

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 713**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/22** (2006.01)

**A61P 9/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2006 E 12156696 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.09.2015 EP 2510942**

54 Título: **Uso de un péptido natriurético para tratar insuficiencia cardiaca**

30 Prioridad:

**08.04.2005 US 669751 P**

**07.04.2005 US 669786 P**

**01.11.2005 US 732585 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.12.2015**

73 Titular/es:

**CARDIORENTIS AG (100.0%)**

**Steinhauser Str. 74**

**6300 Zug, CH**

72 Inventor/es:

**MITROVIC, VESELIN;**

**LÜSS, HARTMUT;**

**FORSSMANN, WOLF-GEORG;**

**MEYER, MARKUS y**

**DÖHLER, KLAUS-DIETER**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 554 713 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Uso de un péptido natriurético para tratar insuficiencia cardiaca

**Antecedentes de la invención**

5 La presente solicitud reivindica la prioridad de las solicitudes provisionales de Estados Unidos 60/669.786, presentada el 7 de abril de 2005, 60/669.751, presentada el 8 de abril de 2005 y 60/732.585, presentada el 1 de noviembre de 2005.

**Antecedentes de la invención**

10 Se ha descubierto una familia de péptidos relacionados que actúa con el fin de lograr la homeostasis de sal y agua en el cuerpo. Estos péptidos, denominados péptidos natriuréticos por su papel en moderar la natruiresis y la diuresis, tienen diversas secuencias de aminoácidos y se originan a partir de distintos tejidos dentro del cuerpo. Esta familia de péptidos natriuréticos consta de péptido natriurético atrial (ANP), péptido natriurético cerebral (BNP), péptido natriurético de tipo C (CNP), péptido natriurético dendroaspis (DNP) y urodilatina (URO, o ularitida). Sus distribución específica en tejidos es la siguiente: corazón (ANP, BNP y DNP); cerebro (ANP, BNP y CNP); células endoteliales (CNP); plasma (DNP) y riñón (URO). Estos péptidos son constituyentes de un sistema hormonal que tiene un papel crítico en el mantenimiento de un equilibrio intrincado de volumen de sangre/presión arterial en el cuerpo humano. Por ejemplo, la urodilatina, un análogo cercano de ANP segregado por las células tubulares renales, promueve la excreción de sodio y agua actuando directamente sobre las células renales en el conducto colector para inhibir la reabsorción de sodio y agua. Al igual que otros péptidos natriuréticos tales como ANP y BNP, la urodilatina se ha estudiado para su uso en el tratamiento de diversas afecciones, incluidas insuficiencia renal o insuficiencia cardiaca congestiva (véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos N.º: 5.571.789 y 6.831.064; Kentsch y col., Eur. J. Clin. Invest. 1992, 22(10):662-669; Kentsch y col., Eur. J. Clin. Invest. 1995, 25(4):281-283; Elsner y col., Am. Heart J. 1995, 129(4):766-773 y Forssmann y col., Clinical Pharmacology and Therapeutics 1998, 64(3):322-330). Mitrovic, V. y col., Eur. Heart J., vol. 25, suplemento S, 1 agosto, p. 452, se refiere a infusiones de urodilatina (7,5 o 15 0 30 ng/kg/minuto) a pacientes con insuficiencia cardiaca congestiva descompensada (DHF) durante un periodo de tiempo de 24 horas.

20 Las enfermedades cardiovasculares son las causas principales de fallecimiento en los Estados Unidos, independientemente del sexo y la raza. Entre estas enfermedades, la insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) es altamente prevalente. De acuerdo con la Asociación Estadounidense del Corazón (American Heart Association), el número de altas hospitalarias y el número de fallecimientos debido a la ICC ha aumentado en ambos casos aproximadamente 2,5 veces de 1979 a 1999. Actualmente, se ha diagnosticado ICC en aproximadamente 5 millones de estadounidenses y anualmente tienen lugar 550.000 casos nuevos (Asociación Estadounidense del Corazón, 2001). Esta afección mortal viene acompañada por un gran impacto financiero. Por lo tanto, existe la necesidad de proporcionar procedimientos nuevos y eficaces para tratar la insuficiencia cardiaca.

35 Estudios anteriores han demostrado que la administración de ularitida es eficaz en el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardiaca. Los autores de la presente invención han descubierto un procedimiento nuevo para administrar ularitida que es sorprendentemente eficaz en el tratamiento de insuficiencia cardiaca de diversas causas, particularmente la insuficiencia cardiaca descompensada aguda. El procedimiento de esta invención también puede usarse para tratar afecciones cardiacas que están relacionadas en general con la acumulación anormal de fluido en el corazón, por ejemplo, edema miocárdico.

**40 Breve resumen de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento para tratar insuficiencia cardiaca descompensada aguda. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de urodilatina, siendo dicha administración continua durante un periodo de al menos 24 horas, preferentemente de 24 horas a 120 horas y más preferentemente de 24 horas a 48 horas, o al menos 48 horas, tal como de 48 horas a 60 horas, o, del modo más preferente, de 48 horas a 72 horas. Un medio preferente para administrar el péptido natriurético es mediante administración intravenosa. Otros medios de administración de péptidos natriuréticos tales como por ingestión oral, también están disponibles para la práctica de la presente invención. Para la administración intravenosa, el procedimiento no incluye preferentemente una infusión de bolo de un péptido natriurético, de tal modo que no se obtenga como resultado una alteración potencial de la función renal. La función renal puede alterarse por insuficiencia cardiaca y puede obtenerse como resultado de una perfusión sanguínea alterada a través de los riñones debido a una acción de bombeo insuficiente del corazón. Por ejemplo, se administra BNP (Natrecor) a pacientes con insuficiencia cardiaca mediante una administración de bolo intravenosa a dosis elevada seguida por una infusión intravenosa de dosis más reducidas. Estudios recientes han demostrado que la administración de Natrecor en insuficiencia cardiaca puede aumentar el riesgo de empeoramiento de la función renal (Sackner-Bernstein y col., Circulation 2005, 111:1487-1491). La función renal alterada puede evaluarse y seguirse midiendo la creatinina en suero o el nitrógeno de urea en sangre (BUN), que aumenta cuando la función renal está alterada o los riñones están dañados. Además, la tasa de filtración glomerular o la tasa de eliminación de creatinina calculada se reduce cuando la función renal está alterada. Un aumento de la creatinina de solo 0,1 mg/dl independientemente de los niveles de la línea base o de

aumentos transitorios de los niveles de creatinina de 0,3 a 0,5 mg/dl predicen un empeoramiento del desenlace en la insuficiencia cardiaca descompensada aguda. El Natrecor causa un aumento de la creatinina en suero en pacientes con insuficiencia cardiaca (Sackner-Bernstein y col., anteriormente). El mecanismo exacto por el que el Natrecor puede afectar negativamente a la función renal es desconocido actualmente. Es probable que después de la administración en bolo de Natrecor, la perfusión de sangre a través de los riñones disminuya, provocando de este modo una función renal alterada y lesión renal.

En una realización, la invención proporciona un procedimiento para tratar insuficiencia cardiaca descompensada aguda. Este procedimiento incluye la etapa de administrar a un paciente una composición que comprende una cantidad eficaz del péptido natriurético urodilatina de forma continua durante un periodo de tiempo de al menos 48 horas, o de 48 a 120 horas. En algunos casos la administración es por infusión intravenosa. En algunos otros casos el periodo de administración puede ser de 48-60 horas, o de 48-72 horas, o de 48-96 horas, o de 72-96 horas, o de 72-120 horas. Por ejemplo, la administración de un péptido natriurético puede durar 48 horas, 60 horas, 72 horas, 96 horas, 120 horas, o cualquier duración deseable dentro de este intervalo.

En una realización de la invención, el péptido natriurético usado en el procedimiento es ularitida o urodilatina.

La tasa de administración puede ser de 7,5 ng/(kg · min), 15 ng/(kg · min), 30 ng/(kg · min), 45 ng/(kg · min), 60 ng/(kg · min), 100 ng/(kg · min), 200 ng/(kg · min), o de hasta 1 mg/(kg · min). Preferentemente, la urodilatina se administra a una tasa de 15 ng/(kg · min).

En otra realización, se administran al paciente una o varias medicinas cardiacas diferentes. Estas una o varias medicinas cardiacas diferentes pueden administrarse en combinación con el péptido natriurético urodilatina, por ejemplo por la misma vía (por ejemplo, de forma intravenosa), con la opción de estar en una composición farmacéutica única o en dos o más composiciones por separado; o estas una o varias medicinas cardiacas diferentes pueden administrarse por separado usando medios diferentes (por ejemplo por ingestión oral).

La composición usada en el procedimiento de la presente invención comprende también opcionalmente un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, puede usarse manitol en dicha composición farmacéutica. En un ejemplo de realización, la concentración de manitol es de 10 veces la concentración de péptido natriurético, tal como urodilatina. En otro ejemplo de realización, la composición es una solución acuosa de NaCl al 0,9 % en la que están disueltos péptidos natriuréticos, tales como urodilatina y manitol. En una realización particular del procedimiento, la composición es una solución acuosa de NaCl al 0,9 % en la que están disueltos urodilatina y manitol, la tasa de infusión de urodilatina es 15 ng/(kg · min) y el periodo de infusión continua es de 24 horas.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso del péptido natriurético urodilatina para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de insuficiencia cardiaca descompensada aguda. El medicamento puede contener, además de una cantidad eficaz de un ingrediente activo (es decir, el péptido natriurético urodilatina), un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, el medicamento está formulado para una administración intravenosa de forma continua durante un periodo de tiempo de al menos 24 horas, más preferentemente de al menos 24 a 120 horas. En algunos casos, el medicamento está formulado para una administración mantenida del péptido natriurético durante un periodo de al menos 24 horas. En algunas realizaciones, el periodo de administración puede ser de 48 a 72 horas, 48 a 72 horas. Por ejemplo, la administración del medicamento que contiene péptido natriurético puede durar 24 horas, 36 horas, 48 horas, 60 horas, 72 horas, 96 horas, 120 horas, o cualquier duración deseable dentro de este intervalo.

El péptido natriurético usado en el medicamento es urodilatina.

Preferentemente, el medicamento se administra de modo que el paciente reciba el ingrediente activo (por ejemplo, urodilatina) a una tasa de al menos 7,5 ng/(kg · min). En otras realizaciones, la tasa de administración es de 7,5 ng/(kg · min), 15 ng/(kg · min), 30 ng/(kg · min) o 1 mg/(kg · min). En un ejemplo preferente, la urodilatina se administra a una tasa de 15 ng/(kg · min).

En algunos casos, se administran al paciente una o varias medicinas cardiacas diferentes. Estas una o varias medicinas cardiacas diferentes pueden administrarse al paciente en la misma composición que el péptido natriurético, por ejemplo urodilatina, o pueden administrarse al paciente en una composición aparte.

El medicamento comprende también frecuentemente un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable tal como manitol. En un ejemplo de realización, la concentración de manitol en el medicamento es de 10 veces la concentración de péptido natriurético tal como urodilatina. En otro ejemplo de realización, el medicamento es una solución acuosa de NaCl al 0,9 % en la que están disueltos péptidos natriuréticos, tales como urodilatina y manitol. En una realización particular, el medicamento administrado al paciente es una solución acuosa de NaCl al 0,9 % en la que están disueltos urodilatina y manitol y el medicamento se infunde en el paciente a una tasa de 15 ng/(kg · min) de urodilatina continuamente durante el periodo de tiempo de 24 horas.

## Breve descripción de las figuras

**Figura 1** representa cambios con respecto a la línea base, durante la infusión de placebo o de ularitida y después de

la interrupción de la infusión. (A) PECP, (B) PAD y (C) NT-pro-BNP. Los valores son medias  $\pm$  DT, n = 6, salvo para el grupo de placebo de PECP a 30 horas (n = 5) \* $P$  < 0,05 frente a placebo, † $P$  < 0,05 frente a la línea base.

**Figura 2:** diagrama de flujo del estudio y disposición de los pacientes; datos demográficos y características de línea base; función renal en la línea base.

5 **Figura 3:** cambios en la presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP).

**Figura 4:** mejora de disnea a 6 horas. Evaluaciones de los pacientes resumidas de "moderadamente mejor" o "marcadamente mejor" \* $P$  < 0,05 frente a placebo. \*\* $P$  < 0,01 frente a placebo.

10 **Figura 5:** parámetros cardíacos y hormonales. A) Función de bombeo ventricular izquierda definida por la relación entre índice cardíaco (IC) y presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP) media. B) Parámetros hormonales. NT-pro-BNP, pro BNP N-terminal. \* $P$  < 0,05 frente a placebo. \* $P$  < 0,01 frente a placebo. C) Consumo de oxígeno miocárdico.

**Figura 6:** parámetros renales. A) Excreción de orina durante 24 horas. B) Cambios en creatinina en suero. C) cambios en la eliminación de creatinina. D) Incidencia total del aumento de creatinina > 25 %.

**Figura 7:** estado clínico general y registro de disnea en la línea base del paciente.

15 **Figura 8:** estado clínico general y cambio en la disnea con respecto a la línea base del paciente.

**Figura 9:** cambio en la PECP en el paciente en respuesta al tratamiento.

**Figura 10:** cambios en la PAP y en la PAD en respuesta al tratamiento en el paciente.

**Figura 11:** cambios en la RVS y en el IC en respuesta al tratamiento en el paciente.

**Figura 12:** entrada, salida y balance de fluidos en el paciente en un periodo de 24 horas, diuréticos de asa.

20 **Figura 13:** creatinina en suero y cambios de BUN con respecto a la línea base en respuesta al tratamiento en el paciente.

**Figura 14:** tasas de incidencia superiores al 25 % de aumento de creatinina en suero con respecto a la línea base en el paciente.

**Figura 15:** tasas de incidencia superiores al 25 % de aumento de BUN con respecto a la línea base en el paciente.

25 **Figura 16:** cambios en la eliminación de creatinina y TFG con respecto a la línea base en el paciente.

**Figura 17:** presión arterial media durante el tratamiento en el paciente.

## Definiciones

30 Como se usa en el presente documento, la expresión "insuficiencia cardíaca" abarca todos los tipos de afecciones cardiovasculares que, independientemente de su causa, un médico reconoce generalmente como insuficiencia cardíaca, que incluyen, pero no están limitadas a, insuficiencia cardíaca aguda, insuficiencia cardíaca crónica, insuficiencia cardíaca congestiva y particularmente insuficiencia cardíaca descompensada aguda. En la presente solicitud, las expresiones insuficiencia cardíaca descompensada aguda (ICDA) e insuficiencia cardíaca descompensada (ICD) se usan de forma intercambiable. Estas afecciones implican típicamente una función cardíaca debilitada en combinación con una formación de fluido corporal y puede ser el resultado bien de un caso súbito tal como un infarto de miocardio o la ruptura de una válvula cardíaca, o bien un proceso crónico y lentamente progresivo, tal como el debilitamiento gradual de músculos cardíacos debido a cardiomiopatía por infecciones o por alcoholismo/drogadicción y otras afecciones médicas preexistentes tales como hipertensión, enfermedad arterial coronaria, enfermedad de válvulas, enfermedad tiroidea, enfermedad renal, diabetes o defectos cardíacos congénitos. También están abarcadas por la expresión "insuficiencia cardíaca" cualesquiera afecciones cardíacas relacionadas con la formación de fluido en el corazón, tales como un edema miocárdico.

