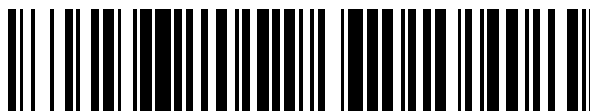


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 659**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/17** (2006.01)

**A61P 9/04** (2006.01)

**A61P 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2005 E 05749305 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 1768689**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares**

30 Prioridad:

**11.06.2004 AU 2004903188**

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

**28.11.2014**

73 Titular/es:

**VECTUS BIOSYSTEMS LIMITED (100.0%)  
3-11 PRIMROSE AVENUE  
ROSEBERY, NSW 2018, AU**

72 Inventor/es:

**DUGGAN, KAREN ANNETTE**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 523 659 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**

Composiciones y procedimientos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a composiciones y procedimientos para el tratamiento terapéutico o profiláctico de la fibrosis miocárdica o afecciones relacionadas.

**Antecedentes**

Ninguno de los análisis de la técnica anterior presentes a lo largo de la memoria descriptiva se considerará en modo alguno una admisión de que tal técnica anterior se conoce ampliamente o forma parte del conocimiento general común del campo.

10 En la fibrosis miocárdica, el músculo cardíaco se reemplaza con tejido fibroso o cicatricial. Esto puede interferir con la flexibilidad del músculo cardíaco. Puede dar lugar a una disminución de la función y, con el tiempo, a una insuficiencia cardíaca sintomática.

15 En Australia, la insuficiencia cardíaca congestiva afecta al uno por ciento de la población general y a entre el tres y el cinco por ciento de los mayores de 65 años, y se eleva hasta del diez al veinte por ciento de la población con 80 años de edad o más.

20 La insuficiencia cardíaca congestiva es la causa más común de ingreso hospitalario en la medicina de adultos. La mortalidad anual de pacientes ingresados varía desde el 10 al 20 % en los que presentan síntomas de leves a moderados y del 40 al 60 % en aquellos con insuficiencia cardíaca grave. El impacto de estos ingresos y el coste para la comunidades son tales que al menos dos Gobiernos Estatales de Australia han financiado programas para mejorar la atención de la insuficiencia cardíaca. Sin embargo, se trata de programas de etapas avanzadas que, si bien pueden reducir los ingresos en pacientes con una enfermedad grave establecida, no abordan los mecanismos subyacentes. Por tanto, existe una necesidad sustancial de reducir o evitar los ingresos y, especialmente, de evitar y/o invertir la fibrosis miocárdica y su avance, fundamentalmente hacia la etapa final.

25 La base patológica subyacente a la insuficiencia cardíaca congestiva es el desarrollo de la fibrosis miocárdica. Comienza como una fibrosis perivascular y después se extiende hacia el intersticio, se generaliza más, y da lugar a una disfunción diastólica y/o, en última instancia, a una insuficiencia cardíaca sintomática. Se han realizado numerosos estudios en seres humanos y animales y en ellos se sugieren diversos factores relevantes para la fibrosis miocárdica, que incluyen la predisposición genética, cardiopatías isquémicas, hipertensión, deficiencia en óxido nítrico, estrés oxidativo, ingesta de sal en la dieta y otros factores diversos.

30 En un estudio del efecto del aporte de sal bajo, intermedio y alto en ratas, el grado de fibrosis miocárdica aumentaba con el aumento de la ingesta de sal en la dieta. Se observó que había una correlación negativa entre la concentración de péptido intestinal vasoactivo (VIP) en el corazón y el grado de fibrosis miocárdica (Experimental Physiology (2002) 87.5, 539-546). Este estudio apunta a que la disminución de la concentración miocárdica de VIP puede desempeñar un papel patógeno en el desarrollo de la fibrosis miocárdica.

35 El péptido intestinal vasoactivo (VIP) se purificó por primera vez en o aproximadamente a mediados de la década de 1970 y después se sintetizó.

40 En la patente de EE. UU. n.º 4.939.224 se analizan numerosas y variadas actividades biológicas del VIP. Incluyen la relajación de la musculatura lisa, la inducción de la vasodilatación, la estimulación de la secreción intestinal de agua y electrolitos, la neuroregulación, la estimulación de la producción de jugo pancreático y la inhibición de la secreción de ácido gástrico. Sin embargo, tiene efectos secundarios nocivos significativos, incluidos la hipotensión, taquicardias y rubor.

45 Dado que se sabía que el VIP ejercía una acción vasodilatadora y un efecto ionotrópico en el corazón, se estudió su papel en la isquemia miocárdica (19:J Pharmacol Exp Ther, feb de 1994; 268(2):952-8). El estudio se realizó en corazón de rata aislado. En el estudio se observó que se liberaba una cantidad significativa de VIP desde el corazón isquémico reperfundido. En un experimento de seguimiento, se perfundió con VIP el corazón de rata aislado, se indujo la isquemia y después se cortó el flujo coronario, seguido de reperfusión. El estudio indicó una mejora significativa de la función miocárdica por el VIP, puesta de manifiesto por la potenciación del flujo coronario y las funciones del ventrículo izquierdo y la reducción de daños tisulares.

50 Se llevó a cabo un estudio en trabéculas aisladas a partir de la aurícula derecha y el ventrículo izquierdo de corazones humanos (Clinical Science (2001) 101, 637-643). Los corazones se tomaron de individuos previamente sanos que habían muerto por accidentes cerebrovasculares o traumatismos craneales. En el estudio se observó que el VIP tenía un efecto ionotrópico positivo directo tanto en las aurículas como en los ventrículos del corazón humano.

En el estudio al que se hace referencia anteriormente (Experimental Physiology (2002) 87.5, 529-546), los

experimentos se llevaron a cabo en corazones extirpados de ratas tratadas con dietas de sodio. En este estudio *in vitro* se observó que había una correlación significativa entre la disminución de la concentración miocárdica de VIP y el aumento del grado de fibrosis miocárdica en el corazón. Esto apuntaba a que la reducción de VIP en el corazón puede desempeñar un papel en el desarrollo de la fibrosis.

5 A pesar de los resultados de los estudios *in vitro*, anteriormente se había observado que un corazón sano no incorpora el VIP inyectado (*Gastroenterology* (1979) 77.1, 55-60). La incapacidad de un corazón sano para incorporar el VIP inyectado indicaba que el VIP no tenía ningún papel como opción terapéutica para el tratamiento o la prevención de la fibrosis miocárdica.

10 Es un objetivo de la presente invención superar o mejorar al menos una de las desventajas de la técnica anterior o proporcionar una alternativa útil.

### Sumario de la invención

La presente invención se define en las reivindicaciones.

### Breve descripción de las figuras

15 Figura 1: niveles de fibrosis miocárdica en una serie de modelos de fibrosis miocárdica (panel de la izquierda). El panel de la derecha muestra la diferencia entre las concentraciones miocárdicas medias de VIP en los cuatro modelos después de una hora de infusión de VIP o vehículo. La diferencia entre la concentración miocárdica media de VIP después de la infusión de VIP o vehículo representa una medida de la incorporación de VIP por el miocardio. A medida que empeora la fibrosis, aumenta la cantidad de VIP que incorpora el corazón.

20 Figura 2: índice de fibrosis miocárdica en ratas WKY después de 4 semanas con una dieta rica en sal e infusión de VIP o control de vehículo.

Figura 3: índice de fibrosis miocárdica en ratas WKY con una dieta rica en sal más L-NAME (10 mg/kg/días) durante 4 semanas con infusión de control de vehículo o VIP.

Figura 4: fibrosis miocárdica en ratas de 14 semanas de edad (tiempo cero), después con dieta rica en sal durante 4 semanas y con infusión de vehículo o infusión de VIP (5 pmol/kg/min) durante 4 semanas.

25 Figura 5: fibrosis miocárdica en ratas de 14 semanas de edad (tiempo cero), después con dieta rica en sal más L-NAME (10 mg/kg) en el agua de bebida durante 4 semanas y con infusión de vehículo o infusión de VIP (5 pmol/kg/min) durante 4 semanas.

30 Figura 6: fibrosis miocárdica en ratas WKY tratadas con estreptozotocina (60 mg/kg) a las 14 semanas. Después de 8 semanas de diabetes, comenzó la infusión de VIP en algunas ratas y se continuó durante 4 semanas. Se sacrificaron todas las ratas a las 26 semanas de edad.

