

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 475 211**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/185** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)  
**A61P 27/02** (2006.01)  
**A61K 31/315** (2006.01)  
**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 9/20** (2006.01)  
**A61K 9/48** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2009 E 09720199 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.04.2014 EP 2254567**

54 Título: **N-acetil-taurinato de cinc para su uso en un método de prevención y/o de tratamiento de enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina**

30 Prioridad:

**26.02.2008 FR 0851233**

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

**10.07.2014**

73 Titular/es:

**TRI-INV (100.0%)  
64 rue de Longchamp  
92200 Neuilly sur Seine, FR**

72 Inventor/es:

**DURLACH, JEAN**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 475 211 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

N-acetil-aurinato de cinc para su uso en un método de prevención y/o de tratamiento de enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina

5 La presente invención se refiere a un nuevo uso del N-acetil-aurinato de cinc.

10 El N-acetil-aurinato de cinc pertenece a la familia de los derivados de la taurina con actividad neuromuscular reforzada, que se describen en la patente de Francia FR 2 384 751. En la actualidad, se ha descubierto de forma sorprendente que el N-acetil-aurinato de cinc (ATA-Zn) se puede usar para prevenir y/o tratar las enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina.

En particular, la acumulación de lipofuscina se puede deber al envejecimiento o a un estrés oxidativo.

15 El envejecimiento está constituido por un conjunto de modificaciones funcionales que disminuyen progresivamente la capacidad de la persona para asegurar su equilibrio fisiológico. Una de las manifestaciones del envejecimiento es la acumulación en los tejidos de lipofuscina, que es una sustancia auto-fluorescente y no degradable; ésta constituye el signo principal del envejecimiento.

20 El estrés oxidativo (o estrés oxidante) es una agresión de las células y de los tejidos que resulta de una alteración de las reacciones de oxidación en las células que provoca la formación de sustancias tóxicas, tales como los radicales libres (o especies reactivas del oxígeno llamadas "Especies Reactivas del Oxígeno (ROS)") en las publicaciones anglosajonas). El estrés oxidativo puede afectar a todos los tejidos y al metabolismo, puede participar en el envejecimiento y en un gran número de patologías tales como enfermedades cardiovasculares (aterotrombosis),  
 25 cánceres, enfermedades inflamatorias, enfermedades metabólicas (diabetes mellitus, obesidad) y enfermedades degenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, cataratas o degeneración macular relacionada con la edad. La degeneración macular relacionada con la edad (DMLA) es la primera causa de discapacidad visual en adultos que tienen más de 55 años en los países industrializados. Se manifiesta por un engrosamiento de la zona macular de la retina o por una atrofia de esta zona y en ocasiones por hemorragias.  
 30 (Ophthalm. Physiol. Opt. 2003, 23 : 383-399 y Optometry in practice, volumen 5 (2004) 15-32).

El cinc está muy concentrado en los tejidos oculares, en particular en la retina y en el epitelio pigmentario. Actúa como un cofactor para las enzimas antioxidantes (deshidrogenasa y catalasa retiniana).

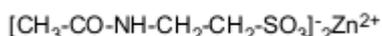
35 Los antioxidantes, tales como las vitaminas C y E, los carotenoides y el cinc pueden limitar los riesgos de progresión de la degeneración macular asociada con la edad.

En particular, se ha demostrado que el cinc desempeña un papel importante en el mantenimiento de la función ocular normal y que el uso del cinc como un suplemento dietético puede disminuir el proceso de envejecimiento en los ratones (Journal of the American college of nutrition, 2001, volumen 20, nº 2, 106-118). Del mismo modo se sabe que el cinc parece tener un papel fundamental en la prevención de la diabetes mellitus y de sus complicaciones (Li X et al. Diabetes and methallothionein. Mini-Reviews in Medical Chemistry 2007; 7: 761-768.) Sin embargo, se debe considerar el uso del cinc como suplemento alimenticio con precaución debido a que un exceso de cinc puede causar efectos tóxicos.

45 Además, los estudios han demostrado que la taurina interactúa estrechamente con el cinc en el desarrollo de la retina en ratas (J. Nutr. 1997, Jun; 127 (6) : 1206-13) y que la taurina en un suplemento dietético, aumenta la absorción del cinc por los fibroblastos (Biometals, 1994, 7, 237-243).

50 En la actualidad se ha encontrado de forma sorprendente que el N-acetil-aurinato de cinc puede prevenir y/o tratar las enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina debida en particular al envejecimiento o a un estrés oxidativo, en particular las enfermedades de la retina, especialmente la degeneración macular relacionada con la edad y la retinopatía diabética.