40 Los términos "administrar" o "administración," tal como se usan en el presente documento, abarcan diversos procedimientos de suministrar una composición que contiene un péptido natriurético a un paciente. Los modos de administración pueden incluir, pero no están limitados a, procedimientos que implican suministrar la composición de forma intravenosa, intraperitoneal, intranasal, transdérmica, tópica, subcutánea, parental, intramuscular, oral o sistémica y mediante inyección, ingestión, inhalación, implantación o adsorción por cualquier otro medio. El modo preferente de administración de una composición que comprende un péptido natriurético (por ejemplo, ularitida) es inyección intravenosa, en el que la composición está formulada como solución estéril. Otra vía de administración es ingestión oral, en la que el péptido natriurético puede formularse como una composición farmacéutica en forma de un jarabe, un elixir, una suspensión, un polvo, un gránulo, un comprimido, una cápsula, una pastilla masticable, un troscisco, una solución acuosa, una crema, una pomada, una loción, un gel o una emulsión. Preferentemente, la

composición farmacéutica para ingestión oral está formulada para liberación mantenida durante un periodo de al menos 24 horas. Además, la administración de un péptido natriurético puede realizarse por inyección subcutánea de una composición que contiene péptido natriurético, que está preparado en forma de un sistema de liberación mantenida que comprende microesferas o polímeros biodegradables, de tal modo que el péptido natriurético pueda liberarse en el organismo de un paciente a una velocidad controlada durante un periodo de tiempo, por ejemplo de al menos 24 horas o 48 horas.

Una "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un ingrediente activo, por ejemplo urodilatina, en una composición farmacéutica que sea suficiente para producir un efecto beneficioso o deseado a un nivel que es fácilmente detectable por un procedimiento de uso común para la detección de dicho efecto. Preferentemente, dicho efecto da como resultado un cambio de al menos el 10 % del valor de un nivel basal en el que no se administra ingrediente activo, más preferentemente el cambio es al menos del 20 %, 50 %, 80 % o un porcentaje incluso superior del nivel basal. Como se describirá más adelante, la cantidad eficaz de un ingrediente activo puede variar de sujeto a sujeto, dependiendo de la edad, la condición general del sujeto, la gravedad de la afección que se está tratando y el agente biológicamente activo particular administrado, y similares. Una cantidad "eficaz" apropiada en cualquier caso individual puede ser determinada por un experto en la técnica con referencia a los textos y la bibliografía pertinentes y/o usando experimentación rutinaria.

La expresión "péptido natriurético" se refiere a un péptido que tiene la actividad biológica de fomentar natriuresis, diuresis y vasodilatación. Los ensayos para analizar dicha actividad se conocen en la técnica, por ejemplo, como se describen en los documentos de patente de Estados Unidos N.º: 4.751.284 y 5.449.751. Los ejemplos de péptidos natriuréticos incluyen, pero no están limitados a, péptido natriurético atrial (ANP(99-126)), péptido natriurético cerebral (BNP), péptido natriurético de tipo C (CNP), péptido natriurético Dendroaspis (DNP), urodilatina (URO o ularitida) y cualquier fragmento de la prohormona ANP(1-126) o polipéptido precursor BNP que conserve la actividad vasodilatadora, natriurética o diurética. Para una descripción más detallada de ejemplos de péptidos natriuréticos y su uso o preparación véanse, por ejemplo, los documentos de patente de Estados Unidos N.ºs: 4.751.284, 4.782.044, 4.895.932, 5.449.751, 5.461.142, 5.571.789 y 5.767.239. Véase también, Ha y col., Regul. Pept. 133(1-3):13-19, 2006.

Como se usa en la presente solicitud, el término "urodilatación" se refiere a una hormona peptídica de 32 aminoácidos que se describe en el documento de patente de Estados Unidos N.º: 5.449.751 y que tiene la secuencia de aminoácidos establecida en el N.º de acceso de GenBank: 1506430A. La urodilatina, el fragmento 95-126 de péptido natriurético atrial (ANP), también se designa como ANP(95-126). La expresión "péptido natriurético atrial" o "ANP(99-126)" se refiere a una hormona peptídica de 28 aminoácidos que se transcribe a partir del mismo gen y se deriva del mismo precursor polipeptídico, ANP(1-126), que la urodilatina pero sin los primeros cuatro aminoácidos del extremo N terminal. Para una descripción detallada de la prohormona, véanse, por ejemplo, Oikawa y col. (Nature 1984; 309:724-726), Nakayama y col. (Nature 1984; 310:699-701), Greenberg y col. (Nature 1984; 312:656-658), Seidman y col. (Hypertension 1985; 7: 31-34) números de acceso de GenBank 1007205A, 1009248A, 1101403A y AAA35529. Convencionalmente, el término urodilatina (URO) se usa más a menudo para referirse al péptido que se da en la naturaleza, mientras que el término ularitida se usa a menudo para referirse al péptido producido recombinantemente o sintetizado químicamente. En la presente solicitud, los términos "urodilatación" y "ularitida" se usan de modo intercambiable para abarcar de forma amplia tanto el péptido que se da en la naturaleza como el péptido recombinante o sintético. Los términos también abarcan cualquier péptido de la secuencia de aminoácidos indicada anteriormente que contienen modificación química (por ejemplo, desaminación, fosforilación, PEGilación, etc.) en uno o varios restos o sustitución por el/los D-isómero(s) correspondiente(s), siempre que el péptido conserve la actividad biológica como péptido natriurético. Además, una urodilatina o ularitida modificada químicamente puede contener una o dos sustituciones de aminoácidos con el fin de facilitar la modificación química deseada (por ejemplo, para proporcionar un grupo reactivo para la conjugación). La "urodilatación" o "ularitida" de la presente solicitud, independientemente de si contiene modificaciones químicas, conserva una porción sustancial, es decir, al menos el 50 %, preferentemente al menos el 80 % y más preferentemente al menos el 90 %, de la actividad biológica de la urodilatina o ANP(95-126) de tipo silvestre que se da en la naturaleza.

La expresión "medicina cardiaca" se refiere a un agente terapéutico que es útil para el tratamiento de una afección cardiaca. Una "medicina cardiaca" incluye, pero no está limitada a, péptidos natriuréticos, inhibidores ACE (ACEI), agentes de bloqueo beta-adrenérgicos (bloqueadores beta), vasodilatadores, diuréticos, preparaciones de digitalis (por ejemplo, digoxina), dopamina, dobutamina, levosimendan, nesiritida, anticoagulantes, bloqueadores del receptor de angiotensina II, bloqueadores del canal de calcio, nitratos y potasio.

La expresión "excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier ingrediente inerte en una composición que puede actuar, por ejemplo, estabilizando el ingrediente activo. Un excipiente farmacéuticamente aceptable puede incluir, pero no está limitado a, carbohidratos (tales como glucosa, sacarosa o dextranos), antioxidantes (tales como ácido ascórbico o glutatión), agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular, polímeros de alto peso molecular, agentes formadores de gel u otros estabilizantes y aditivos. Otros ejemplos de un vehículo farmacéuticamente aceptable incluyen agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes o conservantes, que son particularmente útiles para prevenir la proliferación o la acción de microorganismos. Son bien conocidos varios conservantes e incluyen, por ejemplo, fenol y ácido ascórbico. Pueden encontrarse ejemplos de vehículos, estabilizantes y coadyuvantes en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company,

Filadelfia, PA, 17ª ed. (1985).

Como se usa en el presente documento, "paciente" se refiere a un ser humano o a un mamífero no humano.

En la presente solicitud, la palabra "entre" se usa de un modo incluyente con respecto a los puntos inicial y final. En otras palabras, cuando un periodo de tiempo se describe como "entre 24 y 48 horas", ambos puntos temporales de 24 horas y 48 horas están incluidos en el periodo de tiempo.

### Descripción detallada de la invención

Se han usado péptidos natriuréticos tales como ANP(99-126), urodilatina y péptido natriurético cerebral (BNP) para tratar diversas afecciones médicas. Aunque la técnica enseña la administración de ularitida bien en forma de uno o varios bolos intravenosos con dosis elevada (Kentsch y col., Eur. J. Clin. Invest. 1992, 22(10):662-669) o bien en forma de infusión continua durante un periodo de 5 o 10 horas (Dorner y col., Clin Pharmacol Ther., 1998, 64(3):322-330; Elsner y col., Am. Heart J. 1995, 129(4):766-773), los autores de la presente invención descubrieron que, sorprendentemente, una administración continua de ularitida a bajas concentraciones durante un periodo de tiempo prolongado (por ejemplo, desde 24 hasta 120 horas) proporciona eficacia superior, en particular debido a que dicha administración continua a dosis reducidas permite al procedimiento de tratamiento lograr los resultados deseados mientras que se evitan efectos secundarios adversos tales como un daño potencial al riñón debido a una presión arterial baja.

La administración de un péptido natriurético según la presente invención se realiza preferentemente mediante inyección intravenosa, inyección subcutánea o ingestión oral. Para la administración intravenosa, la composición que comprende un péptido natriurético puede formularse con un diluyente acuoso, mezclado adecuadamente con otros aditivos opcionales tales como un tensioactivo y/o un conservante para la fluidez, estabilidad y esterilidad apropiadas de la composición, necesarias para un almacenamiento e inyección sencillos. La solución inyectable que contiene un péptido natriurético puede prepararse usando un disolvente o medio de dispersión que incluya agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas adecuadas de los mismos y/o aceites vegetales. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de un material de recubrimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y/o mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la proliferación de microorganismos se puede facilitar mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferente incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede llevar a cabo mediante el uso en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina. La solución inyectable debería estar tamponada adecuadamente si es necesario y el diluyente líquido se vuelve primeramente isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Finalmente, la solución inyectable, una vez preparada incorporando los ingredientes activos en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con excipientes opcionales, se esteriliza usando un procedimiento que no inactive el(los) ingrediente(s) activo(s) de la composición, por ejemplo, mediante esterilización por filtración.

Para la administración oral, la composición que comprende un péptido natriurético puede formularse con un diluyente inerte o con un vehículo comestible asimilable, o puede estar encerrada en una cápsula de gelatina dura o blanda o puede estar prensada en comprimidos. Los ingredientes activos (por ejemplo, ularitida) pueden estar incorporados con excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, comprimidos oblongos, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. La formulación ingerible oralmente contiene preferentemente polímeros de alto peso molecular o agentes formadores de gel que permiten la liberación mantenida del péptido natriurético durante un periodo de tiempo prolongado, por ejemplo, al menos 24 horas. Este sistema de liberación mantenida logra la liberación lenta del ingrediente activo durante un periodo de tiempo, bien como un sistema de liberación controlada, que es eficaz en el mantenimiento de un nivel sustancialmente constante del péptido natriurético (por ejemplo, urodilatina) en la sangre, o bien como sistema de liberación prolongada que, de todas las maneras, aunque no logra un nivel de péptido natriurético sustancialmente constante en sangre prolonga la duración de la acción del péptido natriurético durante ese periodo.

Los ejemplos siguientes se proporcionan solamente a modo de ilustración y no a modo de limitación. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una diversidad de parámetros no críticos que podrían cambiarse o modificarse para producir esencialmente los mismos o similares resultados.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

El objetivo de este estudio fue definir el papel de infusiones de 24 horas de ularitida en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca descompensada aguda (ICDA). En este estudio de seguridad aleatorizado, doble ciego, de dosis ascendente, 24 pacientes con ICDA (índice cardiaco  $1,91 \pm 0,34$  l/min por metro cuadrado, presión de enclavamiento capilar pulmonar  $26 \pm 6$  mm Hg, presión atrial derecha  $11 \pm 4$  mm Hg) recibieron ularitida (7,5, 15 o 30 ng/(kg · min)) o infusión de placebo durante 24 horas.

## Introducción

La urodilatina (ularitida) es un péptido natriurético compuesto por 32 residuos de aminoácido que se ha aislado de orina humana (Schulz-Knappe P y col., *Klin Wochenschr*, 66:752-9 (1988)). Después de su síntesis en las células tubulares distales, la urodilatina se segrega luminalmente, se une corriente abajo en el conducto colector medular interno a receptores de tipo A de péptido natriurético, aumenta los niveles intracelulares de guanosina monofosfato cíclica (GMPc) y por lo tanto regula el sodio renal y la excreción de agua (Forssmann W y col., *Cardiovasc Res*, 51:450-62 (2001)).

La urodilatina administrada intravenosamente (IV) a ratas (Abassi ZA y col., *Am J Physiol*, 262:F615-21 (1992)), perros, (Riegger GA y col., *Am J Physiol*, 259:H1643-8 (1990)) o voluntarios sanos (Saxenhofer H y col., *Am J Physiol*, 259: F832-8 (1990)) muestra efectos hemodinámicos, así como diuréticos y natriuréticos. Como se conoce también para otros péptidos natriuréticos, los efectos de la urodilatina están mediados por GMPc y se basan en múltiples mecanismos que incluyen vasodilatación, inhibición de la reabsorción de sodio renal y la inhibición del sistema renina-angiotensina-aldoesterona (Bestle MH y col., *Am J Physiol*, 276:R684-95 (1999)).

Se ha demostrado que la ularitida tiene un efecto beneficioso en ICC e insuficiencia cardiaca descompensada aguda (ICDA). En pacientes con ICC, las infusiones de urodilatina durante 10 horas potencian la natriuresis y la diuresis y disminuyen la presión venosa central sin activación neurohumoral o reacciones farmacológicas adversas (Elsner D y col., *Am Heart J*, 129:766-73 (1995)). Además, las inyecciones de bolos de ularitida a pacientes con ICDA estimulan la diuresis y la natriuresis y reducen fuertemente la presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP) y la resistencia vascular sistémica (RVS) (Kentsch M y col., *Eur J Clin Invest*, 22:662-9 (1992)). Estos efectos son más pronunciados que los inducidos por dosis iguales de péptido natriurético atrial (ANP) (Kentsch M y col., *Eur J Clin Invest*, 22:662-9 (1992)).

El presente estudio se realizó para determinar los efectos hemodinámicos y neurohumorales así como para evaluar el perfil de seguridad de infusiones de 24 horas en continuo de diferentes dosis de ularitida en pacientes con ICDA.

## Procedimientos

### 25 Diseño del estudio

Este estudio doble ciego, controlado por placebo, de dosis ascendentes se realizó en pacientes con ICDA sintomático en 2 centros. Por motivos de seguridad, los pacientes se asignaron al azar a 3 grupos de dosis de ularitida (7,5, 15 y 30 ng/(kg · min); CardioPep Pharma GmbH, Hannover, Alemania) en orden ascendente, comenzando con 7,5 ng/(kg · min). En cada grupo de dosis se trataron 6 pacientes con ularitida y 2 pacientes con placebo.

Todos los pacientes recibieron su medicación cardiovascular basal. Durante un periodo de 5 horas (comenzando 3 horas antes del comienzo de la infusión del fármaco de estudio), solo se proporcionaron inhibidores de fosfodiesterasa y administración IV de diuréticos, inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (ACE) y nitratos si fue necesario. Se dejaron continuar las infusiones en continuo de dobutamina/dopamina a una dosis constante durante este periodo de 5 horas.

### Administración de fármaco de estudio

La ularitida (CardioPep Pharma GmbH), suministrada como 1 mg de polvo liofilizado que contenía 10 mg de manitol en viales de vidrio, se reconstituyó y se diluyó posteriormente con solución acuosa de NaCl al 0,9 % a la concentración apropiada de cada grupo de dosis. Los viales de placebo contenían solo 10 mg de manitol. Los pacientes de placebo recibieron una solución para infusión que contenía 80 mg de manitol por cada 100 ml. Para la dosificación de ularitida, se usó una solución para infusión que contenía ularitida y 80 mg de manitol por cada 100 ml. Los viales con medicación y la solución para infusión preparada no podían ser diferenciados por el personal del estudio.

Todos los procedimientos cumplieron las instrucciones institucionales de la Declaración de Helsinki y fueron aprobados por la junta de revisión institucional del Comité ético de "Landesärztekammer Hessen," Fráncfort, Alemania.