Figura 7: A - Concentraciones miocárdicas de VIP en ratas WKY con una dieta rica en sal después de una infusión intravenosa de VIP o control de vehículo durante cuatro semanas. A - Concentraciones miocárdicas de VIP en ratas WKY con una dieta rica en sal y L-NAME (10 mg/kg) en el agua de bebida después de una infusión intravenosa de VIP o control de vehículo durante cuatro semanas.

35 Figura 8: comparación de los efectos del tratamiento con el péptido VIP(1-12) y con la molécula completa de VIP sobre la fibrosis miocárdica. Ambos péptidos se administraron a una dosis de 5 pmol/kg/min durante 4 semanas por vía intravenosa.

40 Figura 9: comparación de los efectos del tratamiento con el péptido VIP(6-28) y con la molécula completa de VIP sobre la fibrosis miocárdica. Ambos péptidos se administraron a una dosis de 5 pmol/kg/min durante 4 semanas por vía intravenosa.

Figura 10: comparación de los efectos del tratamiento con los péptidos VIP(1-12), VIP(6-28) y con la molécula completa de VIP sobre la fibrosis miocárdica. Todos los péptidos se administraron a una dosis de 5 pmol/kg/min durante 4 semanas por vía intravenosa.

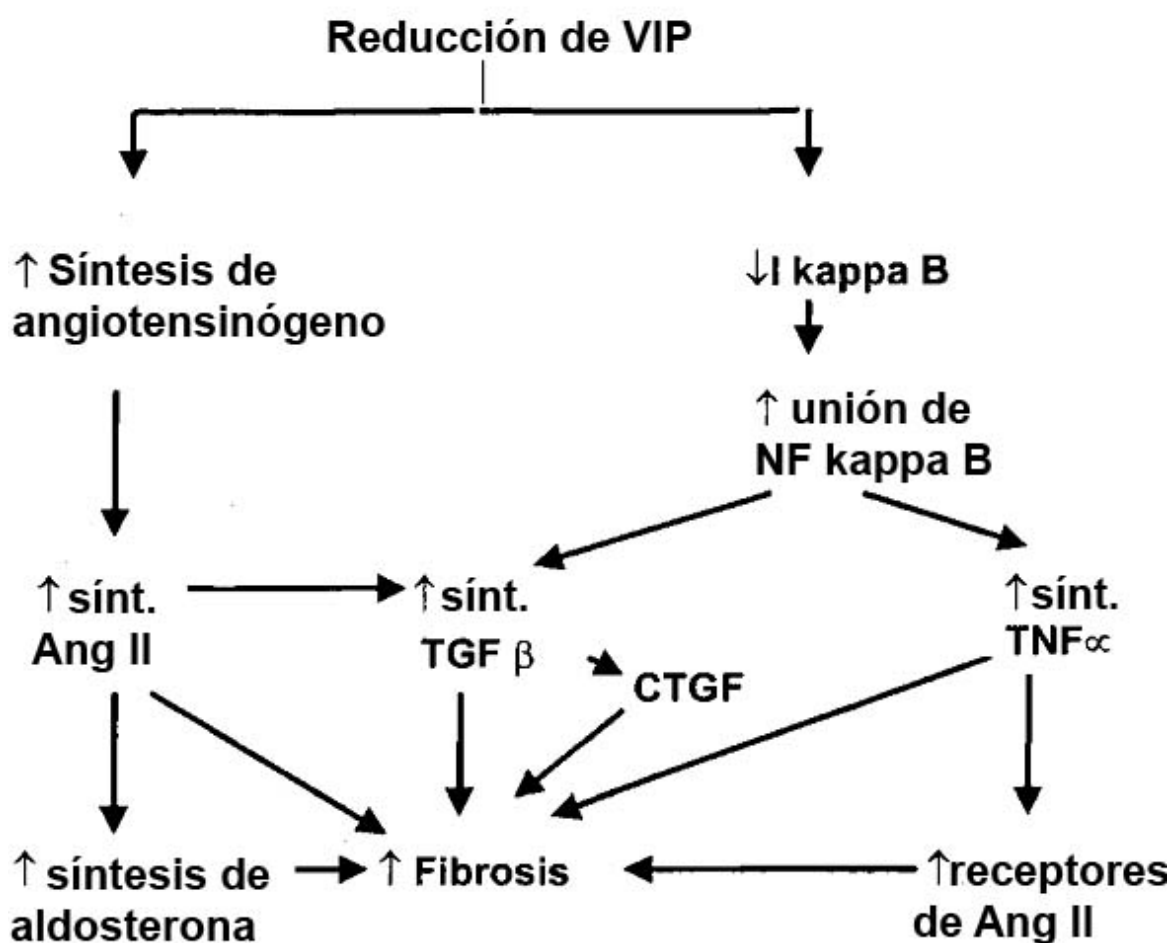
### Descripción del modo de realización preferente

45 Ahora se ha observado, un hecho bastante sorprendente, a la vista de las indicaciones negativas, que el VIP es útil e importante como agente terapéutico para invertir o retardar la aparición de la fibrosis miocárdica, o para evitar la aparición de la fibrosis en sujetos con riesgo de desarrollar fibrosis miocárdica. Por tanto, el VIP también es útil en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva.

50 El uso de las composiciones farmacéuticas de la invención en el tratamiento de la fibrosis miocárdica o de afecciones relacionadas representa una nueva clase de agente terapéutico para estas afecciones. Habitualmente, los tratamientos existentes para la fibrosis miocárdica o las afecciones relacionadas se dirigen a uno, o dos como

máximo, de los mecanismos causantes de la fibrosis miocárdica conocidos. Sin deseo de quedar limitados por ningún mecanismo de acción en particular, se cree que las preparaciones farmacéuticas de la invención se pueden dirigir prácticamente a todos los promotores de la fibrosis miocárdica conocidos actualmente. Además, el VIP en el corazón a concentraciones normales puede actuar para inhibir la producción de mediadores profibróticos. Además del papel del VIP en la homeostasis del sodio y la neurotransmisión, parece que el VIP también es uno de los moduladores principales del sistema inmunitario, que actúa para regular por disminución muchas de las citocinas que participan en el daño tisular inflamatorio autoinmunitario. VIP regula por disminución una serie de citocinas, incluidas, pero sin limitación, la IL<sub>2</sub>, la IL<sub>12</sub>, el IFN- $\gamma$ , el TNF- $\alpha$  y el TGF- $\beta$ , que se sabe que provocan fibrosis tanto en el miocardio como en otros tejidos. VIP también regula por disminución la expresión del NF kappa B, la translocación y la unión por estabilización de I kappa B. Además, el VIP regula por disminución la síntesis de otro mediador fibrótico, la angiotensina II (Ang II) por medio de la regulación por disminución de la síntesis de angiotensinógeno.

Sobre la base de los presentes estudios, y sin deseo de quedar limitados por la teoría, se postula que el VIP actúa como regulador principal para evitar el desarrollo de la fibrosis y que la reducción de VIP puede desencadenar la síntesis de una serie de mediadores profibróticos, provocando así daños miocárdicos. El esquema siguiente representa las interacciones planteadas como hipótesis entre el VIP y los mediadores profibróticos.



En un corazón sano, el miocardio no incorpora VIP. Sin embargo, en estudios de infusión aguda, los presentes inventores han observado que el miocardio incorpora VIP con más avidez al aumentar el grado de fibrosis, lo que sugiere el potencial del VIP como agente reparador.

Los presentes estudios han demostrado que determinados fragmentos de VIP tienen actividades biológicas similares a las de la molécula completa de VIP y que pueden ser más adecuados para las formulaciones farmacéuticas debido a su menor tamaño, mayor estabilidad y facilidad de fabricación. Son fragmentos particularmente útiles el VIP(1-12) y el VIP(6-28).