55 Por lo tanto, la presente invención se refiere al N-acetil-aurinato de cinc de fórmula:



60 para su uso en un método para prevenir y/o tratar las enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina debida en particular al envejecimiento o a un estrés oxidativo, en particular, las enfermedades de la retina, en particular para prevenir y/o retrasar la degeneración macular relacionada con la edad y la retinopatía diabética.

Del mismo modo, la invención se refiere al uso del N-acetil-aurinato de cinc de fórmula:



5 para la preparación de medicamentos útiles para prevenir y/o tratar las enfermedades relacionadas con la acumulación de lipofuscina debida especialmente al envejecimiento o a un estrés oxidativo, en particular, las enfermedades de la retina, especialmente para prevenir y/o retrasar la degeneración macular relacionada con la edad y la retinopatía diabética.

10 El N-acetil-aurinato de cinc se prepara por reacción del anhídrido acético con la taurina en presencia de acetato de cinc según un procedimiento análogo al que se ha descrito para la preparación del N-acetil-aurinato de sodio por M. TERAOKA (Hoppe-Seyler Zeitschrift für Physiologische Chemie, 145, 242 (1925)).

Preferentemente, se usa el N-acetil-aurinato de cinc dihidratado.

15 Para la administración a los pacientes que padecen enfermedades relacionadas con la acumulación de lipofuscina debida al envejecimiento o a un estrés oxidativo, especialmente tales como las enfermedades de la retina, en particular la degeneración macular relacionada con la edad y la retinopatía diabética, el N-acetil-aurinato de cinc se mezcla como principio activo con un excipiente farmacéuticamente aceptable usado normalmente para la preparación de composiciones farmacéuticas que se pueden administrar por vía oral, parenteral o local.

20 De forma ventajosa, el N-acetil-aurinato de cinc se puede presentar bajo las formas que se pueden administrar:

- por vía oral, tales como comprimidos, grageas, cápsulas, cápsulas de gelatina, soluciones en bolsitas, que contienen el principio activo en la dosificación unitaria de 0,06 a 1 g y, para las soluciones de 0,6 a 5 g por 10 ml;
- por vía parenteral, tales como soluciones inyectables envasadas en ampollas, que contienen de 0,1 a 2 g de principio activo por ampolla;
- por vía local, tales como lociones, cremas, pomadas, solutos, colirios, etc...

La dosis a administrar diariamente es por lo general de 0,06 a 10 g y preferentemente de 1 a 2 g.

30 La actividad del ATA-Zn sobre el envejecimiento se ha medido mediante la determinación de la cantidad de lipofuscina en determinados tejidos en ratas de edad avanzada (retina, próstata e hipocampo).

35 La actividad antioxidante del N-acetil-aurinato de cinc se ha demostrado usando la línea de células del epitelio pigmentario de la retina ARPE-19, que constituye una herramienta usada normalmente para el estudio de la fisiología y de la patología de la retina. Esta línea celular se ha descrito en:

- a) Dunn KC et al., "a human retinal pigment epithelial cell line with differentiated properties". Exp Eye Res. 1996; 62: 155-169;
- 40 b) Alizadeh M et al., "Downregulation of differentiation specific gene expression by oxidative stress in ARPE-19 cells". Invest Ophthalmol Vis Sci 2001; 42: 2706-13,
- c) Hui Cai et al. "Gene expression profile of cultured adult compared to immortalized human retinal pigment epithelium" Molecular Vision 2006, 12: 1-14.
- 45 d) Ishida BY et al. High density lipoprotein mediated lipid efflux from retinal pigment epithelial cells in culture. Br J Ophthalmol 2006; 90: 616-620.

Los ensayos realizados que se presentan a continuación muestran que solamente el N-acetil-aurinato de cinc tiene un efecto sobre la producción del trifosfato de adenosina (ATP) por las células ARPE-19 tratadas con ATA-Zn, expuestas a continuación al agua oxigenada (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

50 Sin embargo, el cinc solo o la taurina sola no tienen ningún efecto.

Otros ensayos han mostrado que el efecto del N-acetil-aurinato de cinc sobre la producción de ATP por las células ARPE-19 es casi idéntico o incluso mayor que el de las células antioxidantes de referencia, tales como el ácido docosahexanoico (DHA), la luteína y la zeaxantina. La luteína y la zeaxantina son pigmentos naturales de la familia de los carotenoides que se concentran en la mácula y que la protegen de los daños causados por la oxidación o por la luz. La luteína y la zeaxantina son suplementos alimentarios naturales usados en el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad.

60 A continuación, la invención se va a describir con más detalle para la preparación y los ensayos que siguen a continuación.

