, la concentración de insulina y el índice de eliminación de glucosa en un grupo de 12 sujetos con diabetes de tipo 2 durante una pinza isoglucémica. Cada sujeto recibió 24 UI (Unidades Internacionales) de insulina subcutánea (Actrapid®, Novo Nordisk) o 48 U de TECHNOSPHERE®/Insulina (TI, MannKind Corporation)) en días de estudio separados con un diseño cruzado. El índice de eliminación de glucosa (IEG) se determinó mediante la cantidad de infusión de glucosa requerida para mantener estables los niveles de glucosa en sangre de 120 mg/dl durante el periodo de estudio de 540 minutos (Figura 3).

Cuarenta y ocho unidades de TI proporcionaron una concentración máxima media de insulina (Cmáx) de 114,8 ± 44,1 (media ± SD) mU/l y tenía una mediana del tiempo hasta la concentración máxima (Tmáx) de 15 min, mientras que 24 UI de insulina subcutánea (s.c.) tenían una Cmáx de 63 ± 10,1 mU/l con un Tmáx de 150 min. TECHNOSPHERE®/Insulina alcanzó valores de IEG máximos de 3,33 ± 1,35 mg/min/kg, a 45 min, mientras que en dicho punto de tiempo, la s.c. fue solo de 1,58 ± 1,03 y no alcanzó un valor máximo de 3,38 + 1,45 antes de 255 min, a pesar de concentraciones de insulina casi constantes. Una vez alcanzado el efecto máximo de la insulina, la relación concentración-efecto era la misma para TI que para s.c. A 180 min, la eliminación de glucosa fue 326 ± 119 mg/kg o 61 % del total para TI y 330 ± 153 mg/kg (27 % del total) para s.c.

Un incremento rápido y brusco de la concentración de insulina similar a la respuesta de insulina de fase temprana proporciona un índice de eliminación de glucosa máxima. Cuarenta y ocho unidades de TI alcanzaron un efecto máximo en 45 minutos, mientras que fueron necesarios 270 min para 34 UI de s.v. para llegar a un efecto similar.

- 5 Este fenómeno no se debe a las diferencias en la relación dosis-efecto para los dos tipos de insulina sino que refleja una diferencia en la respuesta cuando el incremento de la concentración de insulina es más modesto con el tiempo frente a la insulina biodisponible más rápida proporcionada por TECHNOSPHERE®/Insulina. Esto puede tener consecuencias para el control de la glucosa posprandial.
- 10 Asimismo, tres horas después de la dosis, 48 U de TI y 24 UI de s.c. habían ejercido el mismo efecto de hipoglucemiante. No obstante se obtuvo al menos un 1/3 del efecto hipoglucemiante para la dosis s.c. Si la dosis de insulina prandial se titula hacia un objetivo de normoglucemia a las tres horas de una comida, el gran efecto hipoglucemiante restante de la insulina s.c. puede aumentar el riesgo de hipoglucemia posprandial tardía, en comparación con TI.

- 15 Un problema con las formulaciones existentes de insulina para inyecciones subcutáneas ha sido la variabilidad impredecible de la absorción y el relativamente lento incremento de los niveles de insulina en suero en comparación con la respuesta fisiológica de insulina en fase temprana relacionada con la comida, en la que los niveles de insulina en suero pueden alcanzar un máximo en aproximadamente seis minutos. Por tanto, la cinética preferida de las formulaciones de insulina para la sustitución prandial incluye un inicio de la acción rápido y precoz y una duración de acción lo bastante larga como para cubrir la absorción de glucosa relacionada con la comida.
- 20 TECHNOSPHERE®/Insulina pulmonar cumple este requisito imitando la respuesta de insulina de fase temprana en pacientes diabéticos que han perdido esta función. Los pacientes con trasplante de islotes representan una población de pacientes diabéticos tratados que todavía no exhiben respuesta de insulina de primera fase. La administración de TECHNOSPHERE®/Insulina a pacientes con trasplante de islotes restablece la respuesta de insulina de primera fase de modo que reduce el estrés pancreático y mejora la longevidad de las células transplantadas.
- 25