La presente invención también contempla composiciones farmacéuticas que incluyen el VIP y/o sus fragmentos activos. Tales composiciones pueden incluir cualquier tipo de forma farmacéutica, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, formulaciones líquidas, de liberación retardada o mantenida, parches, para inspirar, pulverizadores

nasales y similares. Adicionalmente, las formulaciones pueden incluir otros ingredientes tales como colorantes, conservantes, tampones y antioxidantes, por ejemplo. La forma física y el contenido de las formulaciones farmacéuticas contempladas son preparaciones convencionales que pueden formular los expertos en el campo de la formulación farmacéutica y que se basan en composiciones y principios bien establecidos que se describen, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>a</sup> edición, 1995; en la Farmacopea Británica (2000) y en manuales y textos sobre formulación similares. Las composiciones de la presente invención pueden incluir también otros agentes activos útiles en el tratamiento de afecciones cardiovasculares.

La vía y la frecuencia de administración de las composiciones de la presente invención dependerán de los requisitos del tratamiento y de la naturaleza de la molécula que se quiera administrar. Por tanto, las formulaciones se pueden preparar adecuadamente para su administración por inyección intravenosa, intramuscular o subepidérmica. El VIP y los fragmentos de VIP también pueden ser adecuados para la administración mucosa tal como por vía oral, sublingual, nasal y similares. Los expertos en la técnica establecen estos parámetros con facilidad.

Se ha demostrado que las composiciones farmacéuticas de la invención son eficaces para evitar o ralentizar la progresión de la fibrosis miocárdica establecida, así como para reducir el grado (inversión) de la fibrosis establecida y, por tanto, son importantes en aplicaciones terapéuticas. Las composiciones de la presente invención también son útiles para el tratamiento profiláctico o terapéutico de la insuficiencia cardíaca congestiva. Son hallazgos importantes con respecto al intervalo y la gravedad de las afecciones que se pueden tratar con las composiciones de la presente invención.

Además, las composiciones de la presente invención se pueden usar de manera profiláctica en sujetos con riesgo de desarrollar fibrosis miocárdica o una afección relacionada. Como ejemplo de sujetos en la categoría de riesgo, están los que tienen hipertensión, diabetes, miocarditis, cardiopatías isquémicas, tratados con fármacos tales como daunorrubicina y otros usados en la quimioterapia contra el cáncer, predisposición genética, otras afecciones tales como el síndrome de Conn y feocromocitoma, dietas ricas en sal y similares. Tal como se usa en el contexto de la presente invención, se pretende que el término "profiláctico/a" englobe, entre otros, tratamiento usados para evitar o ralentizar el desarrollo de la fibrosis en el grupo de riesgo. Una proporción alta de sujetos a los que se les puede dar un tratamiento profiláctico pueden presentar ya signos de insuficiencia cardíaca precoz en un ecocardiograma.

Tal como se usa en el contexto de la presente invención y en referencia a la fibrosis miocárdica, se pretende que el término "afección relacionada" englobe, sin limitación, hipertrofias ventriculares izquierdas, disfunciones diastólicas, miocarditis, cardiomiopatías, disfunciones ventriculares izquierdas e insuficiencia cardíaca congestiva (para las que la fibrosis miocárdica puede ser una enfermedad subyacente). La afección relacionada puede incluir además afecciones que den lugar a la generación de mediadores profibróticos o afecciones que predispongan a un sujeto a la fibrosis miocárdica, tales como, por ejemplo, la hipertensión y/o una ingesta elevada de sal, enfermedades tales como la diabetes y similares.

Al elevar el contenido en VIP del músculo cardíaco en un sujeto con fibrosis miocárdica o una afección relacionada, o con riesgo de desarrollarla, a través del uso de las composiciones de la presente invención se pueden obtener beneficios terapéuticos significativos que incluyen la reducción de la fibrosis, la reducción de la concentración, la producción o la actividad de los mediadores profibróticos, la reducción de la progresión de la fibrosis, la reducción de la formación de colágeno o la potenciación de la degradación del colágeno en el músculo cardíaco.

A continuación se describirá la invención más en particular con referencia a ejemplos no limitantes.

## Parte experimental

### Ejemplo 1 - Estudios preliminares.

En estudios preliminares, se han realizado una serie de experimentos de infusión aguda en modelos animales. En ellos se demostró que cuanto mayor es nivel de fibrosis, mayor es la incorporación de VIP del plasma por el corazón en los animales tratados.

Se han realizado otros experimentos preliminares en una serie de modelos animales, que engloban una intervalo de reemplazos de tejido tisular que varían desde leve a moderado y grave. Los experimentos en modelos animales englobaban una variedad de etologías (solas y en combinación) y una variedad de grados de fibrosis inducida.

Para estos experimentos se usaron dos tipos de ratas, ratas espontáneamente hipertensas (SHR) y ratas Wistar-Kyoto (WKY) normotensas de control. A las ratas WKY se les dio: 1) una dieta baja en sal, 2) una dieta rica en sal o 3) L-NAME ( $\omega$ -monometil-nitro-L-arginina; 10 mg/kg/día) más una dieta rica en sal. A las ratas SHR se le dieron dietas bajas o ricas en sal. También se estudió el efecto de la infusión de VIP sobre la cardiopatía diabética en las ratas WKY con diabetes inducida por estreptozotocina.

En cada grupo de tratamiento, se aleatorizaron las ratas para infundirles VIP o vehículo (n = 24 en cada grupo) durante cuatro semanas. El VIP se administró por medio de una minibomba Alzet a una velocidad de 7,2 nmol/kg/día.

Después de cuatro semanas, se anestesiaron las ratas y se les extirparon los corazones. Se cuantificaron las concentraciones miocárdicas de VIP y la fibrosis miocárdica. Se observó una mejora significativa en los corazones de las ratas tratadas en cuanto que el índice de fibrosis miocárdica era significativamente menor en las ratas tratadas en comparación con los grupos de control.

#### 5 **Ejemplo 2 - Efecto de la infusión de VIP sobre las concentraciones miocárdicas de VIP**

Se aleatorizaron ratas WKY de catorce semanas de edad en dieta baja en sal (0,008 %), dieta intermedia en sal (2,2 %), dieta rica en sal (4,4 %) o dieta rica en sal más L-NAME (10 mg/kg/día) en el agua de bebida durante 4 semanas (n = 16 ratas por grupo). En el día del experimento, se anestesiaron las ratas y se les insertaron cánulas venosas y arteriales. Después de un periodo de equilibrado en reposo de una hora, se aleatorizaron las ratas en infusión de control de vehículo (Haemacell, Aventis) o VIP (10 pmol/kg/min) durante una hora a una velocidad de infusión de 0,017 ml/min. Después, se extirparon los corazones, se midieron las concentraciones miocárdicas de VIP y se cuantificó la fibrosis miocárdica.

La diferencia entre las concentraciones miocárdicas medias de VIP después de la infusión de VIP o control es una medida de la incorporación de VIP por el corazón. Se observó que esta diferencia aumentaba a medida que aumentaba el grado de fibrosis (véase la figura 1).

#### 15 **Ejemplo 3. - Efecto de la infusión de VIP sobre la fibrosis en modelos animales de fibrosis**

Se usaron tres modelos animales de fibrosis miocárdica (se obtuvieron los animales de Australian Animal Resources, Perth, Western Australia, Australia)

i) rata WKY alimentada con una dieta rica en sal

20 ii) rata WKY alimentada con una dieta rica en sal a la que se le administra L-NAME ( $\omega$ -monometil-nitro-L-arginina, Sigma Chemical Co.) de 10 mg/kg/día en el agua de bebida.

iii) ratas WKY con diabetes inducida por la inyección de 60 mg/kg de estreptozotocina

25 En cada modelo, se aleatorizaron las ratas en infusión de VIP (H-His-Ser-Asp-Ala-Val-Phe-Thr-Asp-Asn-Tyr-Thr-Arg-Leu-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Asn-Ser-Ile-Leu-Asn-NH<sub>2</sub>, obtenido de Auspep, Australia) o control de vehículo (Haemacel, Aventis) durante 4 semanas por medio de una minibomba Alzet (n = 6-8 en cada grupo experimental). La dosis de VIP fue de 5 pmol/kg/min.

30 En los modelos i) y ii), las ratas WKY de 14 semanas de edad iniciaron una dieta rica en sal más L-NAME. Se sometieron a la inserción quirúrgica de una minibomba Alzet para la infusión de VIP o vehículo. Después de 4 semanas, se anestesiaron las ratas y se les extirparon los corazones. Se cuantificaron el VIP miocárdico y la fibrosis miocárdica.