### **PREPARACIÓN**

65 Se mezclaron 20,25 g de taurina y 17,5 g de acetato de cinc puro seco y se añadieron 50 g de agua pura.

La suspensión resultante se calentó a una temperatura comprendida entre 65 y 75 °C y a esta suspensión se añadieron 45 g de anhídrido acético y a continuación se calentó a 100-105 °C. A continuación se añadieron 100 ml de etanol anhidro a la mezcla de reacción resultante a una temperatura comprendida entre 70 y 75 °C.

- 5 Por último, se obtuvieron  $30 \pm 3$  g del producto esperado en forma de un polvo de color blanco soluble en agua y poco soluble en etanol (rendimiento en peso : 36,25 %).

**Análisis** (en porcentajes)

Análisis	Calculado	Encontrado
C	24,16	22,75
H	4,05	4,60
N	7,04	5,73
Zn*	16,4	16,7
* dosificación de Zn por EDTA		

10 **ENSAYOS FARMACOLÓGICOS**

**I) Ensayo in vivo**

- 15 a) Efecto del ATA-Zn sobre la acumulación intracelular de lipofuscina en la retina, la próstata y el hipocampo de ratas de edad avanzada.

Ratas Sprague-Dawley albinas macho, de 16 meses de edad, se colocaron en jaulas de plástico convencional, en grupos de 5, con agua y alimento a voluntad. Las condiciones de vida de los animales eran las siguientes: Ciclo de luz día: noche, 12:12 h, temperatura constante de  $22 \pm 2$  °C y humedad relativa de un 60 %.

- 20 Para el tratamiento crónico, se administró a las ratas el ATA-Zn por vía oral, una vez al día durante 4 semanas, con una dosis de 40 mg/kg (n = 6). Los animales de control recibieron solamente agua (vehículo) con la misma duración (n = 6). 24 horas después del fin del tratamiento, las ratas se anestesiaron con equitesina (2,5 mg/kg, i.p.) y se perfundieron por vía transcardiaca con un 1 % de paraformaldehído y un 1,25 % de glutaraldehído en un tampón de un cacodilato de sodio al 0,1 % (pH 7,4) obtenido a partir de anhídrido arsenioso y de acetato de potasio.

- 30 Las muestras de los tejidos recogidos (retina, próstata e hipocampo) se cortaron enseguida con un criostato en trozos pequeños ( $1 \text{ mm}^3$ ) y se fijaron en una mezcla de formaldehído y de glutaraldehído en un tampón de cacodilato durante dos horas. A continuación, las muestras se fijaron en tetraóxido de osmio deshidratado en concentración ascendente de acetona y tolueno y finalmente se incluyeron en bloques de resina (resina EPON). Los trozos de tejido tratados de este modo se examinaron bajo un microscopio de fluorescencia BX-60 de Olympus. La retina, la próstata y el hipocampo mostraron una acumulación clara y significativa de lipofuscina.

- 35 La fluorescencia en todos los tejidos se cuantificó usando un sistema de análisis de imagen (KS 300, Carl Zeiss). El análisis se realizó mediante la medición de porcentaje de superficie oscurecida por la presencia de fluorescencia y se comparó con un área convencional de  $2000 \mu\text{m}^2$  (fluorescencia de la lipofuscina expresada en % de superficie con respecto a la zona convencional) usando un objetivo con un aumento de X40 y un microscopio con cámara de vídeo digital Vision Sound de Zeiss (aumento total en la pantalla del ordenador de 7500X). Los valores medidos en las superficies en ausencia de fluorescencia de los trozos de tejido se restaron como ruido de fondo de la imagen binaria resultante. El análisis se realizó tomando cinco trozos diferentes por tejido (retina, próstata e hipocampo) por animal y eligiendo tres campos diferentes, al azar, para cada pieza. Los resultados expresados como media  $\pm$  desviación estándar y analizados con el ensayo t se representan en las figuras 1, 2 y 3 que son histogramas que expresan la fluorescencia de la lipofuscina (% de superficie) en los tejidos de la retina (Figura 1) de la próstata (Figura 2) y del hipocampo (Figura 3) después de la administración de vehículo o de ATA-Zn.

- 45 La administración crónica del Zn-ATA a una dosis de 40 mg/kg por vía oral produjo una reducción significativa en el porcentaje de la superficie ocupada por la fluorescencia (positivo) de lipofuscina en la retina, la próstata y el hipocampo, en las ratas de edad avanzada, en comparación con los animales de control.

- 50 Este ensayo muestra que el Zn-ATA puede inhibir la acumulación de lipofuscina asociada con el envejecimiento en los tejidos de la retina, el hipocampo y la próstata.

**II) Ensayos in vitro**

- 55 a) Materiales y métodos

En los ensayos que siguen a continuación, se ha usado la línea de células del epitelio pigmentario de la retina humana ARPE-19.