### Población de pacientes

Veinticuatro pacientes de raza blanca (18 hombres y 6 mujeres, media de edad  $66 \pm 12$  años) con ICDA (clases III-IV (Asociación del Corazón de Nueva York), índice cardiaco [IC]  $1,91 \pm 0,34$  l/min por metro cuadrado, PECP  $26 \pm 6$  mm Hg y presión atrial derecha [PAD]  $11 \pm 4$  mm Hg), con disnea en reposo o actividad física mínima que requerían hospitalización y que tenían cateterismo cardiaco derecho que cumplía todos los criterios de inclusión y exclusión y se reclutaron para el estudio. Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito antes de formar parte del estudio. Los criterios de exclusión principales fueron presión arterial sistólica  $\leq 90$  mm Hg, infarto de miocardio en las últimas cuatro semanas, enfermedades valvulares estenóticas graves y choque cardiogénico. La etiología de ICDA se da en la tabla 1.

**Evaluaciones del punto final de eficacia**

Se determinaron parámetros hemodinámicos (PECP, PAD, IC y RVS) mediante cateterismo cardiaco derecho usando un catéter de termodilución Swan-Ganz. La estabilidad de mediciones hemodinámicas se aseguró como sigue: no se permitió que las mediciones del gasto cardiaco para la determinación de IC a -60 minutos, -30 minutos y antes de la dosis variaran  $\geq 15\%$ . Después se midió la hemodinámica a 6 y 24 horas de dosificación así como 6 horas después de finalizar la dosificación (30 horas).

**Evaluaciones del punto final de seguridad**

A los pacientes hospitalizados reclutados se les realizó un seguimiento de presión arterial, frecuencia cardiaca y acontecimientos adversos. Cuando la presión arterial sistólica disminuye a  $\leq 90$  mm Hg, confirmada mediante una medida de control, la infusión se interrumpió y se registró como un acontecimiento adverso. Se obtuvo sangre y orina de todos los pacientes antes y al final de la infusión del fármaco de estudio de 24 horas para la determinación de parámetros de laboratorio de seguridad (química clínica, hematología y análisis de orina). Se documentó la ingestión de fluido y la excreción de orina. El balance de fluido se calculó y se ajustó de acuerdo con las presiones de llenado cardiaco. Se realizó una llamada telefónica de seguimiento el día 30 para evaluar acontecimientos adversos graves y el estado vital.

**Péptido natriurético pro-cerebral N-terminal y GMPc**

Se obtuvo sangre venosa para la determinación de concentraciones de plasma de los parámetros neurohumorales siguientes: se midió péptido natriurético pro cerebral (pro-BNP) N-terminal (NT) usando sistema de inmunoensayo sándwich Elecsys 2010 pro-BNP con un intervalo analítico que se extiende de 20 a 35.000 pg/ml. Para cada paciente individual, se calculó la variación (delta NT-pro-BNP) a lo largo del tiempo. Se midió el GMPc usando el sistema ELISA de GMPc IHF (IHF GmbH, Hamburgo, Alemania) con un intervalo analítico que se extiende de 0,14 a 34,02 pmol/ml.

**Evaluación de disnea**

La autoevaluación de cambios en el estado de disnea se realizó por parte de todos los pacientes entre la línea base y el punto temporal de 6 horas después de iniciar la infusión del fármaco de estudio. Se evaluó el cambio en el estado de disnea usando la escala de respuestas de síntomas categóricos de 7 puntos: marcada, moderada o mínimamente mejorada; sin cambios, o mínima, moderada o marcadamente empeorada. Esta escala se usó recientemente en un ensayo pivotal VMAC. Para evitar sesgos potenciales, la autoevaluación de disnea a las 6 horas se realizó antes de las mediciones hemodinámicas y no se permitió a los investigadores debatir con los pacientes o asistir a los mismos para completar la evaluación de síntomas.

**Análisis estadístico**

Los datos se introdujeron con doble clave en una página Excel 2000 y se transfirieron después a la base de datos SAS (versión 8.2, SAS Institute, Cary, NC) y se verificaron. Los datos se dan como media  $\pm$  DT,  $\pm$  EEM, o mediana con intervalo (mínimo-máximo). Los análisis estadísticos se realizaron usando análisis tridireccional de varianza incluidas dosis, centro y efectos temporales. Para comparaciones de línea base se usó ensayo en t de Dunnett. Los datos de GMPc se analizaron usando análisis de varianza seguidos de ensayos posteriores de Dunnett. Los valores  $P \leq 0,05$  se consideró que eran estadísticamente significativos. Los análisis estadísticos se realizaron en un sentido exploratorio; por lo tanto, no se ajustaron niveles de significancia para análisis múltiples.

**Resultados:****40 Medicación cardiaca concomitante**

Se reclutaron veinticuatro pacientes en 2 centros. Las medicaciones cardiovasculares basales de los pacientes incluían diuréticos de asa orales, tiazidas, inhibidores ACE /bloqueadores de angiotensina I, bloqueadores  $\beta$ , espironolactona y glucósidos. Los pacientes de los grupos de placebo y de 7,5 ng/(kg  $\cdot$  min) recibieron más frecuentemente como medicación basal nitratos que actúan hemodinámicamente y diuréticos de asa (tablas 1 y 3). Las infusiones IV de dopamina se realizaron en continuo a tasas constantes en un paciente del grupo de placebo y en 1 del grupo de 7,5 ng/(kg  $\cdot$  min) (tabla 1).

**Efectos hemodinámicos**

En la línea base, los valores de la PECP del paciente se elevaron patológicamente en todos los grupos de tratamiento. A las 6 horas, la PECP había disminuido significativamente en el grupo de 30 ng/(kg  $\cdot$  min) de ularitida en comparación con el grupo placebo ( $P < 0,05$ , figura 1) y en ambos grupos de 15 y 30 ng/(kg  $\cdot$  min) en comparación con el grupo de 7,5 ng/(kg  $\cdot$  min) ( $P < 0,05$ , figura 1). Después de 24 horas de infusión, el PECP había disminuido significativamente a valores inferiores a la línea base en el grupo de 30 ng/(kg  $\cdot$  min) ( $P < 0,05$ , figura 1). Seis horas después de la interrupción de la infusión (en 30 horas, figura 1), la PECP había retornado esencialmente a valores de pretratamiento en todos los grupos. No hubo ningún "efecto rebote", que significara un aumento de la



PECP a valores superiores a niveles de pretratamiento en ninguno de los grupos de ularitida. La PECP también disminuyó en el grupo de placebo en comparación con los valores de línea base a 24 y 30 horas ( $P < 0,05$  (figura 1).

5 En la línea base, la PAD también estaba elevada marcadamente en todos los grupos. Después, a 6 horas, 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida habían disminuido significativamente la PAD en comparación con la línea base (figura 1) ( $P < 0,05$ ). Además, a 24 horas, 30 ng/(kg · min) de ularitida había disminuido significativamente la PAD más en comparación con la línea base (figura 1) ( $P < 0,05$ ). En el punto temporal de 24 horas, en el grupo de 15 ng/(kg · min), la PAD no permanecía disminuida y había retornado a valores cercanos a la línea base.

10 En la línea base, la RVS fue elevada y el IC había disminuido en todos los grupos de tratamiento. En contraste con los grupos de placebo y las dosis bajas de ularitida, en 6 horas, el grupo de 30 ng/(kg · min) de ularitida tendió a disminuir la RVS y a aumentar ligeramente el IC (tabla 2).

15 En 6 horas, en comparación con la línea base, los cambios en las tensiones arteriales sistólicas fueron  $< 5$  mm Hg en el grupo de 7,5 ng/(kg · min) (tabla 2). En contraste, la presión arterial sistólica cayó en los grupos de placebo y de 15 ng/(kg · min) de ularitida, mientras que disminuyó significativamente en el grupo de 30 ng/(kg · min) a 6 horas en comparación con la línea base y con el grupo de 7,5 ng/(kg · min) de ularitida. Las tensiones arteriales diastólicas solo disminuyeron marginalmente en los grupos de placebo y de 7,5 y 15 ng/(kg · min) de ularitida. Sin embargo, en el grupo de 30 ng/(kg · min) de ularitida, la presión arterial diastólica se redujo en aproximadamente 10 mm Hg a 6 y 24 horas en comparación con la línea base (tabla 2). La frecuencia cardiaca no cambió de forma apreciable durante la infusión de ularitida (tabla 2).

### Evaluación de disnea

20 Después de 6 horas de infusión de fármaco de estudio, los 6 pacientes de cada uno de los 4 grupos de tratamiento respectivos realizaron su autoevaluación en comparación con la línea base. Ni el grupo de placebo ni ningún paciente de los 3 grupos diferentes de ularitida informaron de un empeoramiento de su estado. No se informó de ningún cambio de disnea por parte de 2, 1 y 2 pacientes de los grupos de 7,5, 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida, respectivamente. Se informó de una mejora mínima en el estado por parte de los 6 pacientes tratados con placebo y de 2, 1 y 1 paciente de los grupos de 7,5, 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida. Dos, 3 y 2 pacientes de los grupos de 7,5, 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida se sintieron moderadamente mejor y 1 paciente de cada uno de los grupos de 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida informaron sentirse marcadamente mejor. Ninguno de los pacientes informó de un empeoramiento de la disnea.

### Efectos renales y uso de diuréticos

30 La producción de orina no difirió significativamente entre los grupos de placebo y de 7,5, 15 y 30 ng/(kg · min) (tabla 2). No obstante, se administraron diuréticos de asa más frecuentemente en los grupos de placebo y de 7,5 ng/(kg · min) en comparación con los grupos con dosis elevadas de ularitida (tabla 3). Además, la dosificación de diuréticos de asa durante la infusión del fármaco de estudio fue más elevada en el grupo placebo. No se midió la natriuresis; no obstante, los niveles de sodio en suero no cambiaron en los grupos de placebo y de 7,5 y 15 ng/(kg · min) de ularitida, pero disminuyeron en el grupo de 30 ng/(kg · min) de ularitida (tabla 2). Aunque la creatinina en suero mostró un aumento en el grupo de 7,5 ng/(kg · min) de ularitida, se observaron disminuciones en los grupos de 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida así como en los grupos de placebo. En contraste con los pacientes tratados con placebo y ularitida (7,5 ng/(kg · min)), en los que disminuyó la excreción de creatinina, hubo un aumento escalonado de excreción de creatinina en los pacientes tratados con 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida (véase la tabla 2).

### Parámetros neurohumorales

45 **Variación de NT-pro-BNP.** En la línea base, los niveles individuales de NT-pro-BNP fueron patológicamente elevados. El valor de la mediana fue de 5292 (intervalo 691-29557) pg/ml. Durante el periodo de infusión de 24 horas, los niveles de NT-pro-BNP no cambiaron en el placebo, mientras que tendieron a aumentar en el grupo de 7,5 ng/(kg · min) de ularitida. En contraste, los grupos de 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida redujeron los niveles de NT-pro-BNP a 24 horas en comparación con la línea base (figura 1).

50 **GMPC.** En la línea base, los niveles de GMPC no fueron significativamente diferentes. El valor medio fue de  $13,5 \pm 2,0$  (SEM;  $N = 24$ , intervalo 0,51-51,5) pmol/ml. Durante el periodo de infusión de 24 horas, los niveles de GMPC en plasma no cambiaron en el grupo de placebo, pero aumentaron en función de la dosis y en función del tiempo. De 1 a 12 horas después de comenzar la dosificación, los niveles de GMPC en plasma de los grupos de 15 y 30 ng/(kg · min) de ularitida aumentaron significativamente con respecto a la línea base ( $P \leq 0,5$  y  $0,01$ ). También, los valores de GMPC de los grupos de 15 y 30 ng/(kg · min) fueron significativamente superiores que los del grupo placebo de 1 a 12 horas después del comienzo de la infusión ( $P \leq 0,05$ ).

55 **Seguridad.** Todos los 24 pacientes completaron el periodo de tratamiento y ningún paciente se retiró prematuramente. Un paciente de placebo murió 8 días después de finalizar la infusión del fármaco de estudio. Otro paciente (7,5 ng/(kg · min) de ularitida) murió 20 días después de finalizar la dosificación. Se consideró improbable una relación con el fármaco de estudio.

Durante la dosificación, tuvo lugar hipotensión, definida como disminuciones de la presión arterial sistólica a valores  $\leq 90$  mm Hg, que tuvieron lugar en 1 de 6 pacientes que recibieron 7,5 ng/(kg · min) y en 2 de 6 pacientes que recibieron 30 ng/(kg · min) de ularitida. En 2 pacientes, las infusiones del fármaco de estudio se interrumpieron durante 1 hora. Todas las hipotensiones fueron asintomáticas y se resolvieron completamente bien espontáneamente en 1 paciente o bien durante la interrupción del fármaco de estudio en otros 2 pacientes. No se informaron hipotensiones en los otros grupos de tratamiento. Durante la infusión de ularitida en cualquier dosis, no se observaron cambios significativos en resultados electrocardiográficos, ni tuvieron lugar cambios clínicamente relevantes en parámetros de laboratorio de seguridad. El número total de pacientes con acontecimientos adversos (AA) en cada grupo (placebo, 3; 7,5 ng/[kg · min], 5; 15 ng/[kg · min], 2; y 30 ng/[kg · min], 4) y el número total de AA en cada grupo (placebo, 12; 7,5 ng/[kg · min], 12; 15 ng/[kg · min], 5; 30 ng/[kg · min], 15) no fueron significativamente diferentes.

## Discusión

En este estudio, las infusiones de 24 horas de dosis crecientes de ularitidina dieron como resultado unos efectos hemodinámicos y neurohumorales beneficiosos en pacientes con ICDA.

La ularitida en una dosis de 30 ng/(kg · min) causó la disminución sustancial de PECP y PAD en comparación con el placebo a 6 horas, mientras que en el grupo de 7,5 ng/(kg · min) no se observó ningún efecto de la ularitida. La urodilatina ejerce efectos vasodilatadores (Bestle MH y col., *Am J Physiol*, 276:R684-95 (1999)). Por lo tanto, las presiones de llenado cardiaco disminuyeron más probablemente como resultado de la vasodilatación, lo que apoya el modo de acción de ularitida como vasodilatador. En contraste, la PECP también disminuyó en el grupo de placebo en comparación con valores de línea base. No obstante, este efecto puede haber sido causado por el uso más elevado en la dosis y la frecuencia de administración concomitante de nitratos vasodilatadores orales y diuréticos de asa en el placebo en comparación con los grupos de ularitida. En pacientes con ICC, los diuréticos de asa tienen propiedades vasodilatadoras en vasos grandes que dan como resultado reducciones de la PECP. Las reducciones de PAD y PECP más pronunciadas observadas en ambos grupos con dosis de urodilatina altas apoyaron claramente los efectos beneficiosos de la ularitida en ICDA. Estos efectos hemodinámicos del presente estudio son compatibles con los informados en un estudio anterior en el que inyecciones de bolos de ularitida en pacientes con ICDA indujeron reducciones sustanciales de PECP y RVS acompañadas por un aumento escalonado de GMPc (Kentsch M y col., *Eur J Clin Invest*, 22:662-9 (1992)).