Ejemplo 3

- 30 El tratamiento de seres humanos con insulina pulmonar reduce los niveles de proinsulina en suero

La inhalación de TECHNOSPHERE®/Insulina (TI) proporciona una elevación de la insulina en suero comparable a la respuesta de primera fase. Este estudio investigó la farmacodinámica de TI y su impacto sobre la liberación de proinsulina intacta (iPi). Veinticuatro pacientes con diabetes de tipo 2 recibieron dosis de TECHNOSPHERE® base con 4 cargas diferentes de insulina 0, 12 UI, 24 UI o 48 UI de insulina humana regular recombinante, cinco minutos tras el inicio de comidas estandarizadas en días de estudio distintos. Se midieron los niveles de glucosa en sangre (GS), insulina en suero e iPi en suero antes (0 min), 60 y 120 min después del inicio de cada comida.

- 40 TI disminuyó los niveles de GS posprandiales de un modo dependiente de la dosis. Sesenta minutos después de la comida, la GS (mg/dl) (\pm SD) fue 183,2 (\pm 44,4) para el placebo; 170,8 (\pm 30,5) para 12 UI ($p=0,266$); 156,3 (\pm 31,9) para 24 UI, ($p=0,020$) y 132,6 (\pm 29,1) para 48 UI ($p < 0,001$). Todas las dosis produjeron un incremento de la insulina en suero a los 60 minutos ($p < 0,05$), pero no a los 120 minutos de la inhalación. La administración de TI con 24 UI y 48 UI de dosis de carga de insulina suprimió los niveles de iPi en todos los puntos de tiempo a lo largo del día ($p < 0,05$). Por consiguiente, el uso de TI inhalado para imitar el inicio rápido y la corta duración de la respuesta de insulina de primera fase deberá reducir el estrés sobre las células productoras de insulina. Esto puede mejorar la función general de las células β , la homeostasis de la glucosa endógena y la longevidad de las células β residuales y transplantadas.

- 50 La Figura 3 representa los cambios en los niveles de proinsulina en el tiempo tras la administración pulmonar de partículas de dicetopiperazina/insulina.

Ejemplo 4

- 55 Evaluación de las células β en ratas grasas diabéticas tratadas con insulina pulmonar

Las ratas grasas diabéticas son un modelo de diabetes de tipo 2. Se dispone de dos cepas ZDF y WDF. La diabetes se puede inducir en la cepa WDF alimentándolas con una dieta rica en sacarosa durante aproximadamente una semana. Como alternativa, las ratas ZDF desarrollarán diabetes de forma espontánea aproximadamente a las 13 semanas de edad.

- 60 Tres grupos de 20 ratas se tratan con dosis diarias de insulina mediante inyección subcutánea, TI mediante insuflación pulmonar o aire mediante insuflación pulmonar. La dosis comienza una semana antes del inicio previsto de la diabetes. La dosis se selecciona hasta aproximarla a un equivalente de una dosis humana pero menos de lo que causaría hipoglucemia grave o potencialmente mortal en los animales que todavía no son diabéticos. Los animales se dejan en ayunas durante la noche antes de realizar los análisis de sangre pero, de otro modo, se les da

alimento a demanda.

Los pesos corporales se miden semanalmente. Las mediciones de la glucosa sérica en sangre se realizan dos veces a la semana. El análisis de glucosuria se realiza tres veces a la semana. A los niveles de glucosa en orina superiores a 250 mg/dl les sigue una prueba con el glucosímetro durante 2 días para confirmar el inicio de la diabetes. Después de confirmar el inicio de la diabetes se sacrifica a los animales en 24-48 horas. Los niveles de insulina, proinsulina intacta y péptido C se miden en una muestra de sangre antes de la dosis, semanalmente en las muestras de sangre durante la vida durante la administración de la dosis y en muestras de sangre terminales. Las muestras antes de la dosis y durante la vida se toman como pares justo antes y 3-5 minutos después de la exposición a glucosa en bolo de modo que se pueda evaluar la liberación de insulina de primera fase. En el sacrificio se extrajeron los páncreas de todos los animales y se fijaron en formalina al 10 %. El tejido pancreático se procesa para tinción con hematoxilina y eosina (H y E) y se evaluó la masa de células β . También se evaluaron los índices de proliferación y apoptosis mediante inmunohistoquímica (IHQ) en tejidos pancreáticos.