5 Para evaluar el papel protector del ATA-Zn, con respecto a un estrés oxidativo del epitelio de la retina, se ha usado el modelo experimental que sigue a continuación.

10 Las células ARPE-19 cultivadas en un medio apropiado [medio de mezcla DMEM (medio de Eagle modificado con Dulbecco) y medio de Ham F12] que contiene (un 10 % de suero bovino fetal inactivado por el calor; glutamina 2 mM; 0,1 mM de medio esencial mínimo [referencia ?]; una solución de aminoácidos no esenciales y de sulfato de gentamicina, en microplacas con 96 pocillos, se expusieron a diferentes concentraciones de agua oxigenada ( $H_2O_2$ ) que son tóxicas para estas células. Los niveles celulares de ATP se midieron usando el ensayo disponible en el mercado que mide la producción de ATP « ATPLite-M » fabricado por PERKIN ELMER con la ayuda de un lector de multiplacas de PERKIN ELMER Life Sciences, Boston, MA. Este ensayo se basa en el principio de que la producción de ATP depende de la viabilidad celular y del hecho de que la disminución o el aumento de ATP refleja una alteración correspondiente de la viabilidad celular.

15 El efecto protector del ATA-Zn se ha sometido ensayo tratando las células ARPE-19 con el ATA-Zn y exponiendo las posteriormente al agua oxigenada. Se han usado diferentes tiempos de exposición y diferentes dosis. Del mismo modo se realizaron ensayos comparativos. Los resultados de estos ensayos se indican en las figuras 5 a 9 que son gráficos que proporcionan la producción de ATP, expresados en porcentaje con respecto a la producción de ATP de las células de control (que han recibido solamente el vehículo) en función de las concentraciones de  $H_2O_2$ , de ATA-Zn o de sustancias de comparación.

25 *b) Ensayo 1: determinación de las dosis eficaces del ATA-Zn y de su toxicidad.*

Las células ARPE-19 se trataron con diferentes concentraciones de ATA-Zn (de  $10^{-3}$  a  $10^{-9}$  M) disuelto en un vehículo constituido por un medio de cultivo sin suero y que contenía un 0,01 % de DMSO (concentración conocida por que no afecta a la viabilidad celular). La producción de ATP por las células ARPE-19 tratadas de este modo se determinó 24 horas después de la adición de ATA-Zn. Además, se determinó la producción de ATP de las células de control tratadas solamente con el medio de cultivo sin suero y que contenía un 0,01 % de DMSO (vehículo). Los resultados obtenidos, indicados en la figura 4, muestran que las concentraciones bajas de ATA-Zn ( $10^{-9}$  M,  $10^{-8}$  M y  $10^{-7}$  M) son capaces de inducir un aumento de la viabilidad celular mientras que las concentraciones más elevadas ( $10^{-3}$  M) son tóxicas para estas células.

35 *c) Ensayo 2 : efecto citoprotector anti-estrés oxidativo*

En este ensayo se usaron las concentraciones de ATA-Zn que inducen una producción significativa de ATP por las células ARPE-19, y después de 1,5 horas, se sometió a estas células a un tratamiento con  $H_2O_2$  a la dosis tóxica de 700  $\mu$ M. Los resultados obtenidos, recogidos en la figura 5, muestran que el ATA-Zn es capaz de proteger las células de un estrés oxidativo, solamente a la concentración de  $10^{-8}$  M mientras que a la concentración de  $10^{-9}$  M, el ATA-Zn no es eficaz, y que a la concentración de  $10^{-7}$  M, incluso potencia el efecto tóxico del  $H_2O_2$ .

45 *d) Ensayo 3 : efecto citoprotector del ATA-Zn sobre las células sometidas a un estrés oxidativo.*

Las células ARPE-19 se expusieron a diferentes concentraciones de  $H_2O_2$  (expresadas en  $\mu$ M) en presencia o en ausencia de ATA-Zn a  $10^{-8}$  M (tratamiento de una hora y media antes de la exposición al  $H_2O_2$ ). Los resultados recogidos en la figura 6 muestran que el ATA-Zn es capaz de proteger las células ARPE-19 de un estrés oxidativo inducido por diferentes concentraciones de  $H_2O_2$ . De hecho, las concentraciones tóxicas de  $H_2O_2$  no fueron capaces de afectar de manera significativa a la viabilidad celular cuando se trataron previamente con el ATA-Zn.

50 Los ensayos anteriores muestran que el ATA-Zn puede ejercer un papel terapéutico potencial en el tratamiento de diferentes patologías del epitelio de la retina sometido a un estrés oxidativo.