En el punto temporal de 24 horas de la infusión de fármaco de estudio, el efecto de la ularitida sobre la PECP pareció que se atenuaba en el grupo de 30 ng/(kg · min) de dosis pero no en el grupo de 15 ng/(kg · min). Además, el que el efecto de la ularitida sobre PAD pareciera estar atenuado en el grupo de 15 ng/(kg · min) pero no en el grupo de 30 ng/(kg · min) puede estar apoyando una atenuación de los efectos de ularitida. Paralelamente, los niveles de GMPc en plasma aumentaron en los grupos de 15 y 30 ng/(kg · min) con máximos en ambos a 6 horas seguidos por una disminución que tendía aún a permanecer sobre los niveles de línea base a 24 horas. No obstante, en pacientes con insuficiencia cardiaca crónica, las infusiones prolongadas de ANP después de un aumento también provocaron una disminución de los niveles de GMPc en plasma (Munzel T y col., *Circulation*, 83:191-201 (1991)). La disminución de GMPc, a pesar de la infusión en continuo de péptido natriurético, también puede ser un resultado de niveles de BNP reducidos, cambios en la producción de óxido nítrico (Takahashi M y col., *Jpn Heart J*, 44:713-24 (2003)) o un aumento en la activación de fosfodiesterasas en suero. Por lo tanto, todavía necesita aclararse si una disminución de GMPc refleja una unión menor de ularitida al receptor durante el tiempo. Si fuera así, se habría esperado también ver una disminución paralela tanto de PECP como de PAD, lo que no fue el caso. Además, tanto la PECP como la PAD estaban aún en valores inferiores a la línea base a 24 horas. Además, en dosis elevadas, la nesiritida ejerció una retirada similar de los efectos de PECP en un estudio más pequeño (Mills RM y col., *J Am Coll Cardiol*, 34:155-62 (1999)), que no se confirmó en el ensayo pivotal VMAC más grande (Comité de publicación de investigadores de VMAC, *JAMA*, 287:1531-40 (2002)). Por lo tanto, ensayos más amplios necesitan demostrar el efecto de concentraciones crecientes de ularitida en función del tiempo sobre parámetros farmacodinámicos.

El síntoma más prominente para pacientes con ICDA es la disnea. Por lo tanto, los mismos pacientes realizaron autoevaluaciones de disnea usando una escala de 7 puntos como la descrita anteriormente en el ensayo pivotal de VMAC (Cowie MR y col., *Eur. Heart J.*, 24:1710-8 (2003)). En comparación con el placebo, los pacientes que recibieron las dosis más altas de ularitida tendieron a informar de una mejora de disnea más fuerte después de 6 horas de infusión. El número de pacientes puede limitar la interpretación, en particular de datos subjetivos. No obstante, estos datos están de acuerdo con los comunicados también para BNP en el ensayo de VMAC cuando la nesiritida mejoró significativamente la autoevaluación del paciente de disnea en comparación con el placebo (Comité de publicación para investigadores de VMAC, *JAMA*, 287:1531-40 (2002)).

En la línea base, las concentraciones de NT-pro-BNP en plasma se incrementaron seguido por una disminución inducida por ularitida en los 2 grupos superiores a 24 horas. El cambio máximo en la PECP a 6 horas correlacionó significativamente con el cambio en porcentaje de NT-pro-BNP con respecto a la línea base a 24 horas. Debido a que a 24 horas fue la primera medición después de 6 horas, no puede excluirse si tuvo lugar una reducción de los niveles de NT-pro-BNP antes de 24 horas. No obstante, la PECP, al aumentar la tensión de la pared ventricular, es un estímulo importante para la liberación de NT-pro-BNP. El mecanismo por el que se controla la secreción de NT-pro-BNP incluye el nivel transcripcional, que generalmente requiere un estímulo a largo plazo (Cowie MR y col., *Eur*

Heart J, 24:1710-8 (2003)). Por lo tanto, las reducciones abruptas en las presiones de llenado ventriculares derecha e izquierda pueden no dar como resultado directamente la reducción de NT-pro-BNP. Esto está también apoyado por McCullough y col. (McCullough PA y col., Rev Cardiovasc Med, A:72-80 (2003)) que establecieron que "la semivida de NT-pro-BNP es de 120 minutos, sugiriendo que los cambios hemodinámicos podrían reflejarse por este ensayo aproximadamente cada 12 horas."

Se se sabe que la urodilatina induce efectos renales tales como diuresis y natriuresis (Forssmann W y col., Cardiovasc Res, 51:450-62 (2001)). Entre los 4 grupos de tratamiento no hubo diferencias significativas en la excreción de orina durante 24 horas. No obstante, los 6 pacientes del grupo de placebo y 5 de 6 pacientes del grupo de la dosis baja de ularitida recibieron diuréticos de asa durante la infusión de la medicación de ensayo. En contraste, solo 3 pacientes de los 2 grupos de dosis más altas de ularitida recibieron diuréticos de asa, apoyando posiblemente efectos diuréticos de ularitida. Los niveles de creatinina en suero entre los grupos no fueron significativamente diferentes. En contraste, la disminución de sodio de suero en el grupo de 30 ng y el aumento de creatinina urinaria en ambos grupos de 15 y 30 ng pueden apoyar efectos de ularitida sobre la función renal. No obstante se necesitan ensayos más grandes para confirmar estos datos. Se demostró recientemente que la nesiritida, que se aprobó para el tratamiento de ICDA en los Estados Unidos, no mejora la función renal en pacientes con ICC (Wang DJ y col., Circulation, 110:1620-5 (2004)). No obstante, la función renal tiene un efecto sobre el pronóstico de insuficiencia cardiaca congestiva (Akhter MW y col., Am J Cardiol, 94:957-60 (2004)). Por lo tanto, aparte de la mejora de la hemodinámica, la mejora de la función renal puede ser una diana importante para tratar eficazmente ICDA por el péptido natriurético renal ularitida.

La ANP (carperitida), otro péptido natriurético, está también aprobado para ICDA (en Japón). Aunque no se han realizado más estudios comparativos entre ularitida y nesiritida, existe un informe que compara la ularitida con la administración en bolo de ANP en pacientes con ICD (Kentsch M y col., Eur J Clin Invest, 22:662-9 (1992)). Estos autores informaron de efectos hemodinámicos más pronunciados y que duraron más tiempo de ularitida en comparación con los inducidos por ANP (Kentsch M y col., Eur J Clin Invest, 22:662-9 (1992)). Una explicación para los efectos farmacodinámicos más fuertes de urodilatina es la resistencia más alta de urodilatina contra la degradación enzimática por la metaloendoproteasa neutra EC24.11 en comparación con ANP (Gagelmann M y col., FEBS Lett, 233:249-54 (1988)).

Los episodios hipertensivos tuvieron lugar después de infusiones de nesiritida y ANP en sujetos normales y en pacientes con ICC y ICDA (Hobbs RE y col., Am J Cardiol, 78:896-901 (1996); Northridge DB y col., Herz, 16:92-101 (1991)). En comparación, en el presente estudio, se informó que la hipotensión era asintomática y transitoria. Estos efectos se observaron en los grupos de 7,5 y 30 ng/(kg · min) de ularitida y se solucionaron completamente. No obstante, en el grupo de placebo también disminuyó la presión arterial sistólica (tabla 2), posiblemente debido a la medicación conjunta con nitratos (tabla 3). Durante la dosificación, no tuvieron lugar cambios relacionados con el fármaco clínicamente significativos en parámetros de seguridad de laboratorio en ningún grupo y no tuvieron lugar reacciones farmacológicas graves en ningún paciente. En 1 paciente con ICC, la ularitida provocó incidentalmente bradicardia e hipotensión (Kentsch M y col., Eur J Clin Invest, 25:281-3 (1995)). No obstante, en el presente estudio, no tuvo lugar bradicardia o taquicardia, apoyando de este modo la falta de potencial proarrítmico de los péptidos natriuréticos (Burger AJ col., Am Heart J, 144: 1102-8 (2002)).

Los autores son conscientes de las limitaciones del estudio como resultado de un tamaño de muestra pequeño y que son todavía necesarios ensayos adicionales para confirmar los datos en un número más elevado de pacientes. Aunque el número total de AA graves (1 muerte en el placebo y 1 en el grupo de 7,5 ng) y AA se distribuyen de forma igual entre los grupos de suero y de placebo, son necesarios más datos para evaluar el perfil de seguridad de este fármaco.

El presente estudio subraya que las infusiones de ularitida a las 2 dosis superiores pueden dar como resultado efectos hemodinámicos beneficiosos asociados con una mejora de la disnea, un aumento de niveles de GMPc en plasma y una disminución de niveles de NT-pro-BNP en plasma.

Este estudio fue apoyado por CardioPep Pharma GmbH y en parte por el Ministro de Economía del Estado de Baja Sajonia, Research & Development grant (Az. 203.19-32329-5-405).

## Ejemplo 2

La ularitida es un péptido natriurético que se sintetiza en los riñones. Sus actividades farmacológicas más importantes incluyen vasodilatación, diuresis y natriuresis. El objetivo de este estudio de examen de dosis, doble ciego, aleatorizado, controlado por placebo, de fase II (SIRIUS II) fue establecer una dosificación segura y eficaz de ularitida en pacientes con insuficiencia cardiaca descompensada aguda (ICDA).

Un total de 221 pacientes con ICDA (criterios de inclusión: índice cardiaco  $\leq 2,5$  l/min por  $m^2$ , presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP) media  $\geq 18$  mm Hg) se aleatorizaron para recibir una infusión intravenosa durante 24 h de ularitida (7,5, 15 o 30 ng/kg/min) o placebo. Los puntos finales primarios fueron la reducción de la PECP y la mejora de disnea en los pacientes, ambas a 6 h. La ularitida redujo la PECP ( $p < 0,05$ ) y mejoró el registro de disnea ( $p < 0,05$ ) en los tres grupos de dosis en comparación con el placebo. Los niveles de creatinina en

suelo no aumentaron durante y después del tratamiento con ularitida cuando se compararon con el placebo:

Creatinina en suero [mg/dl]	Placebo	7,5 ng/kg/min	15 ng/kg/min	30 ng/kg/min
Línea base (media $\pm$ desv típ)	110,5 $\pm$ 36,8	104,8 $\pm$ 32,7	109,1 $\pm$ 30,8	107,8 $\pm$ 32,3
24 horas	110,1 $\pm$ 30,5	105,4 $\pm$ 36,2	106,9 $\pm$ 29,0	112,6 $\pm$ 43,5
48 horas	120,6 $\pm$ 42,2	116,8 $\pm$ 43,0	116,6 $\pm$ 41,9	121,7 $\pm$ 47,7
72 horas	114,8 $\pm$ 38,2	117,3 $\pm$ 51,5	114,5 $\pm$ 39,1	117,9 $\pm$ 41,6

5 La tasa de mortalidad a 30 días fue superior en el placebo en comparación con los tres grupos de ularitida: El 13,2 % en el placebo y el 3,3 % ( $p = 0,080$ , en comparación con el placebo), el 3,8 % ( $p = 0,16$ ) y el 1,8 % ( $p = 0,029$ ) en los grupos de 7,5, 15 y 30 ng/kg/min, respectivamente. Las tres dosis de ularitida se toleraron bien. Los acontecimientos adversos principales fueron disminución de la presión arterial asintomática/hipotensión, de los que se informó con la mayor frecuencia en el grupo de 30 ng/kg/min.

Las infusiones de ularitida durante 24 h dieron como resultado efectos hemodinámicos beneficiosos que se asociaron con la reducción de los síntomas de disnea.

### Ejemplo 3

10 La ularitida es una forma sintética de urodilatina, un péptido natriurético segregado por el riñón con efectos natriuréticos, diuréticos, vasodilatadores y hemodinámicos prometedor en la gestión de insuficiencia cardiaca descompensada aguda (ICDA).

El propósito de este estudio fue evaluar la eficacia y seguridad de ularitida cuando se añade a la terapia estándar en el tratamiento de pacientes con ICDA.

15 Este fue un ensayo de fase 2 aleatorizado, doble ciego, controlado por placebo que implicó a 221 pacientes hospitalizados con ICDA (índice cardiaco [IC]  $\leq 2,5$  l/min/m<sup>2</sup>; presión de enclavamiento capilar pulmonar [PECP]  $\geq 18$  mm de Hg) realizado en 19 centros de estudio de Europa y Rusia entre febrero de 2003 y octubre de 2004.

20 Los pacientes se distribuyeron al azar para recibir bien placebo ( $n = 53$ ) o bien ularitida a 7,5 ng/kg/min ( $n = 60$ ), 15 ng/kg/min ( $n = 53$ ) o 30 ng/kg/min ( $n = 55$ ) en forma de una infusión en continuo de 24 horas. Los puntos finales de eficacia coprimaria incluyeron el registro de la PECP y de disnea. Las mediciones adicionales incluyeron hemodinámica, duración de la hospitalización, mortalidad y seguridad. Véanse las figuras 2-17.

25 A 6 horas, la ularitida demostró una disminución significativa de PECP ( $\Delta \pm$  DT/mm de Hg): placebo,  $-4,4 \pm 6,1$ ; ularitida 7,5 ng/kg/min,  $-6,5 \pm 7,2$  ( $P < 0,05$ ); 15 ng/kg/min,  $-10,5 \pm 6,3$  ( $P < 0,01$ ); 30 ng/kg/min,  $-10,1 \pm 5,7$  ( $P < 0,01$ ) y registro de disnea mejorado ( $P = 0,05$ ). La ularitida reduce de un modo dependiente de la dosis la resistencia vascular sistémica ( $\Delta \pm$  DT/din·s·cm<sup>-5</sup>): placebo,  $-140 \pm 315$ ; 7,5 ng/kg/min,  $-184 \pm 373$ ; 15 ng/kg/min,  $-375 \pm 444$  ( $P < 0,01$ ); 30 ng/kg/min,  $-445 \pm 428$  ( $P < 0,01$ ), aumento de IC para los grupos de 15 y 30 ng/kg/min ( $P < 0,05$ ). La presión arterial sistólica disminuyó de un modo dependiente de la dosis. El ritmo cardiaco y la creatinina en suero no cambiaron a lo largo del día 3. Más frecuentemente, se informó de AA relacionados con fármacos a los 3 días en todos los grupos de ularitida con disminución de la presión arterial (5,4 %), hipotensión (5,4 %), sudoración (4,2 %) y mareos (3,0 %). La tasa de mortalidad (día 30) fue significativamente superior para el grupo de placebo en comparación con el grupo de 30 ng/kg/min de ularitida (13,2 % frente a 1,8 %,  $P < 0,05$ ).

30 La ularitida redujo las presiones de llenado cardiaco, mejoró la disnea, redujo la mortalidad y no comprometió la función renal de pacientes con ICDA. Estos resultados indican que la ularitida es útil en la gestión de pacientes con ICDA cuando se añade a la terapia estándar.

### 35 Introducción

La insuficiencia cardiaca es un problema de salud pública principal en expansión. El riesgo para la vida de la insuficiencia cardiaca es  $\sim 20$  % tanto en varones como en mujeres y se diagnostican en Estados Unidos más de 550.000 al año. El pronóstico de la insuficiencia cardiaca es generalmente mala: la tasa de supervivencia a 5 años para pacientes con enfermedad leve a moderada es  $\sim 50$  % y la mitad de los pacientes con insuficiencia cardiaca grave mueren en un periodo de 2 años. La insuficiencia cardiaca también es la causa más común de hospitalización de pacientes ancianos, representando solo la hospitalización  $\sim 60$  % de los costes del tratamiento.

45 La ularitida es una forma sintética de urodilatina, una hormona peptídica natriurética segregada por el riñón. La familia de péptidos natriuréticos está comprendida por péptidos segregados por varios órganos, incluidos el péptido natriurético atrial (ANP) y el péptido natriurético cerebral (BNP), que son segregados por el corazón. Estas moléculas regulan la homeostasis vascular y renal, aumentan la vasodilatación y el sodio urinario, el cloruro y el volumen de excreción y reducen la activación vasoconstrictora neurohumoral. En contraste con ANP y BNP, la urodilatina endógena se sintetiza en las células tubulares distales renales. Siguiendo a la secreción luminal, la

urodilatina se une a los receptores tipo A, B y C del péptido natriurético en el conducto de colección medular interno, que regula el sodio renal y la excreción de agua.

5 El objetivo clínico inmediato en la gestión de pacientes con insuficiencia cardiaca descompensada aguda (ICDA) es estabilizar la hemodinámica de los pacientes y proporcionar un alivio de los síntomas. Las opciones terapéuticas incluyen diuréticos, vasodilatadores y agentes inotrópicos positivos. No obstante, cada una de estas opciones está asociada con limitaciones clínicas, incluidos efectos perjudiciales sobre el riñón y supervivencia a largo plazo. De este modo, la búsqueda de agentes que mejoren los signos y síntomas de ICDA y preserven la función renal sin aumentar el riesgo de mortalidad ha sido un campo de investigación continua.