El estrés reducido y la prolongación de la longevidad de las células β en el grupo de TI vienen indicados por una masa de células β mayor, mayor expresión de los marcadores de proliferación, menor índice apoptótico, retraso de la progresión a, e inicio de, diabetes. La progresión a diabetes se evalúa desde la elevación en el tiempo de los niveles de glucosa en sangre, insulina y péptido C; ausencia o niveles menores de proinsulina intacta en suero y retraso de la pérdida de respuesta de insulina de primera fase,

Ejemplo 5

Evaluación de los linfocitos β en ratones NOD tratados con insulina pulmonar

Los ratones NOD (diabéticos no obesos) son un modelo de diabetes de tipo 1. La diabetes se desarrolla de forma espontánea aproximadamente a las 12-14 semanas de edad, siendo menor la varianza en hembras que en machos.

Tres grupos de 40 ratones hembra se tratan con dosis diarias de insulina mediante inyección subcutánea, TI mediante inhalación o aire mediante inhalación. La dosis comienza antes del inicio previsto de la diabetes, a las 10 semanas de edad. La dosis se selecciona hasta aproximarla a un equivalente de una dosis humana pero menos de lo que causaría hipoglucemia grave o potencialmente mortal en los animales que todavía no son diabéticos. Los animales se dejan en ayunas durante la noche antes de realizar los análisis de sangre pero, de otro modo, se les da alimento a demanda.

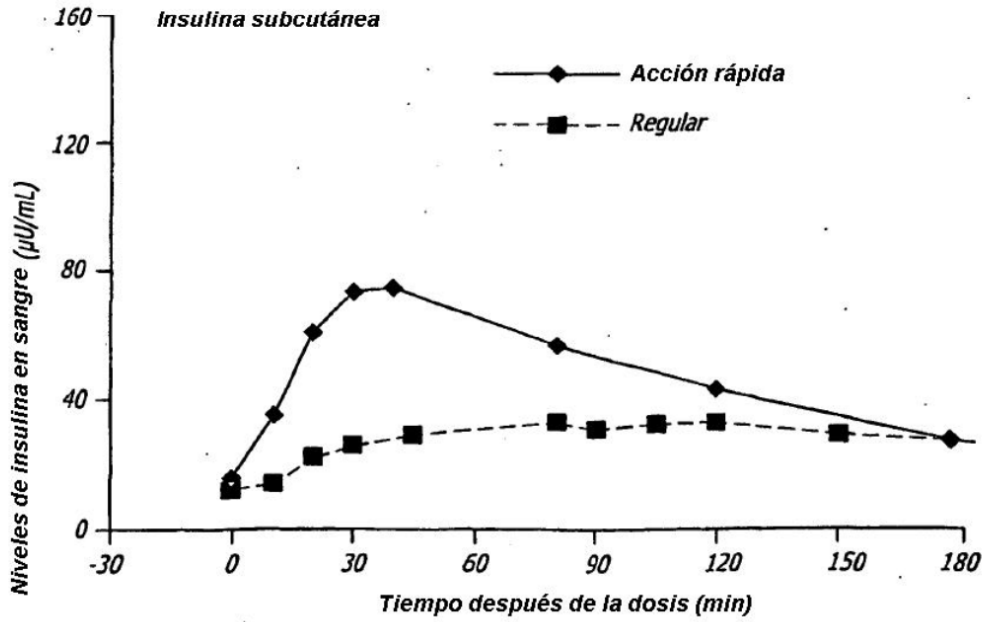
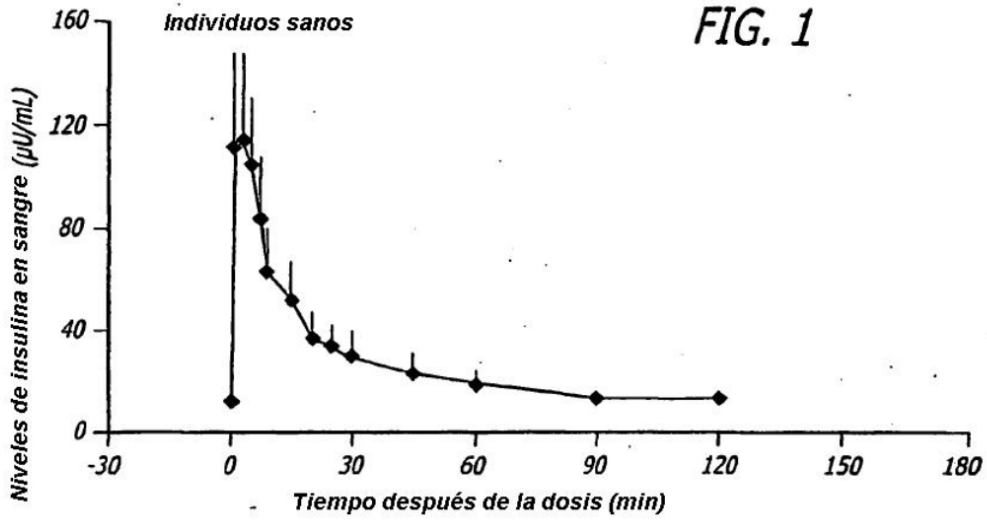
Los pesos corporales se miden semanalmente. Las mediciones de la glucosa sérica en sangre se realizan dos veces a la semana. El análisis de glucosuria se realiza tres veces a la semana. A los niveles de glucosa en orina superiores a 250 mg/dl les sigue una prueba con el glucosímetro durante 2 días para confirmar el inicio de la diabetes. Después de confirmar el inicio de la diabetes se sacrifica a los animales en 24-48 horas. Los niveles de insulina y péptido C se miden en una muestra de sangre antes de la dosis, dos muestras de sangre durante la vida espaciadas igualmente durante la dosis y la muestra de sangre terminal. Las muestras antes de la dosis y durante la vida se toman como pares justo antes y 3-5 minutos después de la exposición a glucosa en bolo de modo que se pueda evaluar la liberación de insulina de primera fase. En el sacrificio se extrajeron los páncreas de todos los animales y se fijaron en formalina al 10 %. El tejido pancreático se procesa para tinción con H y E y se evaluó la masa de células β . También se evaluaron los índices de proliferación y apoptosis mediante IHQ en tejidos pancreáticos.