55 *e) Ensayo comparativo n° 1: determinación de las dosis eficaces de taurina y de  $ZnSO_4$ .*

En este ensayo, se comparó el efecto de la taurina sola o N-acetilada y del sulfato de cinc sobre la proliferación de las células ARPE-19. La taurina se usó en dos concentraciones (2 mM y  $10^{-3}$  M) y el sulfato de cinc se usó a las concentraciones que siguen a continuación: 30  $\mu$ M y  $10^{-3}$  M. Los resultados recogidos sobre la figura 7 muestran que ni el sulfato de cinc ni la taurina a las diferentes concentraciones usadas fueron capaces de inducir un efecto proliferativo significativo sobre las células ARPE-19.

60 *f) Ensayo comparativo n° 2: determinación del efecto citoprotector en medio oxidante.*

Con el fin de determinar el efecto antioxidante del sulfato de cinc, de la taurina sola o N-acetilada y del ATA-Zn, se trataron previamente las células ARPE-19 con diferentes concentraciones de  $ZnSO_4$ , de taurina sola o N-acetilada y del ATA-Zn. A continuación, las células se sometieron durante 24 horas a un tratamiento con agua oxigenada a 700

μM. los resultados obtenidos, que se recogen en la figura 8, confirman la capacidad del ATA-Zn para proteger las células ARPE-19 de un exceso oxidativo. Se observará que el sulfato de cinc a la concentración de  $10^{-8}$  M indujo un efecto protector inferior al del ATA-Zn. La taurina y el sulfato de cinc a la concentración de 30 μM no fueron capaces de proteger las células contra el exceso oxidante inducido por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

5

g) Ensayo comparativo nº 3: comparación con los antioxidantes conocidos DHA, luteína y zeaxantina.

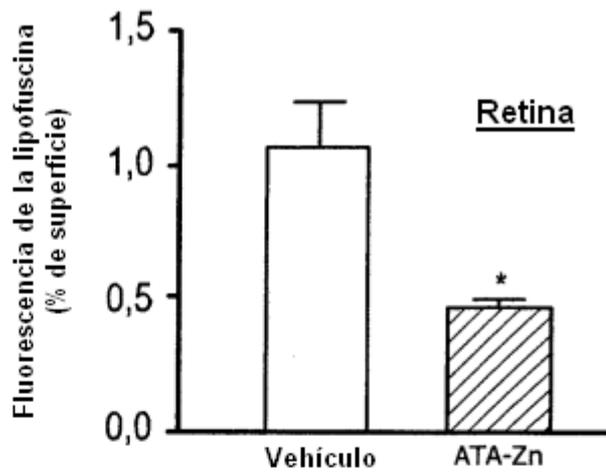
En este ensayo, se comparó el efecto del ATA-Zn con el obtenido con el DHA, la luteína y la zeaxantina, que se usan comúnmente en los estudios clínicos y preclínicos en particular por sus propiedades antioxidantes y en el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad. Los resultados de la figura 9 muestran que el ATA-Zn tiene un efecto comparable con el de los antioxidantes conocidos.

10

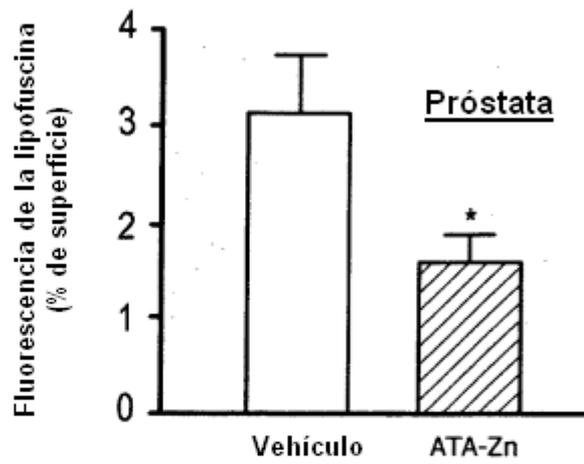
**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso del N-acetil-taurinato de cinc para la preparación de medicamentos útiles para prevenir y/o tratar las enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de medicamentos útiles para prevenir y/o tratar las enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina debida al envejecimiento.
- 10 3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de medicamentos útiles para prevenir y/o tratar las enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina debida a un estrés oxidativo.
4. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para la preparación de medicamentos útiles para prevenir y/o retrasar la degeneración macular relacionada con la edad y la retinopatía diabética.
- 15 5. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 **caracterizado por que** el N-acetilo-taurinato está dihidratado.
- 20 6. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para la preparación de medicamentos para la administración por vía oral.
7. Uso de acuerdo con la reivindicación 6, para la preparación de medicamentos en forma de cápsulas de gelatina, sobrecitos, comprimidos o soluciones que contienen de 0,06 a 1 g por dosis unitaria o de 0,6 a 5 g/10 ml de solución.
- 25 8. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para la preparación de medicamentos para la administración por vía parenteral.
9. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, para la preparación de medicamentos en forma de ampollas inyectables que contienen de 0,1 a 2 g por ampolla.
- 30 10. Composición farmacéutica para uso en un método para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina, **caracterizada por que** contiene N-acetil-taurinato de cinc en forma de principio activo en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 35 11. Composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 10, **caracterizada por que** se presenta en forma de cápsulas de gelatina, sobrecitos, comprimidos o soluciones que contienen de 0,06 a 1 g por dosis unitaria o de 0,6 a 5 g/10 ml de solución.
- 40 12. Composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 10, **caracterizada por que** se presenta en forma de ampollas inyectables que contienen de 0,1 a 2 g por ampolla.
- 45 13. N-acetil-taurinato de cinc para su uso en un método para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con la acumulación de lipofuscina.
14. N-acetil-taurinato de cinc para su uso en un método para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la acumulación de lipofuscina debida al envejecimiento.
15. N-acetil-taurinato de cinc para su uso en un método para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la acumulación de lipofuscina debida a un estrés oxidativo.
- 50 16. N-acetil-taurinato de cinc para su uso en un método para prevenir y/o retrasar la degeneración macular relacionada con la edad o la retinopatía diabética.