10 La ularitida ha demostrado previamente efectos beneficiosos sobre la insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) e ICDA. Las inyecciones de bolos a pacientes con ICDA estimulan la diuresis y la natriuresis y reducen significativamente la presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP) y la resistencia vascular sistémica (RVS). Estos efectos fueron más pronunciados que los inducidos por dosis iguales de ANP. Además, en el estudio SIRIUS I, las infusiones de ularitida de 24 horas redujeron la PECP y tendieron a mejorar la disnea. Este estudio de fase 2, SIRIUS II, evaluó los efectos hemodinámicos y clínicos de ularitida intravenosa cuando se añadió a la terapia estándar en pacientes hospitalizados con ICDA con disnea en reposo o con una actividad física mínima.

15 Los péptidos natriuréticos tales como urodilatina, en particular su versión sintética (también conocida como ularitida) se han usado para tratar pacientes con insuficiencia cardiaca. Los autores de la presente invención descubrieron que una infusión en continuo de un péptido natriurético (por ejemplo urodilatina) a una concentración relativamente baja durante un periodo (por ejemplo, de aproximadamente 24 horas a aproximadamente 120 horas) proporciona una eficacia superior en el tratamiento de insuficiencia cardiaca, particularmente insuficiencia cardiaca descompensada aguda. Esta dosis baja de péptido natriurético permite al procedimiento de tratamiento lograr los resultados deseados mientras que se evitan efectos secundarios adversos tales como efectos potencialmente perjudiciales para el riñón.

## Procedimientos

### 25 Diseño del estudio

Este estudio aleatorizado, de doble ciego, controlado por placebo se realizó en pacientes con ICDA en 13 centros alemanes, 2 serbios y 4 rusos. Los pacientes se dividieron al azar en 3 grupos de dosis de ularitida (7,5, 15 y 30 ng/kg/min) o placebo (figura 2). Todos los pacientes recibieron su medicación cardiovascular de cuidados estándar. Durante un periodo de 5 horas (comenzando 3 horas antes del inicio de la infusión del fármaco de estudio), se excluyeron diuréticos IV, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), fármacos vasoactivos e inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) y la nueva administración (IV) de dopamina/dobutamina. Se continuaron las infusiones en curso de dobutamina/dopamina a una dosis constante durante este periodo de 5 horas.

30 Se midieron parámetros hemodinámicos tales como PECP, presión atrial derecha (PAD) y gasto cardiaco (GC) antes, durante y 2 horas después de finalizar la infusión. Antes, a 6 horas y a 24 horas después del comienzo de la infusión, se realizó una evaluación de disnea independientemente por el paciente y el investigador. Se realizó un seguimiento estrecho de la presión arterial, la frecuencia cardiaca y ECG a lo largo de la infusión. Si la presión arterial sistólica disminuye a  $\leq 80$  mm Hg o disminuye  $> 50$  mm Hg desde un estado hipertensivo preexistente y el valor se confirma dentro de un periodo de 5 minutos, la infusión se detiene durante al menos 1 hora y después se reinicia a la misma dosis. Los acontecimientos adversos (AA) se registraron y los niveles de creatinina en suero se midieron a lo largo de todo el ensayo hasta 3 días desde el inicio de la infusión. Se registraron acontecimientos adversos graves y mortalidad a lo largo de los 30 días.

35 Antes de y al final de la infusión, se realizaron evaluaciones de laboratorio de seguridad (química clínica, hematología y análisis de orina). Al finalizar el periodo de seguimiento de 30 días, el investigador contactó con el médico de cada paciente o de la familia del paciente para evaluar la rehospitalización y la mortalidad.

### 45 Administración de fármaco de estudio

La ularitida (CardioPep Pharma GmbH) suministrada como 1 mg de polvo liofilizado que contenía 10 mg de manitol en viales de vidrio, se reconstituyó y se diluyó posteriormente con solución acuosa de NaCl al 0,9 % tal como se ha descrito en algún sitio.

50 El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y sus modificaciones y con las directrices de la buena práctica clínica y de conformidad con los comités éticos locales.

## Población de pacientes

55 Se reclutaron para el estudio doscientos veintinueve pacientes de raza blanca con ICDA y disnea (en reposo o con una actividad física mínima) que requerían hospitalización. Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito antes de formar parte del estudio. Las mediciones hemodinámicas de línea base fueron IC: media de 1,9 l/min/m<sup>2</sup>; PECP: media de 25 mm Hg; fracción de eyección  $< 40$  %: 95 %. Entre los diferentes grupos, la mediana de la

longitud de intervalo desde el tiempo de hospitalización al comienzo de la infusión de fármaco de estudio es de 2 a 3 días. Todos los pacientes tenían cateterismo cardiaco derecho. Los criterios de exclusión incluían presión arterial sistólica  $\leq 90$  mm Hg, infarto de miocardio dentro de las 4 semanas anteriores a su entrada en el estudio, enfermedades valvulares estenóticas graves, niveles de creatinina en suero  $> 2,5$  mg/dl y choque cardiogénico.

- 5 Todos los pacientes que se aleatorizaron para el tratamiento representaban la población de seguridad. Para el análisis de intento de tratamiento (ITT) (220 pacientes), 1 paciente del grupo de 15 ng/kg/min de ularitida se excluyó debido a la corta duración de la infusión (20 minutos) y a ningún dato válido de seguimiento.

#### **Evaluación del punto final de eficacia**

- 10 Los puntos finales coprimarios a 6 horas fueron: 1) cambio en la PECP en comparación con placebo y 2) cambios en el registro de disnea por autoevaluación del paciente, realizado independientemente por el investigador, en comparación con el placebo.

#### **Hemodinamica**

- 15 Se determinaron los parámetros hemodinámicos PECP, PAD y GC mediante cateterismo cardiaco derecho usando un catéter de termodilución 7FSwan-Ganz. La estabilidad de mediciones hemodinámicas se aseguró como sigue: no se permitió que las mediciones de GC a -30 minutos e inmediatamente antes de la dosificación variasen en un 15 % o más. Los parámetros hemodinámicos se midieron después a +30 min, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas de la dosificación así como 2 horas después del final de la dosificación (26 horas). Se calcularon IC y RVS. El consumo de oxígeno miocárdico (MVO<sub>2</sub>) se calculó usando la fórmula de Rooke y Feigl.

#### **Disnea evaluada por el paciente**

- 20 La autoevaluación de disnea por parte del paciente se registró con la escala de Likert de 7 puntos (mínima, moderada, marcadamente peor; sin cambios; mínima, moderada, marcadamente mejor) tal como se ha descrito previamente. La disnea evaluada por el paciente se trató de forma ciega para la medición hemodinámica.

#### **Parámetros renales**

La eliminación de creatinina (ECr) se estimó a partir de la creatinina en suero usando la ecuación de Cockcroft-Gault:

- 25 
$$ECr = [(140 - \text{edad en años}) \times (\text{peso corporal en kg})] / (72 \times \text{creatinina en suero en mg/dl})$$

En mujeres, el valor se multiplicó después por 0,85. Esta fórmula se ha validado en varios estudios de ICC y disfunción renal, pero se usa solo si la creatinina en suero se mide por el procedimiento de Jaffé.

#### **NT-pro-BNP**

- 30 Se obtuvo sangre venosa para la determinación de concentraciones en plasma de pro-BNP N-terminal (NT-pro-BNP). El NT-pro-BNP se midió usando el sistema de inmunoensayo sándwich Elecsys 2010 proBNP (Roche Diagnostics, Basilea, Suiza) con un intervalo analítico de 20 a 35.000 pg/ml.

#### **Evaluaciones de punto final de seguridad**

- 35 Los pacientes reclutados se hospitalizaron y se les realizó un seguimiento de presión arterial, frecuencia cardiaca, ECG y AA. Los AA se registraron a lo largo de 72 horas. Se registraron acontecimientos adversos graves y mortalidad a lo largo de 30 días. Si la presión arterial sistólica disminuyó a  $\leq 80$  mm Hg, confirmada mediante una medida de control dentro de un periodo de 5 minutos, la infusión se interrumpió y esto se registró como AA. Se obtuvieron muestras de sangre y orina de todos los pacientes antes y al final de la infusión del fármaco de estudio de 24 horas para la determinación de parámetros de laboratorio de seguridad (química clínica, hematología y análisis de orina). Se documentó la ingestión de fluido y la excreción de orina. El balance de fluido se calculó y se ajustó según las presiones de llenado cardiacas. Se realizó una llamada telefónica de seguimiento el día 30 para evaluación de acontecimientos adversos graves (AAG) y el estado vital.

#### **Análisis estadístico**

Todos los parámetros de eficacia y seguridad se describieron y resumieron por grupo de tratamiento y punto temporal (n, media aritmética, desviación típica, mediana, mínimo, máximo).

- 45 El punto temporal primario (es decir, el cambio absoluto con respecto a la línea base de la PECP después de 6 horas) se evaluó por análisis de covarianza (ANCOVA) que incluía la línea base como covarianza, tratamiento y centro como factores así como la interacción de tratamiento por centro. Si el ensayo F total dio indicación de una diferencia entre las medias, el análisis jerárquico se realizó comparando la dosis activa de placebo, comenzando con la dosis más elevada (alfa = 0,05) y deteniéndose si un ensayo no era significativo. Debido al principio de ensayo jerárquico, todos los ensayos se realizaron en un nivel local del 5 % y no fue necesario un ajuste alfa.

50

Todas las dosis activas que mostraron una diferencia significativa en comparación con el placebo se analizaron después frente a cada una de las otras. Para todas las diferencias, se calcularon intervalos del 95 % de confianza, estimando la variabilidad usando el error cuadrático medio del procedimiento de ANOVA. Los valores de P se derivaron también para otros parámetros y puntos temporales de interés, usando los procedimientos correspondientes. Estos valores de p pueden interpretarse como una medida descriptiva de la fuerza de evidencia, independientemente de la escala de medición, pero no deben interpretarse como una prueba estadística de ninguna diferencia real o asumida.

El registro de disnea se describió mediante tablas de frecuencia en términos de recuentos y porcentajes. Los datos se analizaron por parte de un asesor y el punto temporal con un ensayo chi-cuadrado teniendo en cuenta la influencia de los centros en la forma de un análisis de Cochran-Mantel-Haenszel.

Los acontecimientos adversos se codificaron usando el diccionario MedDRA. La incidencia de cada acontecimiento adverso (codificado mediante el término preferente) y el número y porcentaje de sujetos que experimentaron cada acontecimiento adverso se determinaron dentro de cada grupo de tratamiento.

## Resultados:

### 15 Reclutamiento de pacientes

Entre febrero de 2003 y octubre de 2004, se aleatorizaron 221 pacientes (53 pacientes en el grupo de placebo, 60 en el grupo de 7,5 ng/kg/min de ularitida, 53 en el grupo de 15 ng/kg/min de ularitida y 55 en el grupo de 30 ng/kg/min de ularitida), de los que 220 se trataron con el fármaco de estudio durante 24 horas. De los 221 pacientes (población de seguridad), 220 se incluyeron en la población de ITT.

### 20 Características de línea base

De los 221 pacientes aleatorizados, 173 (78,3 %) fueron varones. La media de edad de la población de estudio fue de 61 años. Las características demográficas eran comparables entre los 4 grupos de tratamiento. No había diferencias relevantes de edad, peso o altura. Todos los sujetos eran de raza blanca (tabla 4).

La hemodinámica media en la línea base fue comparable entre los diferentes grupos con respecto a IC, PECP y fracción de eyección. La mediana de niveles de NT-proBNP variaba de 2,64 a 3,52 pg/ml entre grupos de tratamiento. El historial médico cardiovascular fue comparable para los 4 grupos de tratamiento. La mayor parte de los pacientes tenían cardiomiopatía isquémica (CMI) como etiología primaria de su ICC (47 al 57 %) (tabla 4). La medicación de línea base principal constaba de diuréticos, inhibidores ACE, bloqueadores beta, digoxina y nitratos (tabla 5).

### 30 Efectos hemodinámicos

A 6 horas, el punto final primario, la PECP (figura 3) disminuyó significativamente en todos los grupos de ularitida en comparación con el placebo. La mayor disminución se observó en los grupos de 15 y 30 ng/kg/min ( $P < 0,01$ ), mientras que hubo una reducción menor pero significativa en el grupo de 7,5 ng/kg/min ( $P < 0,05$ ). En los grupos de 15 y 30 ng/kg/min, el PECP se redujo significativamente a 16 horas en comparación con el grupo de 7,5 ng/kg/min ( $P < 0,01$ ). No hubo diferencia entre los 2 grupos de dosis más altas ( $P = 0,930$ ). Los cambios con respecto a la línea base para los grupos de 15 y 30 ng/kg/min frente al placebo mostraron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) a 1 hora después del inicio de la infusión, que duraron hasta 24 horas, mientras que para 7,5 ng/kg/min, estas diferencias ( $P < 0,01$ ) fueron evidentes primeramente a 4 horas, durando hasta 24 horas ( $P < 0,05$ ) (tabla 6).

En la línea base, la presión atrial derecha (PAD) fue marcadamente elevada en todos los grupos. A 4 horas, los grupos de tratamiento de 7,5, 15 y 30 ng/kg/min de ularitida mostraron una disminución de la PAD en comparación con el placebo ( $P < 0,01$ ) que duró hasta 24 horas para los grupos de 7,5 y 30 ng/kg/min de ularitida ( $P < 0,05$ ) (tabla 6). La disminución media observada entre los pacientes de 15 ng/kg/min fue el doble que la del grupo placebo pero estadísticamente no más grande.

La resistencia sistémica vascular (RVS) disminuyó 1 hora después del inicio de la dosificación en los grupos de 15 y 30 ng/kg/min en comparación con el placebo ( $P < 0,01$ ) durando a lo largo de 24 horas, salvo a 4 horas para el grupo de 15 ng/kg/min ( $P > 0,05$ ) (tabla 6).

El transcurso temporal de la RVS se comparó con el de IC. Para los grupos de 15 y 30 ng/kg/min de ularitida, hubo un aumento de IC ya evidente a 1 hora después del inicio de la infusión ( $P < 0,01$ ). A lo largo del periodo de infusión y 2 horas después de finalizar la dosificación, el IC permaneció elevado en el grupo de 30 ng/kg/min. La ularitida a 15 ng/kg/min aumentó el IC de forma similar ( $P < 0,05$ ) a 6 horas (tabla 6).

Hubo una disminución relacionada con la dosis de la presión arterial sistólica durante la infusión (tabla 6). A 4 horas, los grupos de tratamiento de 7,5, 15 y 30 ng/kg/min de ularitida mostraron una disminución de la presión arterial sistólica de -6,9, -9,0 y -13,4 mm de Hg, respectivamente. Hubo también una disminución de -5,8 mm de Hg en la presión arterial sistólica en el grupo de placebo. La mayor disminución tuvo lugar después de aproximadamente 6

horas, con solo mínimos cambios a 24 horas. Después de finalizar la infusión, la presión arterial sistólica aumentó de nuevo en los grupos de 15 y 30 ng/kg/min de ularitida. La presión arterial media (PAM) también disminuyó de un modo relacionado con la dosis. No obstante, la PAM media no cayó por debajo de 80 mm de Hg en ninguno de los grupos de tratamiento de ularitida. La frecuencia cardiaca no cambió durante la infusión de ularitida y no fue diferente entre los grupos (no se muestran datos).

La función de bombeo ventricular izquierda definida por la relación entre IC y PECP se mejoró con la infusión de ularitida a 6 horas (figura 4). Además, el consumo de oxígeno miocárdico disminuyó de un modo dependiente de la dosis (figura 5).