En el modelo iii), a las ratas se les inyectó estreptozotocina a 60 mg/kg a las 14 semanas de edad. Después de 8 semanas, se aleatorizaron las ratas diabéticas en infusión de VIP (5 pmol/kg/min) o sin tratamiento. El VIP se administró como anteriormente. Después de otras 4 semanas, se anestesiaron las ratas y se les extirparon los corazones como anteriormente.

35 Se cuantificaron las concentraciones miocárdicas de VIP y la fibrosis miocárdica.

Se midió el VIP por un radioinmunoensayo de manera conocida (véanse Davis R.E., Shelley S., Macdonald G.J. y Duggan K.A. (1992) The effects of a high sodium diet on the metabolism and secretion of vasoactive intestinal peptide in the rabbit. *J. Physiol.* 451:17-23. Duggan K.A., Ye V.Z.C., Jones D.M. Davis R.E. y Macdonald G.J. (1995) Effects of Endopeptidase 24.11 blockade on plasma and tissue concentrations of vasoactive intestinal peptide *Clin. Sci.* 89:267-271). El grado de fibrosis miocárdica se cuantificó por dos procedimientos de manera conocida (consúltense Ye VZC, Hodge G, Yong JLC y Duggan KA (2002) Early myocardial fibrosis is associated with depletion of vasoactive intestinal peptide in the heart *Exp. Physiol* 87:539-546 Ye VZC, Hodge G, Yong JLC y Duggan KA (2003) Myocardial VIP and myocardial fibrosis induced by nitric oxide synthase inhibition in the rat *Acta Physiol. Scand.* 179:353-360. Ye VZC, Hodge G, Yong JLC y Duggan KA (2004) Vasopeptidase inhibition reverses myocardial VIP depletion and decreases myocardial fibrosis in salt sensitive hypertension *Europ. J. Pharmacol.* 485:235-242).

Se observó una mejora significativa en los corazones de las ratas tratadas en cuanto que el índice de fibrosis miocárdica era significativamente menor en las ratas tratadas en comparación con los grupos de control (figura 2 y 3).

#### 50 **Ejemplo 4 - Efecto del tratamiento con VIP sobre el contenido miocárdico de VIP y la regresión de la fibrosis en modelos animales de fibrosis.**

Para determinar si la infusión de VIP provocaba la regresión de la fibrosis existente y evitaba la progresión de la fibrosis, se realizaron dos grupos de estudios.

i) se comparó el grado de fibrosis miocárdica de ratas WKY de 14 semanas de edad sin tratar con el grado de fibrosis de ratas WKY de 18 semanas de edad después de 4 semanas de tratamiento con una dieta rica en sal o con una dieta rica en sal más L-NAME (10 mg/kg/día) e infusión de VIP (5 pmol/kg/min) o control (véanse las figuras 4 y 5)

5 ii) se sacrificaron ratas WKY de control que no eran diabéticas a las 26 semanas de edad y se comparó el grado de fibrosis miocárdica con el de ratas WKY que habían tenido diabetes inducida por la inyección de estreptozotocina (60 mg/kg) a las 14 semanas. Después de 8 semanas de diabetes, se aleatorizaron las ratas en infusión de VIP (5 pmol/kg/min) por medio de una minibomba Alzet o sin tratamiento durante otras 4 semanas (véase la figura 6).

10 Los resultados se muestran en las figuras 4 a 6. Los datos muestran una clara regresión de la fibrosis miocárdica en los tres modelos después de la infusión de VIP. El modelo de rata diabética demuestra la misma acción del VIP en un modelo que no está relacionado con la ingesta de sal o una tensión arterial elevada. La regresión de la fibrosis puede ser debida a la reducción de la formación de colágeno o a la potenciación de su degradación. Sin deseo de quedar limitados por ningún mecanismo de acción en particular, es probable que la regresión de la fibrosis miocárdica se deba a la acción de la colagenasa, que desempeña un papel en la reabsorción del colágeno.

15 La medida del contenido miocárdico en VIP en los modelos animales anteriores muestra una clara asociación entre el grado de fibrosis y la incorporación de EVIP exógeno (véanse las figuras 7A y 7B)

#### **Ejemplo 5 - Efecto de los fragmentos de VIP sobre la fibrosis miocárdica**

20 Para determinar si los péptidos relacionados con VIP más pequeños presentaban alguna de las actividades biológicas de la molécula de VIP completa, en particular para reducir la fibrosis miocárdica, se comparó el grado de fibrosis miocárdica después del tratamiento con VIP(1-12) a 5 pmol/kg/min y VIP(6-28) a 5 pmol/kg/min durante 4 semanas por medio de una minibomba Alzet con el VIP completo (5 pmol/kg/min) y el control de vehículo. Los fragmentos de VIP se adquirieron de Auspep (Melbourne, Australia).

25 Brevemente, las ratas de WKY de 14 semanas de edad iniciaron una dieta rica en sal como se describe anteriormente. Se sometieron a la inserción quirúrgica de una minibomba Alzet para la infusión del péptido VIP o vehículo. Después de 4 semanas, se anestesiaron las ratas, se les extirparon los corazones y se cuantificó la fibrosis miocárdica en secciones con tinción tricrómica de Masson usando el Image Pro Plus, versión 5 (Cybernetics). Tanto el VIP(1-12) como el VIP(6-28) redujeron el grado de fibrosis miocárdica en comparación con el control de vehículo. La eficacia del VIP(1-12) fue aproximadamente 1/3 la del VIP, mientras que el VIP(6-28) fue igual de eficaz que el VIP. Los resultados de estos estudios se muestran en las figuras 8 a 10.

30 La importancia de la presente invención para la atención sanitaria resultará evidente de inmediato para un experto en la técnica tras la lectura de la presente divulgación. Aunque la capacidad de tratar la insuficiencia cardíaca ha mejorado significativamente con la llegada de los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE) y los bloqueantes del receptor de la angiotensina, así como con el conocimiento de que los antagonistas de la aldosterona y los beta bloqueantes mejoran los resultados en enfermedades avanzadas, la adición de la preparación farmacéutica de la invención, que actúa para evitar la progresión de la lesión subyacente (fibrosis) o incluso invierte la fibrosis, tiene la capacidad de evitar la escalada de la enfermedad de leve a grave y, por consiguiente, de reducir sustancialmente la carga de atención sanitaria.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de uno o más péptido intestinal vasoactivo (VIP) y/o fragmento(s) activo(s) del mismo para la preparación de un medicamento para el tratamiento terapéutico o profiláctico de la fibrosis miocárdica en un sujeto, en el que el fragmento activo es VIP(1-12) y/o VIP(6-28).
- 5 2. Uso de la reivindicación 1, en el que el tratamiento comprende administrar el uno o más péptido intestinal vasoactivo (VIP) y/o fragmento(s) activos del mismo por una vía seleccionada del grupo que consiste en intravenosa, intramuscular, subepidérmica y oral.
- 10 3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento es un tratamiento profiláctico y el sujeto tiene hipertensión, diabetes, miocarditis, cardiopatías isquémicas, una predisposición genética, el síndrome de Conn, feocromocitoma o una dieta rica en sal o está recibiendo tratamiento con fármacos que se usan en la quimioterapia contra el cáncer.
4. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el tratamiento profiláctico comprende evitar el desarrollo de la fibrosis.
- 15 5. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el tratamiento profiláctico comprende ralentizar la progresión de la fibrosis.
6. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el tratamiento o la profilaxis reduce los niveles, inhibe o reduce la producción de mediadores profibróticos en un sujeto, en el que los mediadores profibróticos se seleccionan del grupo que consiste en IL<sub>2</sub>, IL<sub>12</sub>, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , NF kappa B y angiotensina II.
- 20 7. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el tratamiento o la profilaxis eleva el contenido en VIP en el músculo cardíaco de un sujeto.
8. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el tratamiento o la profilaxis reduce la formación de colágeno o potencia la degradación de colágeno en el músculo cardíaco de un sujeto.
- 25 9. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el tratamiento es terapéutico y la fibrosis miocárdica está relacionada con una afección seleccionada del grupo que consiste en hipertrofia ventricular izquierda, disfunciones diastólicas, miocarditis, cardiomiopatías, disfunción ventricular izquierda e insuficiencia cardíaca congestiva.
10. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el tratamiento es profiláctico y el sujeto tiene una afección que le predispone a la fibrosis miocárdica seleccionada del grupo que consiste en hipertensión, ingesta elevada de sal y diabetes.
- 30 11. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el tratamiento comprende además al menos otro agente terapéutico útil en el tratamiento de afecciones cardiovasculares para el tratamiento profiláctico o terapéutico de la fibrosis miocárdica o una afección relacionada.
12. Composición que comprende uno o más fragmentos activos de VIP para su uso en el tratamiento terapéutico o profiláctico de la fibrosis miocárdica, en la que el fragmento activo se selecciona de VIP(1-12) y VIP(6-28).
- 35 13. Composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que se formula uno o más fragmentos activos de VIP para su administración por vía intravenosa, intramuscular, subepidérmica u oral.
- 40 14. Composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o la reivindicación 13, en la que el tratamiento es terapéutico y la fibrosis miocárdica está relacionada con una afección seleccionada del grupo que consiste en hipertrofia ventricular izquierda, disfunción diastólica, miocarditis, cardiomiopatía, disfunción ventricular izquierda e insuficiencia cardíaca congestiva.
15. Composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 12 o la reivindicación 13, en la que el tratamiento es profiláctico y el sujeto tiene una afección que le predispone a la fibrosis miocárdica seleccionada del grupo que consiste en hipertensión, ingesta elevada de sal y diabetes.