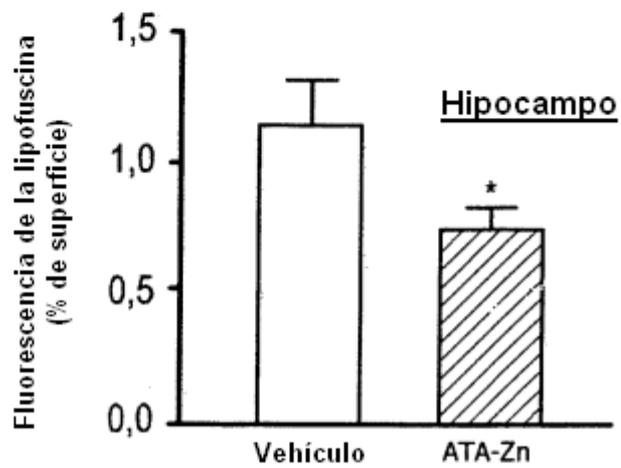
**Figura 1**



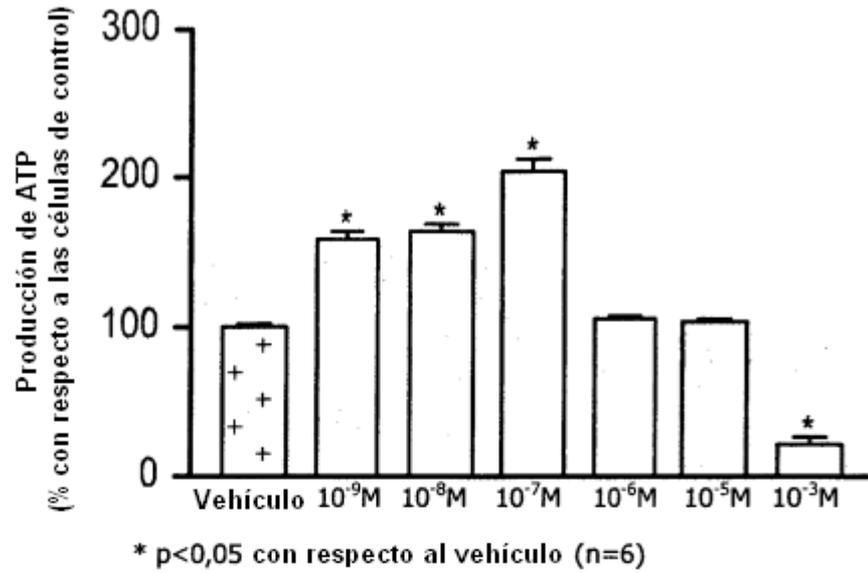
**Figura 2**



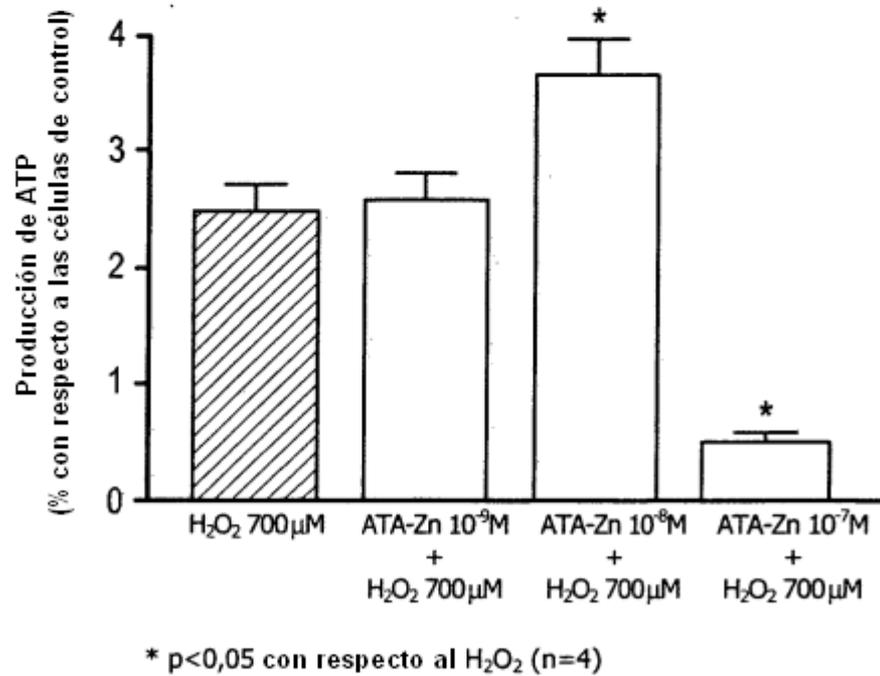
**Figura 3**



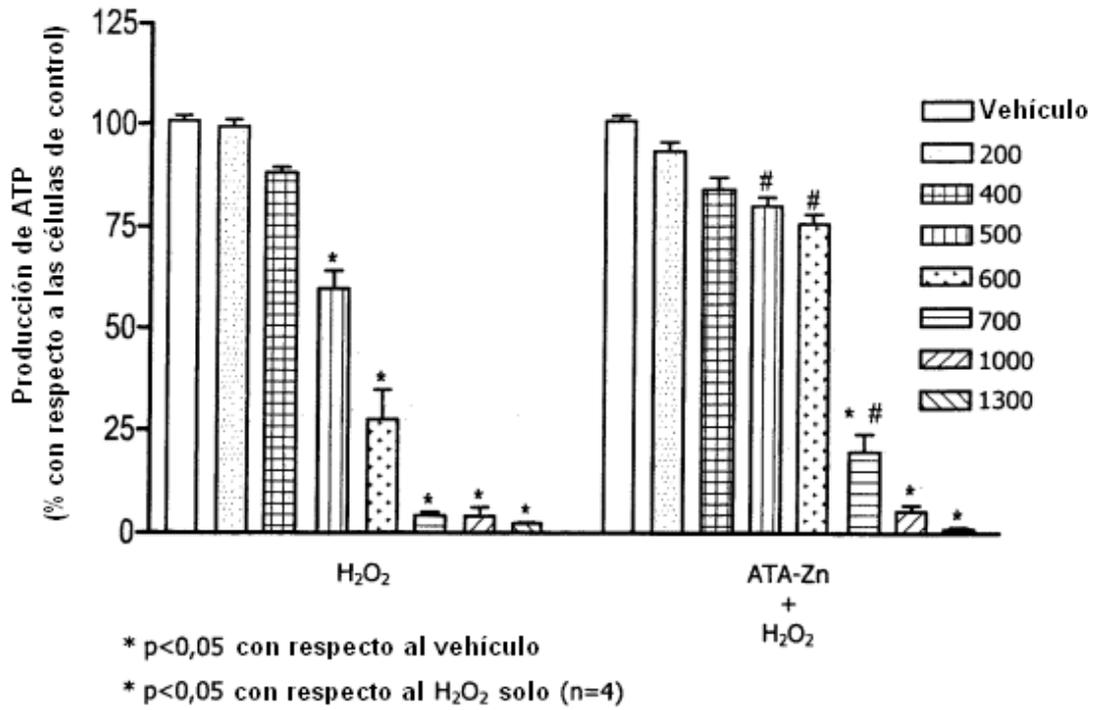