#### Evaluación de disnea

Después de 6 horas de infusión, los pacientes evaluaron la disnea con respecto a la línea base. A 6 horas (figura 4), los 3 grupos de ularitida difirieron significativamente del grupo de placebo. Las mayores mejoras se observaron en los grupos de 15 y 30 ng/kg/min ( $P < 0,01$ ), mientras que una mejora más pequeña se observó en el grupo de 7,5 ng/kg/min ( $P < 0,05$ ). Más pacientes de los grupos de ularitida evaluaron sus cambios en la disnea como moderadamente o marcadamente mejores, mientras que lo más frecuentemente no se informó de ningún cambio en la disnea en el grupo de placebo. Se informó de un deterioro en la disnea solo por parte de 1 paciente que recibía placebo. Además, a 24 horas, más pacientes que recibían ularitida en las 3 dosificaciones diferentes informaron de una mejora en la disnea en comparación con los pacientes tratados con placebo.

#### Medicación anterior y concomitante

La medicación cardiovascular de cuidado estándar de línea base de pacientes incluía diuréticos de asa, diuréticos de tiazida, nitratos, inhibidores ACE, bloqueadores de angiotensina (AT)-II, bloqueadores beta, glucósidos, dobutamina y dopamina. En comparación con el periodo anterior a la infusión, durante la infusión menos pacientes de los 4 grupos de tratamiento fueron tratados con diuréticos y nitratos, con la disminución más prominente en el grupo de 15 ng/kg/min (tabla 5).

#### NT-pro-BNP

En la línea base, la mediana de los niveles de NT-proBNP en plasma se elevó patológicamente (tabla 4). Aunque no hubo ningún cambio a 6 horas en los grupos de ularitida con respecto al placebo, el NT-proBNP en plasma disminuyó significativamente en los grupos de 15 y 30 ng/kg/min en comparación con el placebo a 24 horas ( $P < 0,01$  y  $P < 0,05$ , respectivamente) (figura 5).

#### Efectos renales y uso de diuréticos de asa

La excreción de orina media no difirió significativamente entre todos los grupos de tratamiento y varió de 1.925 a 2.309 ml/24 horas (figura 6). No obstante, durante la dosificación, los diuréticos de asa tendieron a administrarse menos frecuentemente al grupo de 15 ng/kg/min (67,3 %) en comparación con el grupo de placebo (79,2 %). En la línea base, los niveles de creatinina en suero (CrS) fueron comparables entre todos los grupos de tratamiento. Al finalizar la dosificación (24 horas), los cambios en CrS con respecto a la línea base no variaron relativamente en todos los grupos de tratamiento salvo en el grupo de 15 ng/kg/min de ularitida, que tendió a mostrar una disminución de CrS, mientras que la eliminación de creatinina (ECr) tendió a incrementarse en el grupo de placebo con respecto a los grupos de ularitida (figura 6). Al finalizar la dosificación, la incidencia de aumentos predefinidos de niveles de CrS  $> 25$  % fue comparable en todos los grupos. No obstante, en el grupo de 15 ng/kg/min, pocos pacientes experimentaron aumentos de CrS  $> 25$  % a 48 y 72 horas en comparación con otros grupos. A lo largo de 72 horas, hubo también una disminución más pequeña de ECr en el grupo de 15 ng/kg/min en comparación con otros grupos (figura 6).

#### Seguridad y mortalidad

Una vista general de los resultados de seguridad se proporciona en la tabla 7. Se informó de acontecimientos adversos a 72 horas más frecuentemente en los grupos de ularitida, que aumentan de forma dependiente de la dosis. En comparación con el placebo (7,5 %), el número de pacientes con algún AA relacionado con fármacos fue superior en los grupos de ularitida (7,5 ng/kg/min: 16,7 %; 15 ng/kg/min: 13,2 %; 30 ng/kg/min: 20,0 %). La mayor parte de los AA fueron de intensidad suave a moderada. Se informó más frecuentemente de AA relacionados con fármacos en todos los grupos de ularitida en los que hubo una disminución de la presión arterial (5,4 %), hipotensión (5,4 %), sudoración (4,2 %) y mareos (3,0 %). Todos los AA que describieron una disminución de la presión arterial así como hipotensión fueron agrupados (disminución de la presión arterial/hipotensión) y las tasas de incidencia se proporcionan en la tabla 7. Solo un paciente de cada uno de los grupos de ularitida requirió la interrupción permanente del fármaco de estudio debido a disminución de la presión arterial/hipotensión.

Se informó de disminución de la frecuencia cardiaca y bradicardia en 3 pacientes del grupo de 7,5 ng/kg/min (5 %), 1 paciente (1,8 %) del grupo de 30 ng/kg/min y no se informó de ningún paciente en los grupos de 15 ng/kg/min y de placebo. Tuvo lugar un aumento de la frecuencia cardiaca/taquicardia ventricular en 2 pacientes del grupo de 15 ng/kg/min (3,8 %) y se informó de taquiarritmia en 1 paciente del grupo de 30 ng/kg/min (1,8 %). No tuvo lugar



ningún aumento de la frecuencia cardiaca/taquicardia ventricular o taquiarritmia en ninguno de los pacientes de 7,5 ng/kg/min y de placebo.

Durante los 30 días del estudio murieron doce pacientes: 7 pacientes (13,2 %) del grupo de placebo, 2 pacientes (3,4 %, P = 0,08 en comparación con el placebo) del grupo de 7,5 ng/kg/min, 2 pacientes (3,8 %, P = 0,16) en el grupo de 15 ng/kg/min y 1 paciente (1,8 %, P = 0,029) en el grupo de 30 ng/kg/min. La mayor parte de los pacientes murieron durante el periodo de seguimiento entre los días 6 y 26. Se informó de AAG no fatales para 13 pacientes: para 2 pacientes que recibieron placebo, para 3 pacientes de cada uno de los grupos de 7,5 y 15 ng/kg/min y para 5 pacientes del grupo de 30 ng/kg/min. Para todos los AAG, la relación con la medicación de estudio se consideró improbable o no relacionada. Hubo un número más elevado de pacientes con AAG en el grupo de placebo que en los grupos de ularitida (tabla 7).

No hubo diferencias clínicamente relevantes entre los grupos de tratamiento para parámetros de seguridad de laboratorio. Se informó de resultados de laboratorio clínicamente significativos, no presentes antes de la dosificación, para 4 pacientes: 2 en el grupo de 7,5 ng/kg/min y 2 en el grupo de 30 ng/kg/min, pero ninguno en los grupos de placebo y de 15 ng/kg/min. No hubo cambios clínicamente relevantes relacionados con el tiempo o con la dosis en el ritmo cardiaco medio o intervalos de ECG. La mediana del tiempo de hospitalización fue más corta para los grupos de 15 y 30 ng/kg/min (122 y 158 horas, respectivamente) en comparación con 201 y 192 horas para los grupos de placebo y de 7,5 ng/kg/min, respectivamente; esto no es estadísticamente significativo y requiere evaluación adicional con mayores números de pacientes.

### Discusión

En el ensayo SIRIUS II, el péptido natriurético sintético ularitida redujo significativamente la PECP y mejoró la disnea en pacientes con ICDA cuando se añadió a la terapia estándar. La ularitida se toleró bien, con disminuciones dependientes de la dosis esperada en la presión arterial. Estos resultados sugieren que la ularitida administrada a pacientes con ICDA es clínica y hemodinámicamente activa, sin efectos perjudiciales aparentes sobre la función renal a corto plazo y la mortalidad a 30 días.

La ularitida produce una reducción rápida de PECP, con resultados observados dentro de un periodo de 30 minutos a partir del inicio de la infusión en los grupos de 15 y 30 ng/kg/min de ularitida. De forma concomitante, la ularitida redujo el RVS y elevó el IC después de 1 hora en comparación con el placebo. Además, a 6 horas, la ularitida redujo significativamente la PECP en los 3 grupos de dosis en comparación con el cuidado estándar y redujo la PAD y la RVS, aumentando, por lo tanto, el IC. Estos efectos hemodinámicos favorables se mantuvieron hasta finalizar el periodo de infusión de 24 horas. Estos datos muestran que la infusión de ularitida reduce rápida y consistentemente las presiones de llenado cardiacas, provocando una disminución del consumo de oxígeno miocárdico y una mejora de la función de bombeo ventricular izquierda.

Un objetivo adicional del ensayo fue investigar cambios en la disnea, un síntoma cardinal en pacientes con ICDA. En comparación con el placebo, los pacientes que recibieron ularitida en los 3 grupos de dosis informaron de mejoras de disnea más moderadas y marcadas después de 6 y 24 horas de infusión. Estos datos apoyan los hallazgos del estudio SIRIUS I piloto, en el que se observó una tendencia similar en un número pequeño de pacientes. Aunque la evaluación de registro de disnea usada en SIRIUS II no está validada, se ha usado comúnmente en estudios anteriores. La autoevaluación por parte del paciente puede verse afectada por variables de confusión (por ejemplo, si el paciente tiene un catéter de corazón izquierdo colocado o si se conocen parámetros hemodinámicos). En este ensayo, los autores de la invención intentaron reducir el sesgo potencial realizando la autoevaluación de disnea antes de las mediciones hemodinámicas y prohibiendo a los investigadores hablar de estas mediciones con los pacientes o asistir a los mismos en el relleno de la evaluación de síntomas. No obstante, el conocimiento de PECP por parte de la plantilla de enfermería y médica puede haber afectado a una autoevaluación del paciente.

Las presiones de llenado cardiaco reducidas que disminuyen el estrés de paredes ventriculares durante las infusiones de ularitida se reflejan también en una reducción de las concentraciones de NT-proBNP en plasma. En contraste con el placebo, donde se detectó un aumento de NT-proBNP en plasma, las dos dosis de ularitida superiores disminuyeron el NT-proBNP a 24 horas. No obstante, la respuesta de NT-proBNP no se observó a 6 horas, pero fue claramente evidente a 24 horas. Las reducciones abruptas en las presiones de llenado ventriculares derecha e izquierda pueden dar como resultado una reducción de NT-proBNP con una fase de salto temporal mostrada en un número pequeño de pacientes en el estudio SIRIUS I. La secreción de NT-proBNP se controla a un nivel transcripcional, que generalmente requiere un estímulo a largo plazo. Por lo tanto, las reducciones abruptas en las presiones de llenado ventriculares derecha e izquierda pueden no dar como resultado directamente la reducción de NT-pro-BNP. La semivida de NT-proBNP es de 120 minutos, sugiriendo que los cambios hemodinámicos podrían reflejarse por este ensayo aproximadamente cada 12 horas. Ya que la de 24 horas fue la única medida realizada después de 6 horas, la posibilidad de una reducción de niveles NT-proBNP antes de 24 horas no puede ser excluida.

La función renal frecuentemente se deteriora durante el tratamiento de pacientes hospitalizados por insuficiencia cardiaca y aumenta en CrS en solo 0,1 mg/dl y predice independientemente un empeoramiento. Por lo tanto, los agentes que mejoran la hemodinámica, dando como resultado efectos clínicos beneficiosos pero no deteriorando la función renal, son necesarios para el tratamiento de ICDA. Se sabe que la ularitida induce efectos renales tales

como diuresis y natriuresis. Entre los 4 grupos de tratamiento no hubo diferencias relevantes en la excreción de orina durante 24 horas. A 24, 48 y 72 horas, los niveles de CrS fueron comparables entre los grupos de placebo, 7,5 y 30 ng/kg/min. No obstante, hubo una tendencia frente a niveles de CrS reducidos en el grupo de 15 ng/kg/min (figura 13). Los aumentos de CrS superiores al 25 % tuvieron lugar menos frecuentemente en el grupo de 15 ng/kg/min y la ECr tendió a ser menos decreciente en el grupo de 15 ng/kg/min en comparación con los grupos de placebo, 7,5 y 30 ng/kg/min (figura 14). Tomados conjuntamente, los datos actuales no demuestran ninguna evidencia de efectos renales perjudiciales inducidos por ularitida durante la infusión y el periodo de seguimiento de 2 días. Los ensayos de prospección con periodos de seguimiento más largos para investigar adicionalmente los efectos a corto y largo plazo de ularitida sobre la función renal son necesarios. Véanse las figuras 15 y 16.

La infusión de ularitida se toleró bien por pacientes de todos los grupos de dosis. Las tasas de incidencia de cualquier AA a lo largo de los 3 días fueron superiores en los grupos de ularitida en comparación con el placebo. Se observaron AAG más frecuentemente en el grupo de placebo que en cualquiera de los grupos de tratamiento de ularitida. Los AA más comunes relacionados con fármacos fueron hipotensión y disminución de la presión arterial. Ambos se solucionaron rápidamente bien espontáneamente o bien tras infusión IV de solución salina fisiológica. Si fueron sintomáticos, los síntomas fueron generalmente leves. Tal como se ha informado previamente en otros estudios, la hipotensión es el AA más común que tuvo lugar en pacientes con insuficiencia cardiaca cuando se administraron fármacos vasodilatadores tales como ANP, nesiritida o nitroglicerina. En el presente estudio, tuvieron lugar arritmias cardiacas incluidas bradicardia o taquicardia en tasas de incidencia bajas. En un estudio anterior, la ularitida provocó bradicardia e hipotensión grave en 1 paciente con ICC.

La tasa de mortalidad fue inferior en los grupos de ularitida en comparación con el placebo y en la mayor parte de los pacientes con ICC el deterioro fue la causa de la muerte. No obstante, estos resultados necesitan confirmarse en ensayos más amplios. Los autores son conscientes de otras limitaciones potenciales de este estudio. Pueden introducirse sesgos usando los registros de disnea evaluados por los pacientes si el registro de PECP puede conocerse posiblemente por parte de bien el paciente o bien el observador. Además, en futuros estudios, los acontecimientos adversos y los datos de la función renal deberían recogerse después de la hospitalización para investigar acontecimientos adversos a largo plazo.

El ensayo SIRIUS II ha demostrado que una infusión de 24 horas de ularitida en las 3 dosis en pacientes con ICDA da como resultado una disminución consecuente, abrupta de PECP y una mejora de la función de bombeo ventricular izquierda asociada con mejoras en la disnea. Además, la ularitida tendió a reducir la mortalidad a lo largo de los 30 días y no alteró la función renal durante el periodo de evaluación. Los autores de la invención concluyen que la ularitida es útil para el tratamiento de pacientes con ICDA.

#### Ejemplo 4

Se observan en este estudio los efectos de la administración intravenosa (IV) en continuo de ularitida durante un periodo de al menos 48 horas y hasta 72 horas. Los participantes en este estudio son pacientes adultos varones y mujeres de más de 18 años de edad, que han sido hospitalizados por insuficiencia cardiaca descompensada aguda (ICDA) con disnea en reposo o con actividad mínima.

Después de informar del consentimiento, los pacientes se aleatorizan para recibir bien ularitida o bien placebo (aleatorización 1:1) administrada de forma intravenosa durante 48 horas hasta un máximo de 72 horas en este estudio de doble ciego. Se administran 15 ng/kg/min o 7,5 ng/kg/min de ularitida o placebo además de la terapia estándar para ICDA. Los pacientes reciben la administración IV durante al menos 48 horas, con la opción de prolongar el tratamiento más allá de las 48 horas, a 60 horas o un máximo de 72 horas según criterio del médico en condiciones de seguridad prefijadas.

Las evaluaciones de las condiciones del paciente tuvieron lugar a 1, 3, 6, 24, 48 y 72 horas, 14 días, 30 días, 60 días, 90 días, 150 días y 180 días después del comienzo de la administración de fármaco. Se realizó un seguimiento de los parámetros indicativos de efectos hemodinámicos, renales y clínicos, lo que incluía frecuencia cardiaca, presión arterial, índice cardiaco (IC), presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP), fracción de eyección (EF), péptido natriurético pro-cerebral N-terminal (NT-proBNP), presión atrial derecha (PAD), resistencia vascular sistémica (RVS), creatinina en suero, eliminación de creatinina, nitrógeno de urea en sangre (BUN), tasa de filtración glomerular (TFG), mortalidad cardiovascular a 30, 60 y 180 días, mortalidad por todas las causas a 30, 60 y 180 días, tiempo hasta la muerte o rehospitalización cardiovascular (diferente del índice de hospitalización para ICDA), días en el hospital (índice de hospitalización) y días vivo y sin estar en el hospital.