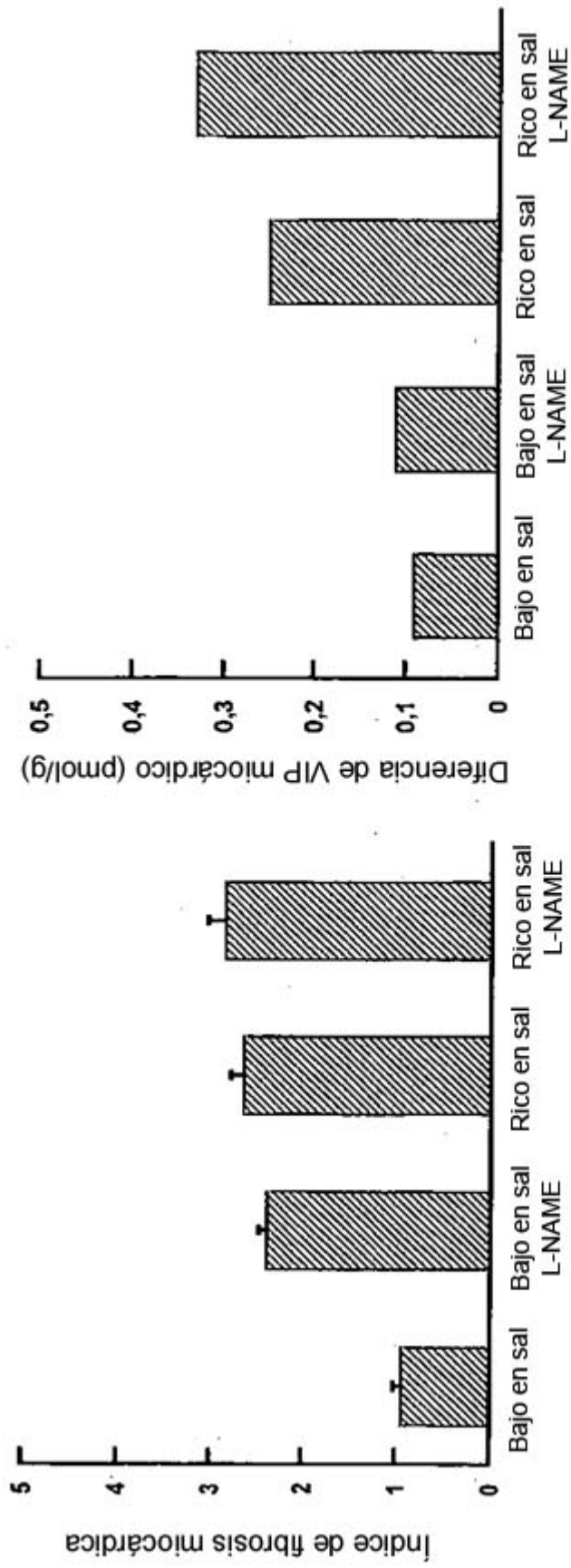


Figura 1

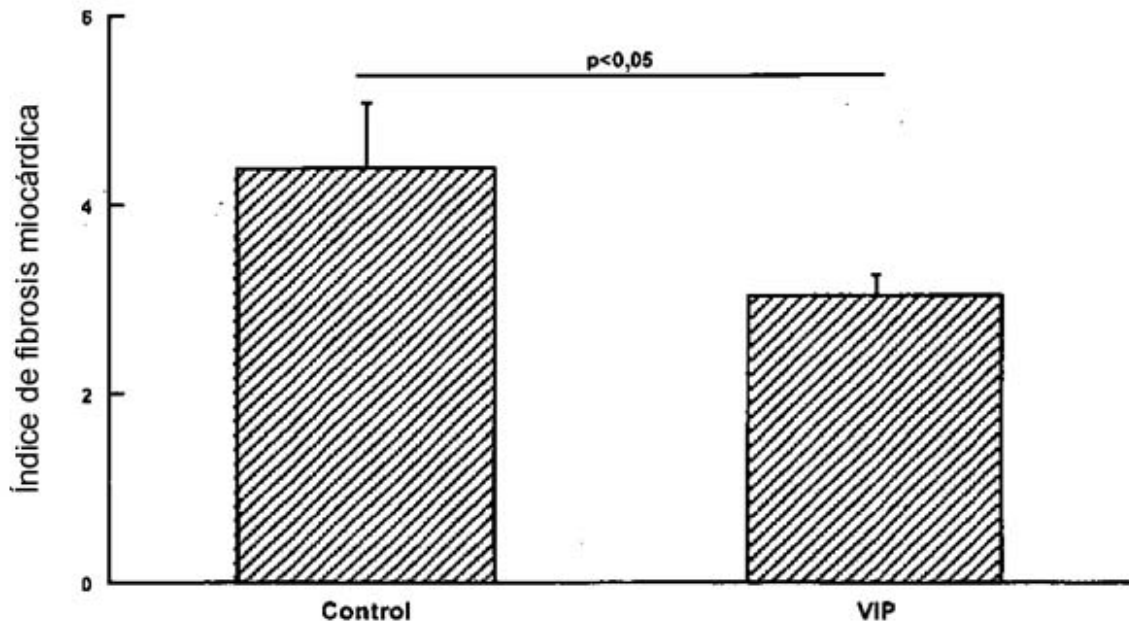


Figura 2

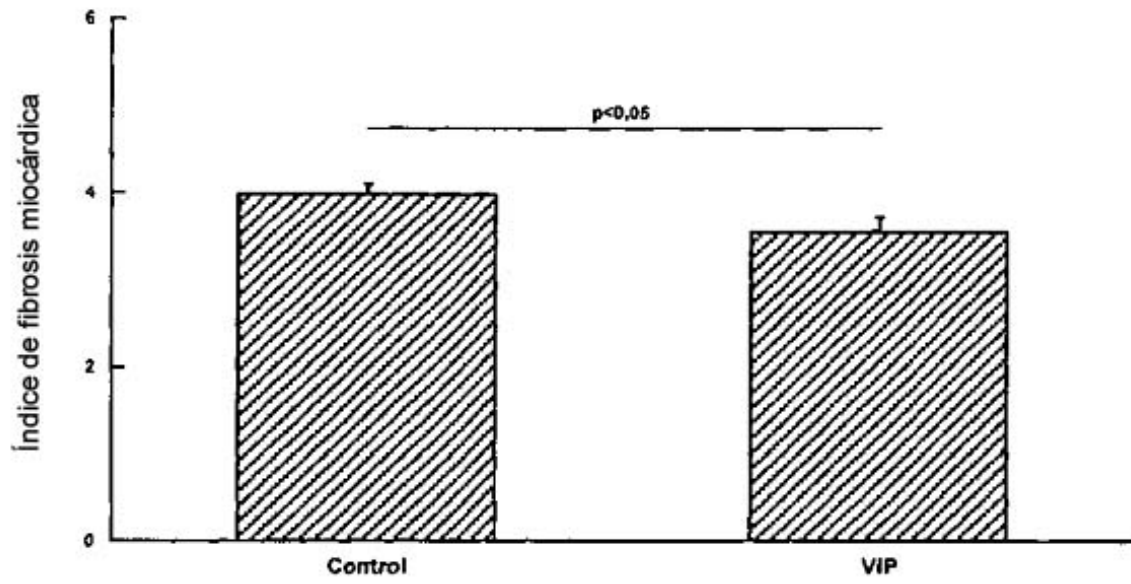