**Figura 4**



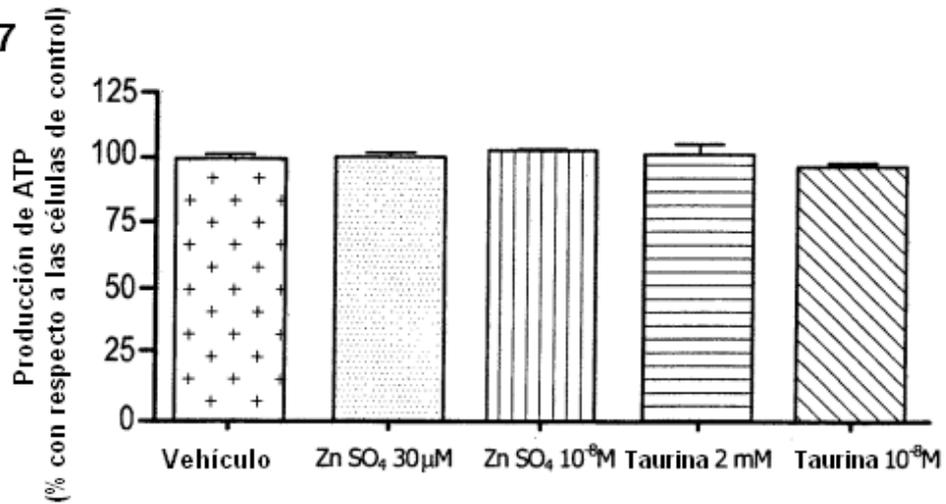
**Figura 5**



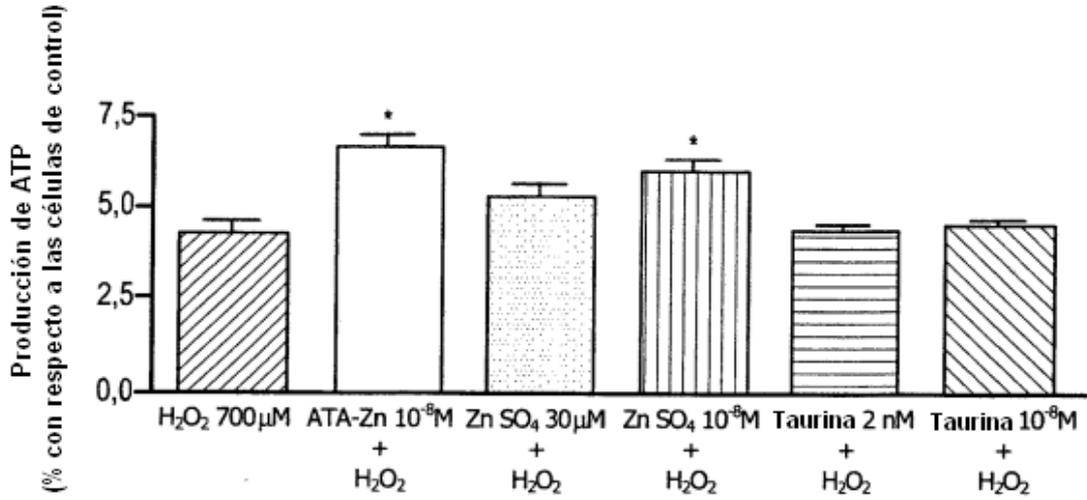
**Figura 6**



**Figura 7**