El estrés reducido y la prolongación de la longevidad de las células β en el grupo de TI vienen indicados por una masa de células β mayor, mayor expresión de los marcadores de proliferación, menor índice apoptótico, retraso de la progresión a, e inicio de, diabetes. La progresión a diabetes se evalúa desde la elevación en el tiempo de los niveles de glucosa y la disminución de insulina y péptido C; y retraso de la pérdida de respuesta de insulina de primera fase,

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición de insulina para usar en la conservación de células productoras de insulina en un paciente con diabetes de tipo 1 en fase de luna de miel o en un paciente con diabetes de tipo 1 que es receptor de un trasplante de células productoras de insulina, en donde al menos una dosis de dicha composición se administra prandialmente a dicho paciente y en donde dicha composición imita una respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida, de modo que los niveles de insulina en suero alcanzan un máximo a los 15 minutos de la administración, y conserva la función de dichas células productoras de insulina.
- 10 2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición se administra por vía oral.
3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición es inhalada.
- 15 4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde dicha composición comprende una formulación en polvo seco.
5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición se administra en cualquier comida que contenga más de 15 g de hidratos de carbono.
- 20 6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende una dosis de insulina suficiente para reducir los niveles séricos de proinsulina.
7. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende una dosis de insulina suficiente para controlar las desviaciones de glucosa.
- 25 8. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, en donde dicha dosis es suficiente para controlar los niveles de glucosa en sangre.
- 30 9. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, en donde dicha dosis es suficiente para reducir la liberación de glucosa desde el hígado.
10. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho nivel máximo de insulina en suero es de al menos 60 mUI/l.
- 35 11. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha composición de insulina comprende una dicetopiperazina de fumarilo (FDKP) asociada con insulina.
12. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde dicha dosis está dentro del intervalo equivalente a 15 UI a 90 UI de FDKP insulina.
- 40 13. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde a dicho paciente se le trata adicionalmente con un sensibilizador a la insulina o un secretagogo de la insulina.
- 45 14. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha dosis de la composición es suficiente para controlar los niveles de glucosa en sangre y reducir los niveles séricos de proinsulina y de este modo se atenúa el estrés pancreático.
- 50 15. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha dosis de la composición es suficiente para controlar los niveles de glucosa en sangre y reducir los niveles séricos de proinsulina y de este modo se atenúa el estrés pancreático y se alcanza la longevidad de las células productoras de insulina.
16. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde a dicho paciente se le administra al menos una dosis de dicha composición y una medicación inmunosupresora, dicha composición se administra prandialmente y en donde dicha composición y dicha medicación inmunosupresora ralentizan una respuesta autoinmunitaria.
- 55 17. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una formulación de insulina de liberación controlada.
- 60 18. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una preparación de inicio retardado que incluye una formulación de insulina.
- 65 19. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho paciente ha perdido la liberación de insulina de fase temprana y tiene un nivel de hemoglobina glicada en suero (HbA1c) inferior al 8 %.

20. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicha composición se administra en cualquier comida que contenga más de 15 g de hidratos de carbono.
- 5 21. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicho paciente no está a un régimen de insulina prandial.
22. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicho paciente tiene niveles elevados de proinsulina en suero.
- 10 23. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicho paciente tiene una amplitud media de las desviaciones de glucosa elevada.
24. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicho paciente presenta pruebas de estrés oxidativo elevado.
- 15 25. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicho nivel de HbA1c en suero es inferior al 7 %.
- 20 26. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde dicho nivel de HbA1c en suero es inferior al 6,5 %.
- 25 27. Uso de una composición de insulina en la fabricación de un medicamento para la conservación de células productoras de insulina en un paciente con diabetes de tipo 1 en fase de luna de miel o en un paciente con diabetes de tipo 1 que es receptor de un trasplante de células productoras de insulina en donde al menos una dosis de dicha composición se administra prandialmente a dicho paciente y en donde dicha composición imita una respuesta fisiológica de la insulina de fase temprana relacionada con la comida, de modo que los niveles de insulina en suero alcanzan un máximo a los 15 minutos de la administración, y conserva la función de dichas células productoras de insulina.



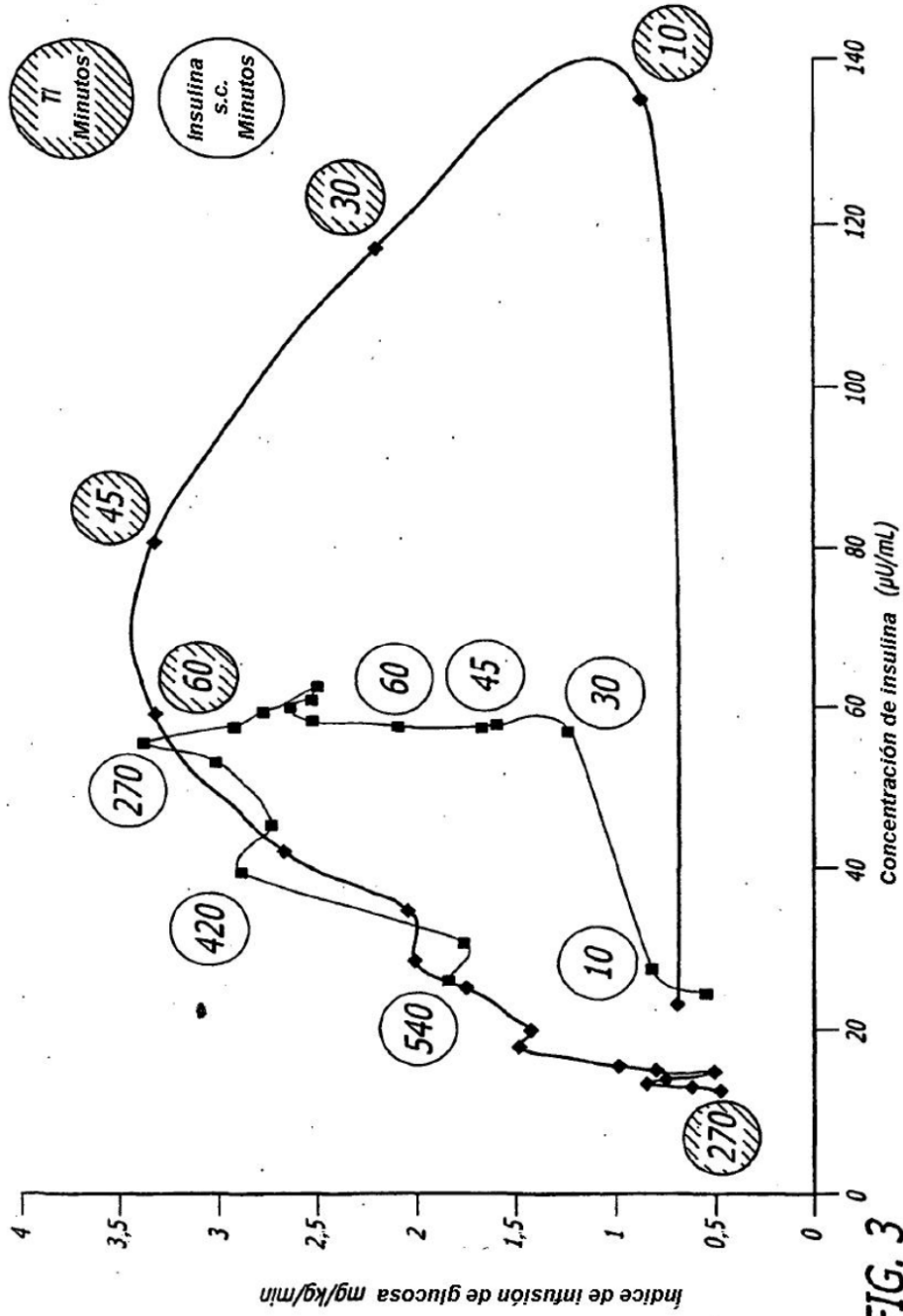


FIG. 3

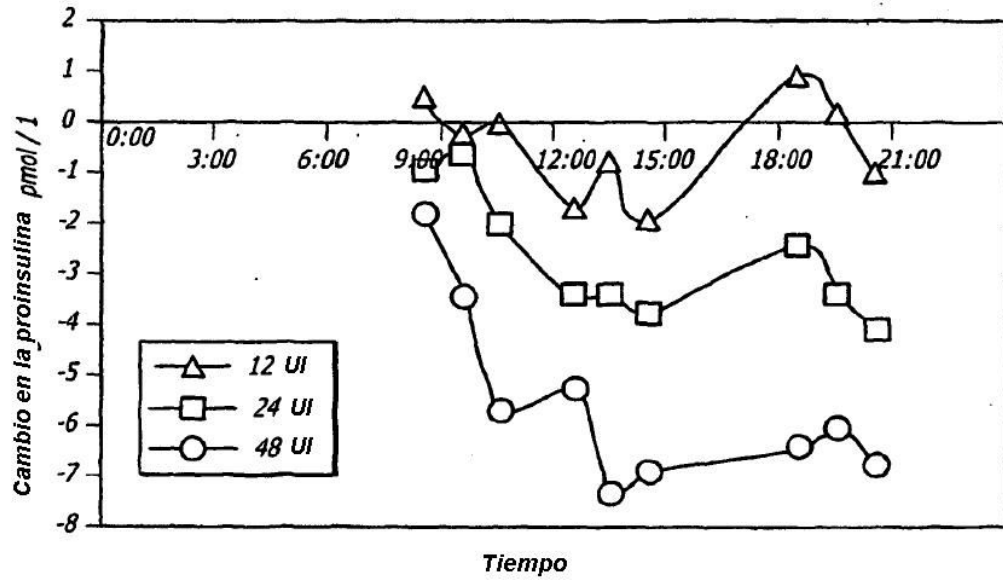


FIG. 4