En comparación con la administración de ularitida durante un periodo de 24 horas, una administración más prolongada de al menos 48 horas y de hasta 72 horas maximiza la magnitud de los efectos hemodinámicos y clínicos sin aumentar los efectos adversos en la función renal de los pacientes. Este régimen de dosificación más prolongado proporciona beneficios a corto plazo mejorados (por ejemplo, una reducción mantenida en disnea), así como beneficios a medio y largo plazo mejorados (por ejemplo, efectos protectores sobre el corazón y riñones del paciente, dando como resultado una incidencia reducida de rehospitalización y/o mortalidad).

**Tabla 1.** Datos demográficos, etiología de ICC (media  $\pm$  DT) y medicación cardiaca concomitante durante la

dosificación

	Urodilatina (ng/[kg · min])			
	Placebo (n = 6)	7,5 (n = 6)	15 (n = 6)	30 (n = 6)
Datos demográficos				
Edad (años)	69,8 ± 9,4	64,8 ± 12,8	66,5 ± 16,8	63,5 ± 9,3
Sexo (mujer/varón)	3/3	1/5	1/5	1/5
Peso (kg)	75,1 ± 8,7	88,9 ± 30,8	80,2 ± 25,7	80,2 ± 16,2
Altura	169,7 ± 9,1	169,8 ± 16,5	169,2 ± 7,3	171,8 ± 12,8
Etiología ICC				
Cardiomiopatía dilatada	1	1	1	1
Hipertensión	1	1	2	-
Enfermedad arterial coronaria	4	4	3	5
Medicación cardiaca				
Nitratos	4	-	-	1
Diuréticos de asa	6	5	1	2
Infusión de dopamina	1	1	-	-
Diuréticos de tiazida	1	3	3	3
Inhibidores ACE/bloqueadores ATI	3	5	5	5
Bloqueadores β	3	5	3	2
Espironolactona	3	3	2	2
Glucósidos	3	4	2	2

ATI, Angiotensina I.

**Tabla 2.** Variables hemodinámicas (media de cambios a partir de la línea base después del inicio de la infusión del fármaco de estudio (media ± DT)), niveles de sodio en suero y niveles de creatinina urinaria (media ± DT)

Placebo (n = 6)	Urodilatina (ng/[kg · min])			
	7,5 (n = 6)	15(n=6)	30 (n=6)	
Índice cardiaco [l/min por m <sup>2</sup> ]				
Línea base	1,9 ± 0,5	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,2
6 h	0,1 ± 0,3	-0,0 ± 0,4	0,1 ± 0,3	0,2 ± 0,2
24 h	0,3 ± 0,8	0,0 ± 0,2	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,4
30 h	-0,0 ± 0,4	0,1 ± 0,4	0,3 ± 0,4	-0,0 ± 0,3
Resistencia vascular sistémica [dina/s por cm <sup>-5</sup> ]				
Línea base	1916 ± 471	1718 ± 564	1975 ± 551	1625 ± 167
6 h	-201 ± 412	104 ± 263	-50 ± 268	-276 ± 305
24 h	-211 ± 557	83 ± 363	-249 ± 376	-236 ± 348
30 h	5 ± 460	118 ± 344	-230 ± 428	-5 ± 386

(continuación)

Placebo (n = 6)	Urodilatina (ng/[kg · min])			
	7,5 (n = 6)	15(n=6)	30 (n=6)	
Presión arterial sistólica (mm de Hg)				
Línea base	120,2 ± 24,54	119,2 ± 18,4	130,0 ± 21,0	116,3 ± 11,3
6 h	-7,5 ± 8,6	-4,0 ± 17,2	-7,7 ± 5,9	-16,7 ± 12,0*†
24 h	-8,7 ± 15,2	-3,5 ± 6,0	-9,7 ± 10,8	-10,8 ± 12,3
30 h	-3,0 ± 10,2	-1,8 ± 12,0	-3,0 ± 9,1	-4,3 ± 19,7
Presión arterial diastólica (mm de Hg)				
Línea base	79,0 ± 16,5	73,8 ± 12,2	79,3 ± 9,7	74,3 ± 9,4
6 h	-4,5 ± 9,6	3,0 ± 11,1	-0,5 ± 6,1	-10,3 ± 11,7
24 h	-5,3 ± 11,9	-3,0 ± 11,5	-6,3 ± 8,7	-9,8 ± 8,2
30 h	-2,5 ± 13,8	4,2 ± 8,4	-2,0 ± 7,1	-6,2 ± 8,4
Frecuencia cardiaca (latidos/min)				
Línea base	83,2 ± 16,4	79,7 ± 12,0	70,2 ± 10,7	83,3 ± 5,9
6 h	-2,5 ± 4,8	3,3 ± 14,1	5,3 ± 4,5	-2,5 ± 12,3
24 h	-9,3 ± 8,9	5,0 ± 6,1*	5,2 ± 4,4*	-0,3 ± 8,2
30 h	-7,2 ± 12,6	3,3 ± 8,6	5,5 ± 6,7	6,0 ± 8,3
Sodio en suero (mmol/l)				
Línea base	138,8 ± 3,2	139,7 ± 4,9	139,0 ± 1,3	137,8 ± 2,8
Después de 24 h de dosificación	138,3 ± 3,9	139,4 ± 5,6	139,5 ± 2,1	134,8 ± 1,7*
Creatinina urinaria‡ (mg/l)				
Línea base	90,7 ± 35,3	124,6 ± 75,4	86,1 ± 53,3	46,5 ± 47,9
Después de 24 horas de dosificación	62,8 ± 69,3	69,5 ± 11,9	115,7 ± 48,5	117,7 ± 85,7
Creatinina en suero (mg/dl)				
Antes de la dosificación	1,30 ± 0,32	1,37 ± 0,97§	1,27 ± 0,45L	0,93 ± 0,17
Al final de la dosificación	1,28 ± 0,34	1,66 ± 0,93§	1,15 ± 0,3 L	0,90 ± 0,14
Excreción de orina (ml)				
24 h	2291 ± 755	2156 ± 619	1761 ± 969	1837 ± 764

\* P < 0,05 frente a placebo (contraste por pares),

† P < 0,05 frente a 7,5 ng/(kg · min) de urodilatina (contraste por pares),

‡ n = 3,

5 § n = 5,

| n = 4,

**Tabla 3.** Medicación cardiaca concomitante antes de la infusión y durante la infusión

Medicación	Grupo	n	Antes de la infusión (24 h)		Durante la infusión	
			N.º de pacientes que reciben medicación	Dosis total (mg/24 h)	N.º de pacientes que reciben medicación	Dosis total (mg/24 h)
Diuréticos de asa	Placebo	6	6	550	6	650
	7,5	6	6	480	5	300
	15	6	3	260	1	60
	30	6	3	670	2	450
Nitratos	Placebo	6	4	160 (ISDN)	4	160 (ISDN)
				24 (MOLS)		24 (MOLS)
				0,8 (GTN)		0,8 (GTN)
	7,5	6	-	-	-	-
	15	6	1	8 (MOLS)	-	-
	30	6	1	80 (ISDN)	1	80 (ISDN)
Diuréticos de tiazida	Placebo	6	1	12,5 (HCT)	1	25 (HCT)
	7,5	6	3	75 (HCT)	3	75(HCT)
				40 (XPM)		40 (XPM)
	15	6	4	50 (HCT)	3	50 (HCT)
				6 (PTN)		
	30	6	3	50 (HCT)	3	50 (HCT)
				20(XPM)		20(XPM)

HCT, hidroclorotiazida; ISDN, dinitrato de isosorbida; GTN, trinitrato de glicerina; MOLS, molsidomina; XPM, xipamid; PTN, piretanid.

5 **Tabla 4.** Datos demográficos y hemodinámica de línea base en reclutamiento e historial médico

	Ularitida (ng/kg/min)			
	Placebo (n = 53)	7,5 (n = 60)	15 (n = 53)	30 (n = 55)
<b>Media de datos demográficos ± DT</b>				
Edad (años)	60,6 ± 12,3	59,9 ± 13,9	59,8 ± 10,8	61,5 ± 13,8
Altura (cm)	174,1 ± 8,9	174,0 ± 8,7	173,7 ± 10,3	174,1 ± 9,4
Peso (kg)	81,0 ± 15,6	85,1 ± 16,8	83,9 ± 18,0	82,7 ± 16,3

(continuación)

	<b>Ularitida (ng/kg/min)</b>			
	<b>Placebo</b> (n = 53)	<b>7,5</b> (n = 60)	<b>15</b> (n = 53)	<b>30</b> (n = 55)
Varón n (%)	44 (83,0)	50 (83,3)	37 (69,8)	42 (76,4)
Mujer n (%)	9 (17,0)	10 (16,7)	16 (30,2)	13 (23,6)
<b>Media de datos hemodinámicos ± DT</b>				
FC (bpm)	76,4 ± 12,5	77,8 ± 13,9	75,5 ± 11,8	78,6 ± 14,0
TA sis (mm de Hg)	127,4 ± 19,9	126,1 ± 24,6	124,8 ± 17,7	124,8 ± 21,6
TA dia (mm de Hg)	74,5 ± 12,7	78,5 ± 13,9	77,4 ± 10,7	76,7 ± 13,6
IC (l/min/m <sup>2</sup> )	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,3	1,9 ± 0,4
PECP (mm de Hg)	24,9 ± 6,0	24,8 ± 5,8	25,8 ± 5,8	25,4 ± 5,1
EF (≤30%) n (%)	36 (67,9)	45 (75)	42 (79,2)	37 (67,3)
EF (≤40%) n (%)	50 (94,3)	57 (95)	52 (98,1)	48 (87,3)
NT-proBNP (pg/ml), mediana	3,06	3,52	2,64	2,94
<b>Causa de la insuficiencia cardiaca n (%)</b>				
ICM	28 (52,8)	28 (46,7)	30 (56,6)	28 (50,9)
DCM	17 (32,1)	25 (41,7)	19 (35,8)	19 (34,5)
HHD	8 (15,1)	7 (11,7)	4 (7,5)	6 (10,9)
<b>Diabetes n (%)</b>	16 (30,2)	19 (31,7)	15 (28,3)	29 (52,7)

DCM: cardiomiopatía dilatada; ICM: cardiomiopatía isquémica; HHD: cardiopatía hipertensiva; IC: índice cardiaco; PECP: presión de enclavamiento capilar pulmonar; EF: fracción de eyección; FC: frecuencia cardiaca,

**Tabla 5.** Medicación cardiaca anterior y concomitante

<b>Fármaco</b> <b>n (%)</b>	<b>Medicación anterior n (%)</b>				<b>Medicación concomitante durante la infusión del fármaco de estudio n (%)</b>			
	<b>Placebo</b> (n = 53)	<b>Ularitida (ng/kg/min)</b>			<b>Placebo</b> (n = 53)	<b>Ularitida (ng/kg/min)</b>		
		<b>7,5</b> (n = 60)	<b>15</b> (n = 52)	<b>30</b> (n = 55)		<b>7,5</b> (n = 60)	<b>15</b> (n = 52)	<b>30</b> (n = 55)
<b>Diuréticos</b>	49 (92,5)	56 (93,3)	49 (94,2)	53 (96,4)	43 (81,1)	51 (85,0)	40 (76,9)	46 (83,6)
Diuréticos de asa	48 (90,6)	56 (93,3)	46 (88,5)	51 (92,7)	42 (79,2)	51 (85,0)	35 (67,3)	42 (76,4)
<b>Nitratos</b>	25 (47,2)	26 (43,3)	31 (59,6)	21 (38,2)	16 (30,2)	20 (33,3)	19 (36,5)	15 (27,3)
<b>Dobutamina</b>	2 (3,8)	1 (1,7)	4 (7,7)	1 (1,8)	1 (1,9)	0	0	1 (1,8)

(continuación)

Fármaco n (%)	Medicación anterior n (%)				Medicación concomitante durante la infusión del fármaco de estudio n (%)			
	Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)			Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)		
		7,5 (n = 60)	15 (n = 52)	30 (n = 55)		7,5 (n = 60)	15 (n = 52)	30 (n = 55)
<b>Dobutamina</b>	2 (3,8)	1 (1,7)	4 (7,7)	1 (1,8)	1 (1,9)	0	0	1 (1,8)
Continuada a la línea base	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	1 (1,9)			1 (1,8)
Administración nueva	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.				
<b>Dopamina</b>	1 (1,9)	4 (6,7)	4 (7,7)	3 (5,5)	1 (1,9)	1 (1,7)	1 (1,9)	3 (5,5)
Continuada a la línea base	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	1 (1,9)	1 (1,7)		3 (5,5)
Administración nueva	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.			1 (1,9)	
<b>Digoxina</b>	22 (41,5)	38 (63,3)	35 (67,3)	37 (67,3)	17 (32,1)	32 (53,3)	29 (55,8)	34 (61,8)
<b>Inhibidores ACE</b>	47 (88,7)	50 (83,3)	40 (76,9)	43 (78,2)	46 (86,8)	48 (80,0)	39 (75,0)	40 (72,7)
<b>Bloqueadores del receptor de AT-II</b>	2 (3,8)	4 (6,7)	3 (5,8)	4 (7,3)	1 (1,9)	5 (8,3)	3 (5,8)	4 (7,3)
<b>Bloqueadores β</b>	39 (73,6)	49 (81,7)	35 (67,3)	37 (67,3)	35 (66,0)	47 (78,3)	36 (69,2)	33 (60,0)
<b>Espironolactona</b>	27 (50,9)	41 (68,3)	36 (69,2)	36 (65,5)	28 (52,8)	40 (66,7)	37 (71,2)	35 (63,6)
<b>Aspirina</b>	33 (62,3)	35 (58,3)	35 (67,3)	29 (52,7)	32 (60,4)	34 (56,7)	32 (61,5)	27 (49,1)
<b>Warfarina</b>	11 (20,8)	12 (20,0)	10 (19,2)	20 (36,4)	9 (17,0)	10 (16,7)	7 (13,5)	14 (25,5)

Inhibidores ACE: inhibidores de la enzima convertora de angiotensina; bloqueadores del receptor AT-II: bloqueadores del receptor de angiotensina II;

N.A.: no aplicable.