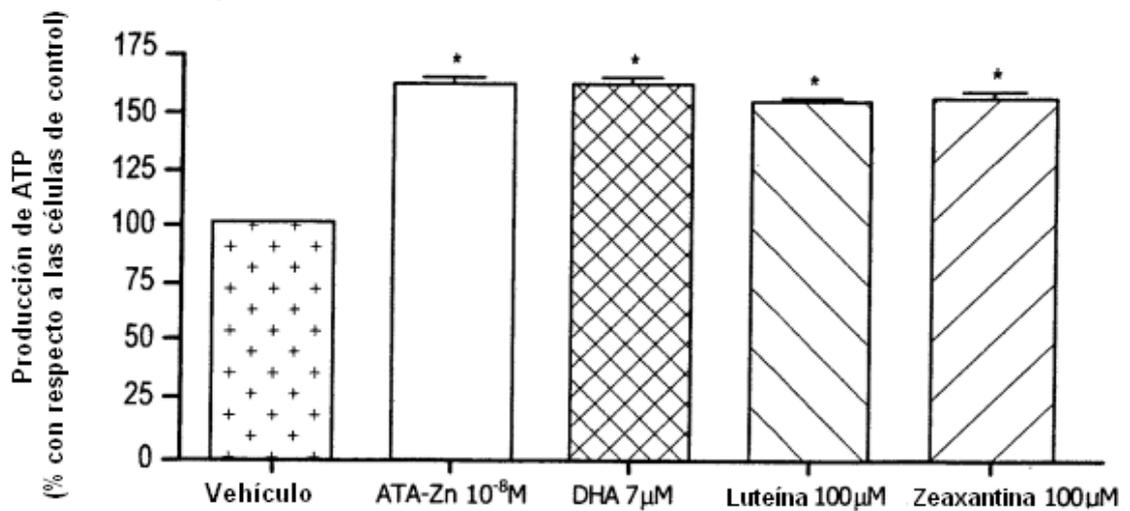


**Figura 8**



\* p<0,05 con respecto al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (n=4)

**Figura 9**



\* p<0,05 con respecto al vehículo (n=4)