Figura 3

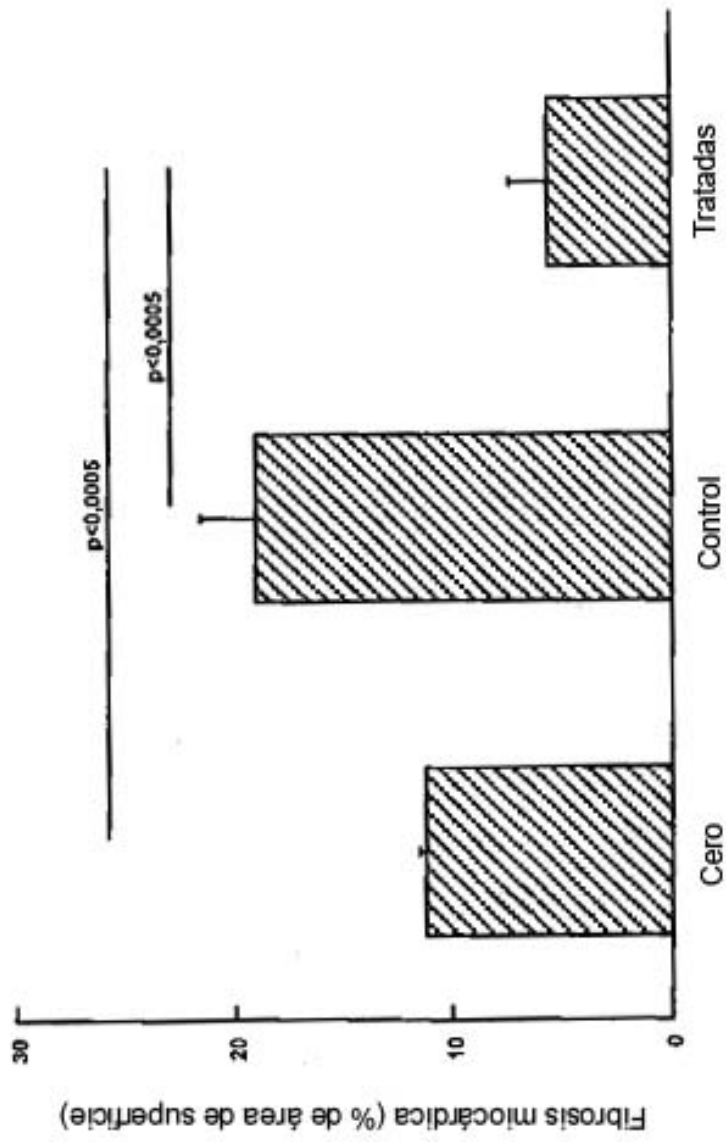


Figura 4

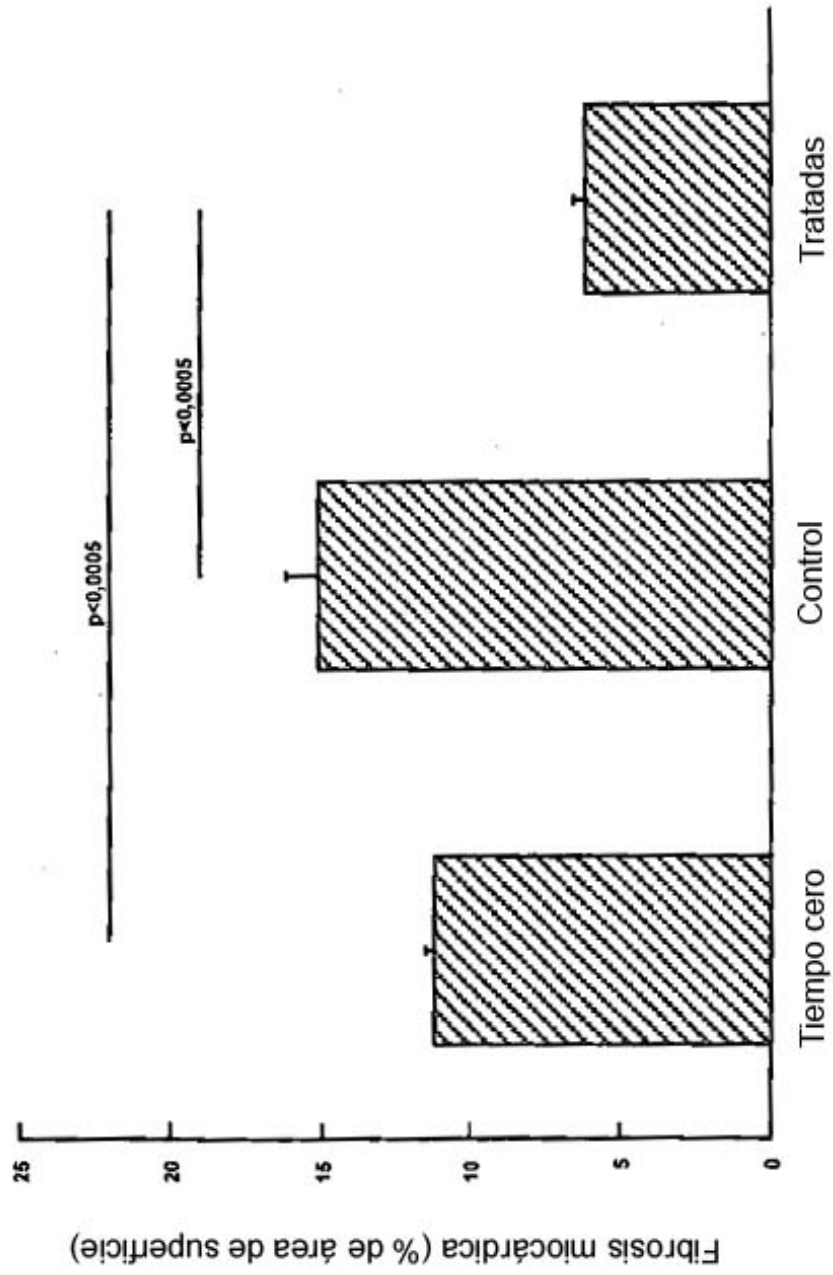


Figura 5

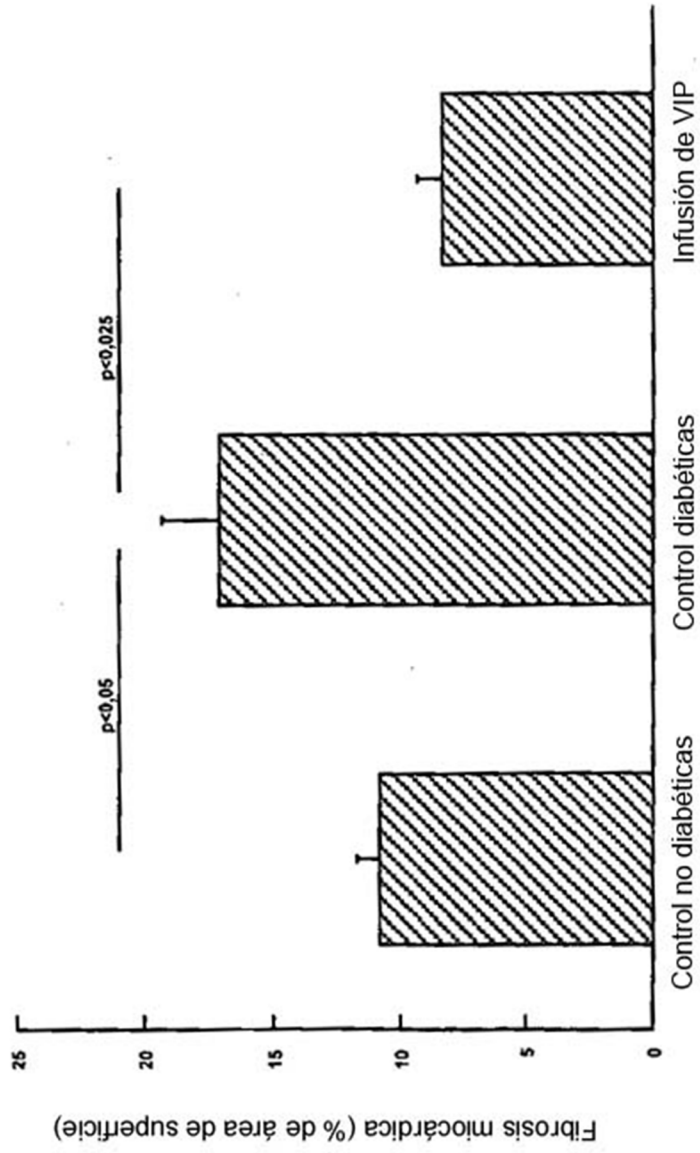


Figura 6

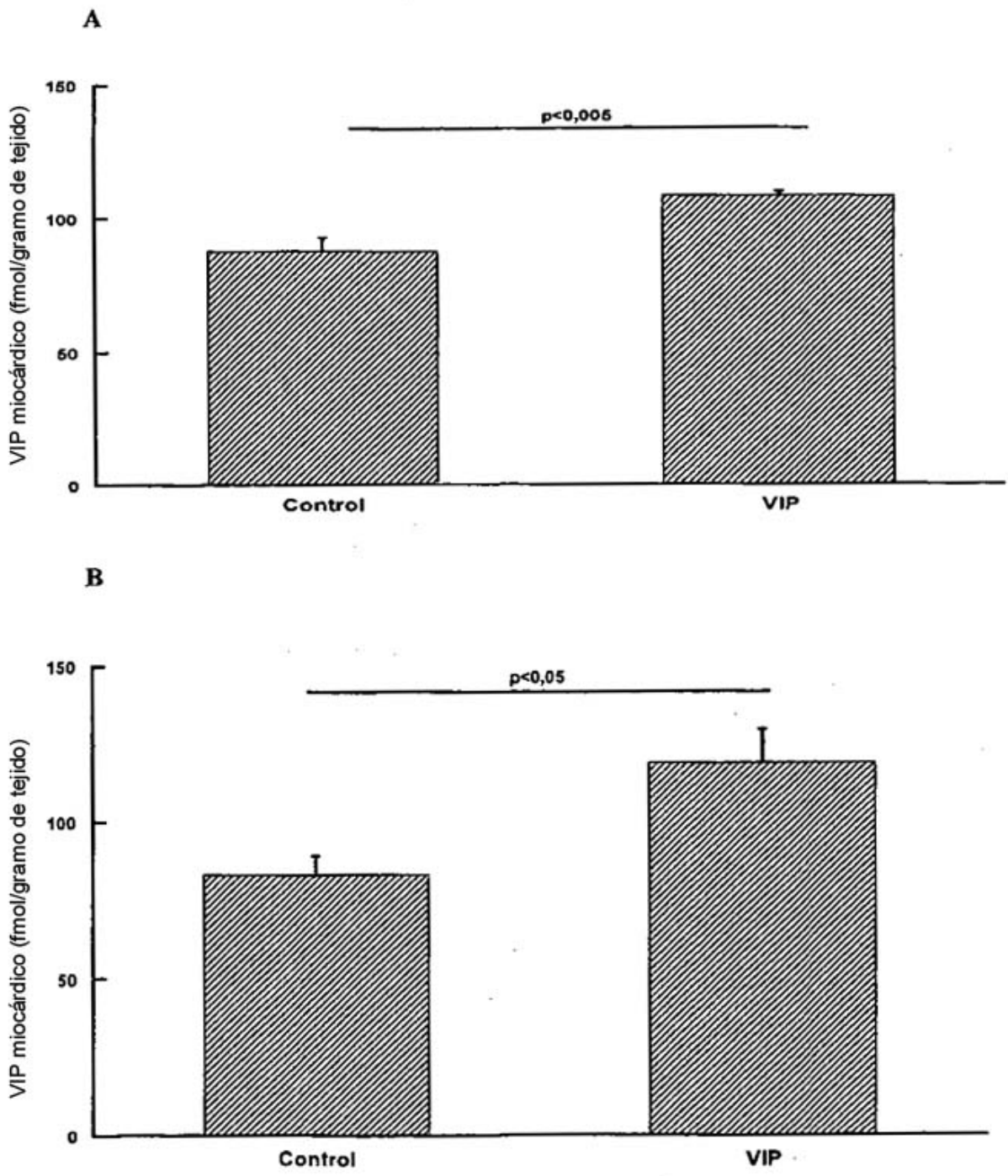


Figura 7

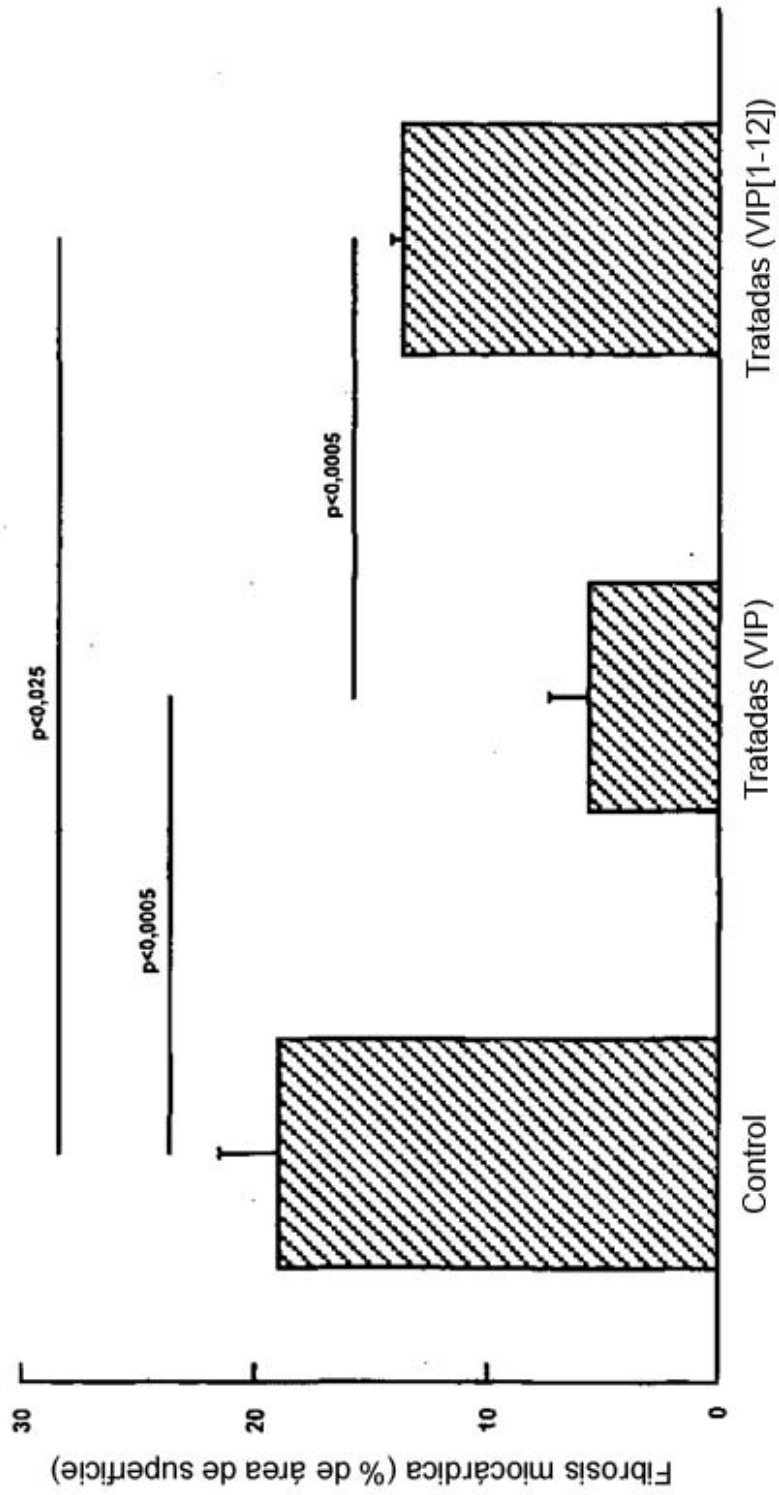


Figura 8



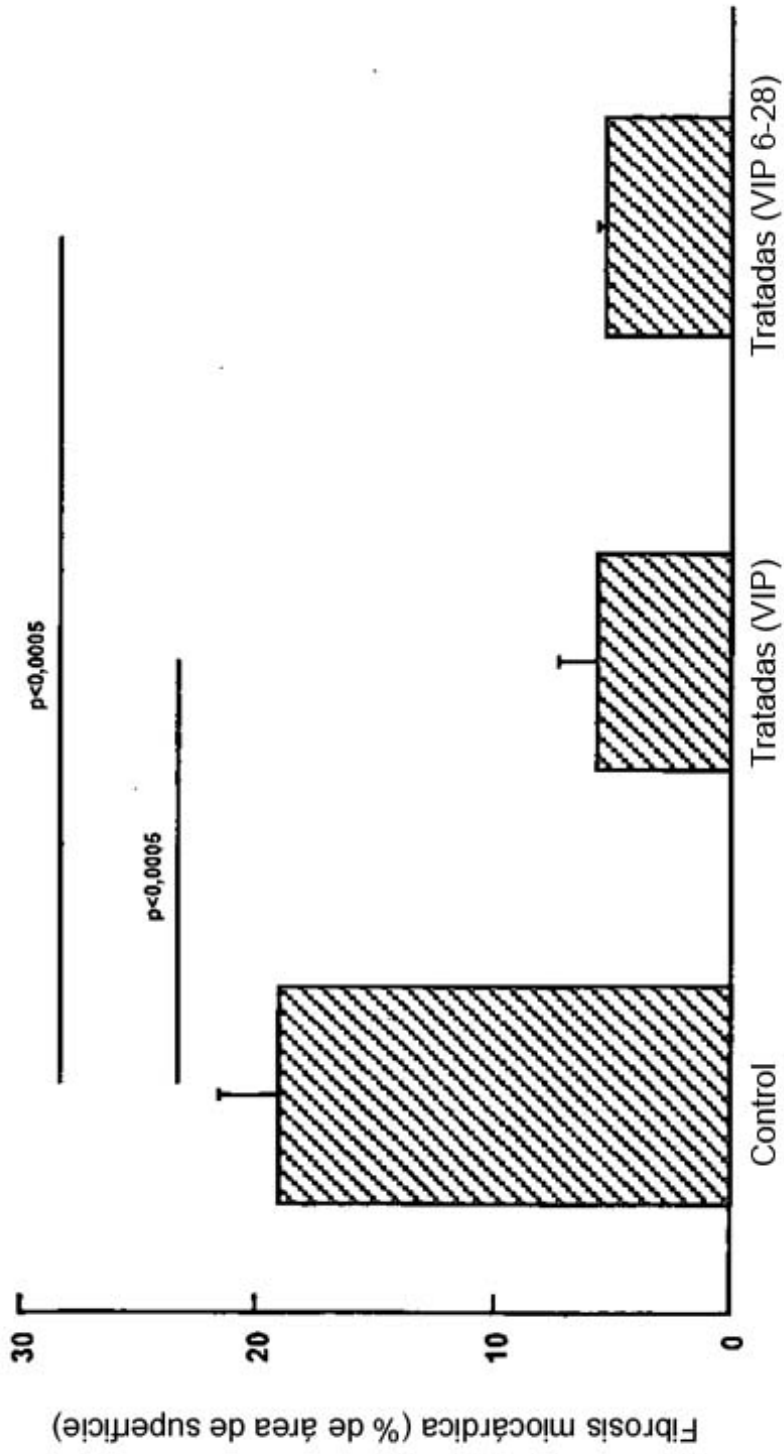


Figura 9

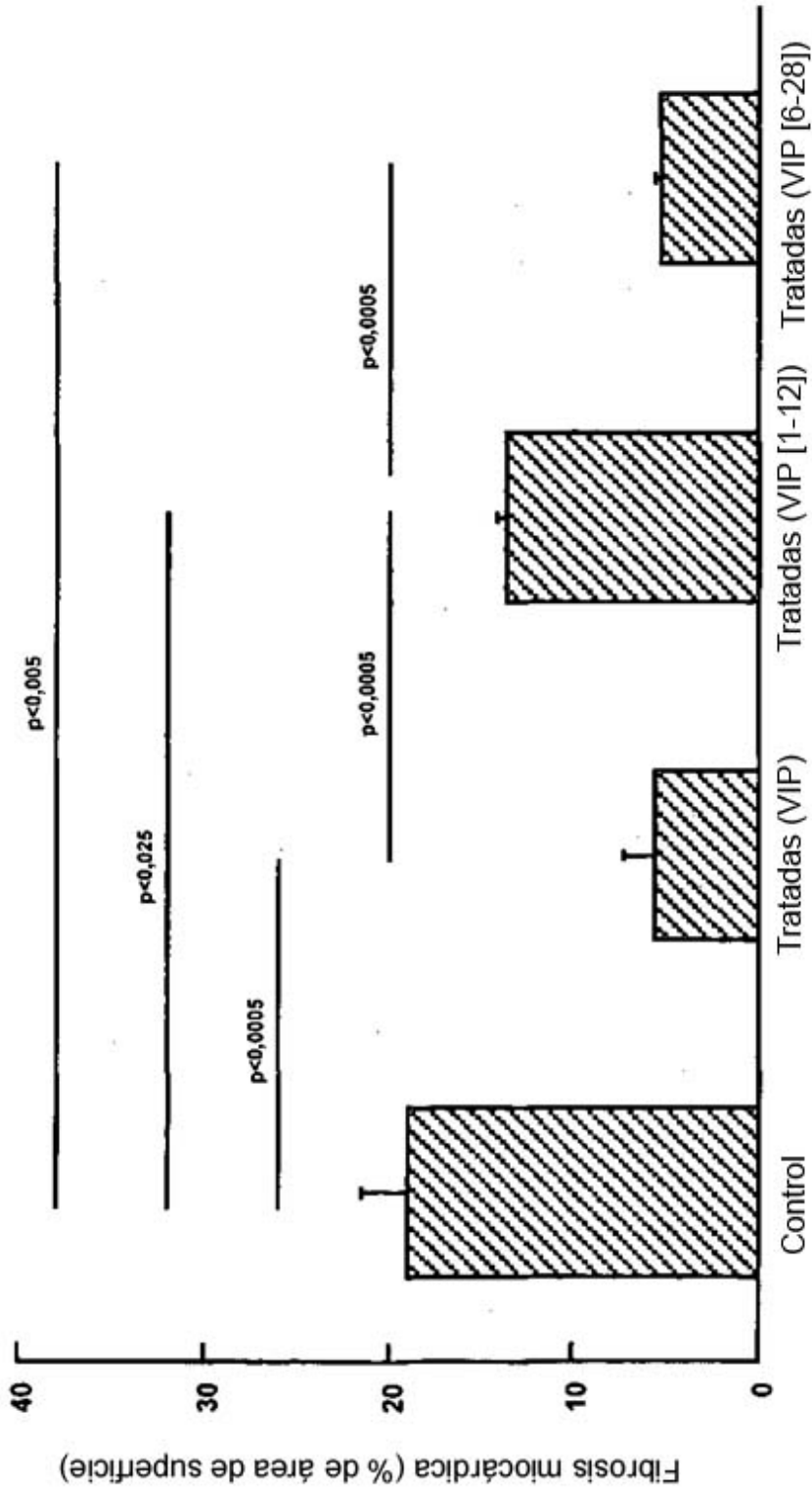


Figura 10