5 **Tabla 6.** Variables hemodinámicas: cambios con respecto a la línea base

Datos hemodinámicos media ± DT	Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)		
		7,5 (n = 60)	15 (n = 52)	30 (n = 55)

(continuación)

Datos hemodinámicos		Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)		
			7,5 (n = 60)	15 (n = 52)	30 (n = 55)
<b>Presión de enclavamiento capilar pulmonar (PECP)</b>					
[mm de Hg]					
Línea base		24,9 ± 6,0	24,8 ± 5,8	25,8 ± 5,8	25,4 ± 5,1
Cambio a	30 min	-1,6 ± 3,2	-1,1 ± 5,3	-3,2 ± 5,4	-3,1 ± 5,5
	1 h	-2,0 ± 4,7	-2,9 ± 6,1	-5,1 ± 5,4**	-5,1 ± 6,4**
	4 h	-3,4 ± 5,5	-6,3 ± 7,6**	-8,9 ± 7,0**	-8,6 ± 5,2**
	6 h	-4,4 ± 6,1	-6,5 ± 7,2*	-10,5 ± 6,3**	-10,1 ± 5,7**
	24 h	-5,2 ± 7,3	-7,9 ± 9,2*	-9,9 ± 7,6**	-8,8 ± 7,0**
	26 h	-4,4 ± 6,2	-6,4 ± 9,1	-7,0 ± 8,1	-7,4 ± 6,7*
<b>Índice cardiaco (IC)</b>					
[l/min por m <sup>2</sup> ]					
Línea base		1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4	1,9 ± 0,4
Cambio a	30 min	0,01 ± 0,2	0,07 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,3
	1 h	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,2*	0,3 ± 0,3**	0,4 ± 0,3**
	4 h	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,4	0,3 ± 0,4	0,4 ± 0,4**
	6 h	0,1 ± 0,3	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,4*	0,4 ± 0,5**
	24 h	0,1 ± 0,3	0,1 ± 0,4	0,2 ± 0,4	0,3 ± 0,4*
	26 h	0,04 ± 0,3	0,1 ± 0,4	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,4*
<b>Resistencia vascular sistémica (RVS)</b>					
[dina/s por cm <sup>-5</sup> ]					
Línea base		1823 ± 464	1872 ± 662	1915 ± 556	1840 ± 644
Cambio a	30 min	-24 ± 254	-96 ± 496	-142 ± 329	-230 ± 432
	1 h	-90 ± 324	-136 ± 315	-364 ± 415**	-392 ± 374**
	4 h	-173 ± 335	-131 ± 435	-334 ± 288	-423 ± 464**
	6 h	-140 ± 315	-184 ± 373	-375 ± 444**	-445 ± 428**
	24 h	-30 ± 473	-135 ± 541	-328 ± 420**	-321 ± 542**
	26 h	-16 ± 386	-131 ± 490	-232 ± 448*	-268 ± 478**
<b>Presión atrial derecha (PAD)</b>					
[mm de Hg]					
Línea base		9,6 ± 5,2	11,3 ± 6,6	10,0 ± 5,1	12,0 ± 7,4
Cambio a	30 min	-0,2 ± 3,3	-1,2 ± 4,6	-0,7 ± 2,6	-1,9 ± 4,9



(continuación)

Datos hemodinámicos		Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)		
			7,5 (n = 60)	15 (n = 52)	30 (n = 55)
media ± DT					
Cambio a	1 h	-0,8 ± 3,4	-1,8 ± 4,9	-1,1 ± 3,6	-2,4 ± 4,6
	4 h	-0,9 ± 4,3	-3,0 ± 5,7*	-3,3 ± 3,3**	-4,4 ± 4,4**
	6 h	-0,6 ± 4,5	-3,5 ± 5,6**	-3,9 ± 3,6**	-5,0 ± 5,3**
	24 h	-1,6 ± 4,9	-4,1 ± 5,5*	-3,3 ± 4,2	-4,7 ± 6,2*
	26 h	-1,8 ± 5,2	-3,0 ± 6,6	-2,3 ± 4,7	-3,4 ± 6,0
<b>Presión arterial sistólica</b>					
[mm de Hg]					
Línea base		127,4 ± 19,9	126,1 ± 24,6	124,8 ± 17,7	124,8 ± 21,6
Cambio a	30 min	-3,9 ± 7,3	-1,8 ± 11	-2,5 ± 11,6	-1,4 ± 10,6
	1 h	-3,2 ± 8,5	-2,7 ± 11,3	-5,4 ± 12,4	-5,8 ± 13,5
	4 h	-5,8 ± 13,0	-6,9 ± 11,9	-9,0 ± 12,5	-13,4 ± 14,0**
	6 h	-5,4 ± 12,8	-7,4 ± 11,1	-11,3 ± 12,8**	-14,6 ± 12,3**
	24 h	-4,8 ± 15,8	-8,8 ± 16,4	-12,1 ± 14,8**	-12,2 ± 18,0**
	26 h	-6,1 ± 14,6	-7,9 ± 16,7	-9,4 ± 14,8	-8,8 ± 17,9

\*P <0,05, \*\*P <0,01, ANOVA de los cambios con respecto a la línea base frente a placebo.

**Tabla 7.** Acontecimientos adversos

	Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)		
		7,5 (n = 60)	15 (n = 53)	30 (n = 55)
<b>Sujetos con cualquier AA</b>	11 (20,8)	17 (28,3)	13 (24,5)	24 (43,6)
<b>Día 1-3</b>				
n(%)				
<b>Sujetos con cualquier AA relacionado con fármaco</b>	4 (7,5)	10 (16,7)	7 (13,2)	11 (20,0)
<b>Día 1-3</b>				
n(%)				
<b>Sujetos con disminución de presión arterial/hipotensión</b>	2 (3,8)	5 (8,3)	7 (13,2)	9 (16,4)
n(%)				
<b>Sujetos con disminución de presión arterial/hipotensión durante la infusión</b>	1 (1,9)	5 (8,3)	6 (11,3)	9 (16,4)
n (%)				
Sintomática	1 (1,9)	4 (6,7)	3 (5,7)	4 (7,3)

(continuación)

	Placebo (n = 53)	Ularitida (ng/kg/min)		
		7,5 (n = 60)	15 (n = 53)	30 (n = 55)
<b>Sujetos con disminución de presión arterial/hipotensión durante la infusión</b>	1 (1,9)	5 (8,3)	6 (11,3)	9 (16,4)
<b>n (%)</b>				
Asintomática	0 (0)	1 (1,7)	3 (5,7)	5 (9,1)
<b>Sujetos con infusiones interrumpidas debido a hipotensión n(%)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>3 (5,0)</b>	<b>4 (7,5)</b>	<b>8 (14,5)</b>
<b>Sujetos con cualquier AAG</b>	9 (17,0)	5 (8,3)	5 (9,4)	6 (10,9)
<b>Día 1-30</b>				
<b>n(%)</b>				
<b>Muertes Día 1-30</b>	7 (13,2)	2 (3,3)	2 (3,8)	1 (1,8)
<b>n (%)</b>				
Día 1-3	2 (3,8)	0 (0)	0(0)	1 (1,8)
Día 3-30	5 (9,4)	2 (3,3)	2 (3,8)	0 (0)

**REIVINDICACIONES**

1. Urodilatina para su uso en el tratamiento de insuficiencia cardiaca descompensada aguda, en la que la urodilatina es administrada de forma continua durante un periodo de tiempo de al menos 24 horas.
- 5 2. La urodilatina de la reivindicación 1, en la que la urodilatina está adaptada para ser administrada intravenosamente.
3. La urodilatina de la reivindicación 2, en la que la urodilatina está adaptada para ser administrada a una tasa de al menos 7,5 ng/(kg · min); o a una tasa de 7,5 ng/(kg · min); o a una tasa de 15 ng/(kg · min); o a una tasa de 30 ng/(kg · min); o a una tasa de 45 ng/(kg · min); o a una tasa de 60 ng/(kg · min); o a una tasa de 100 ng/(kg · min); o a una tasa de 200 ng/(kg · min).
- 10 4. La urodilatina de la reivindicación 2, en la que la urodilatina comprende además un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Figura 1

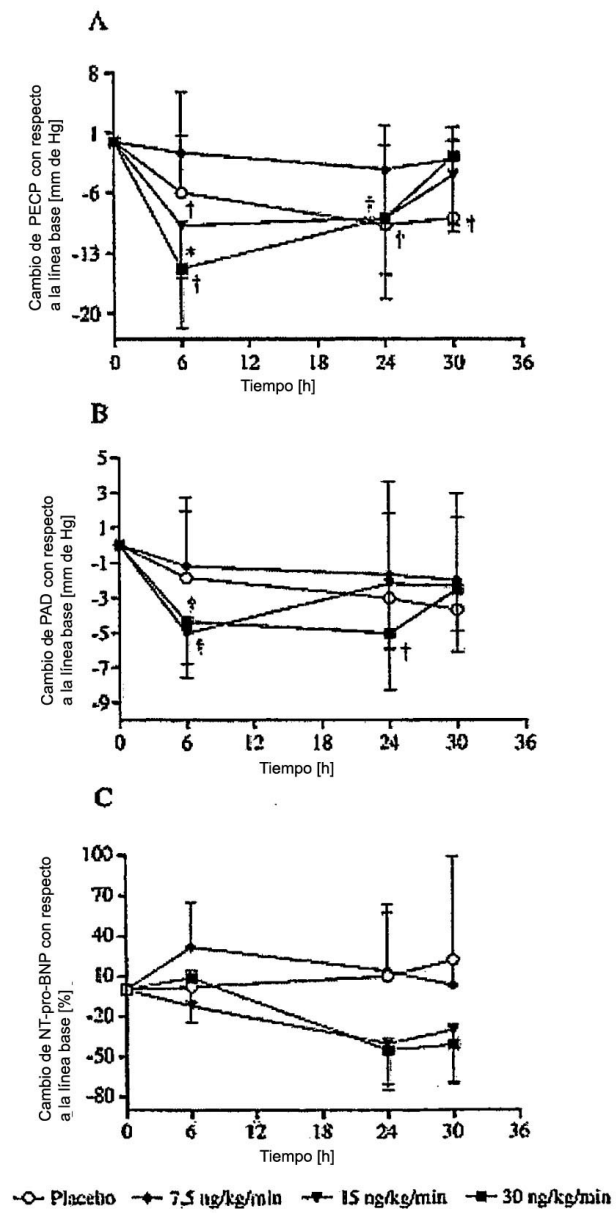
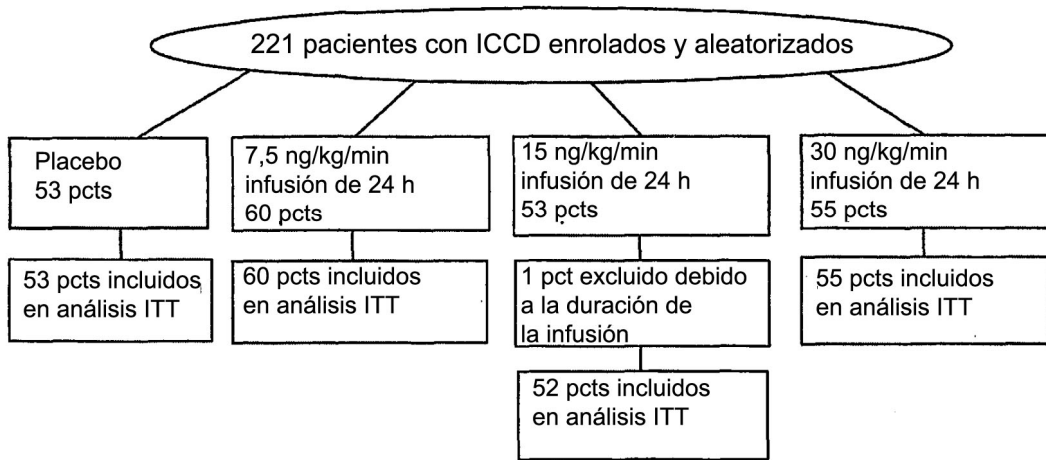


Figura 2



**Características demográficas y de línea base**

Datos demográficos	Todos los sujetos (n= 220)
Media de edad, años	61
Varón/mujer (%)	78/22
EF < 30 % (%)	72
EF < 40 % (%)	94
<b>Hemodinámica de línea base</b>	
PECP media, mm de Hg	25
PAP media, mm de Hg	37
PAD media, mm de Hg	11
RVS media, DINA/s/cm <sup>-5</sup>	1863
IC medio, l/min/m <sup>2</sup>	1,9
TA sistólica media, mm de Hg	125

**Función renal en la línea base**

Media ± DT	Placebo (n =53)	7,5 ng/kg/min (n=60)	15 ng/kg/min (n=52)	30 ng/kg/min (n = 55)
Creatinina en suero [mg/dl] (n)	1,25 ± 0,42 (52)	1,19 ± 0,37 (59)	1,23 ± 0,35 (51)	1,22 ± 0,37 (53)
BUN [mg/dl](n)	37,1 ± 29,1 (51)	40,8 ± 32,1 (58)	35,6 ± 21,9 (50)	45,6 ± 34,1(54)
Eliminación de creatinina [ml/min] (n)	78,3 ± 34,1 (52)	85,4 ± 36,6 (59)	78,2 ± 35,9 (51)	75,3 ± 30,3 (53)
GFR [ml/min] (n)	55,6 ± 23,6 (37)	60,3 ± 21,1 (41)	52,8 ± 18,3 (36)	53,6 ± 16,2 (37)

Figura 3

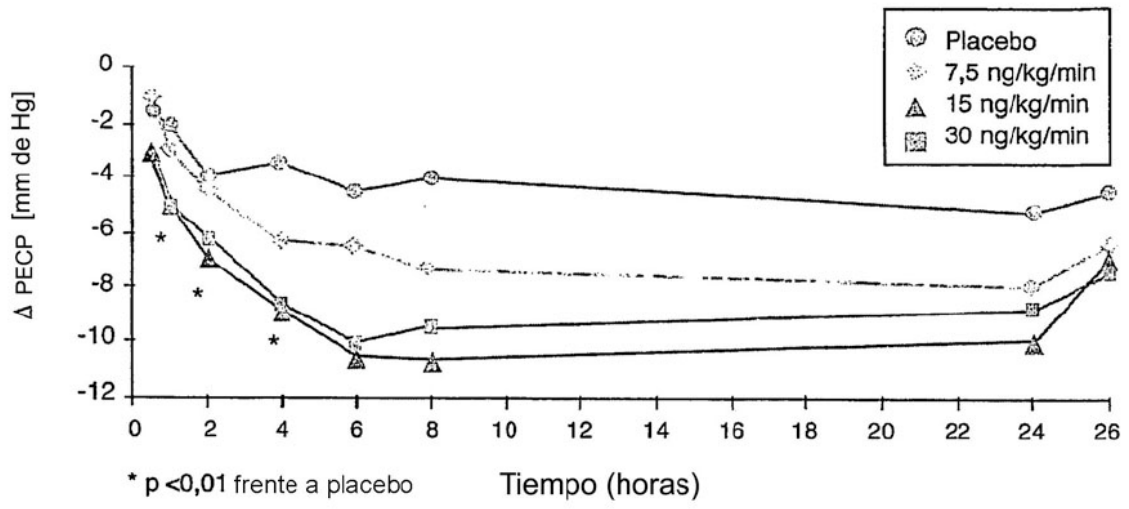
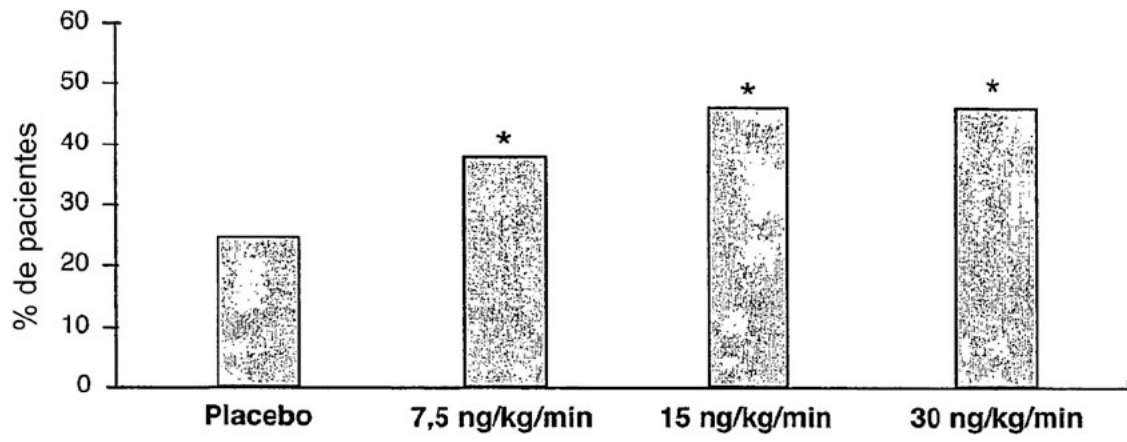


Figura 4



\* p < 0,05 frente a placebo

Figura 5

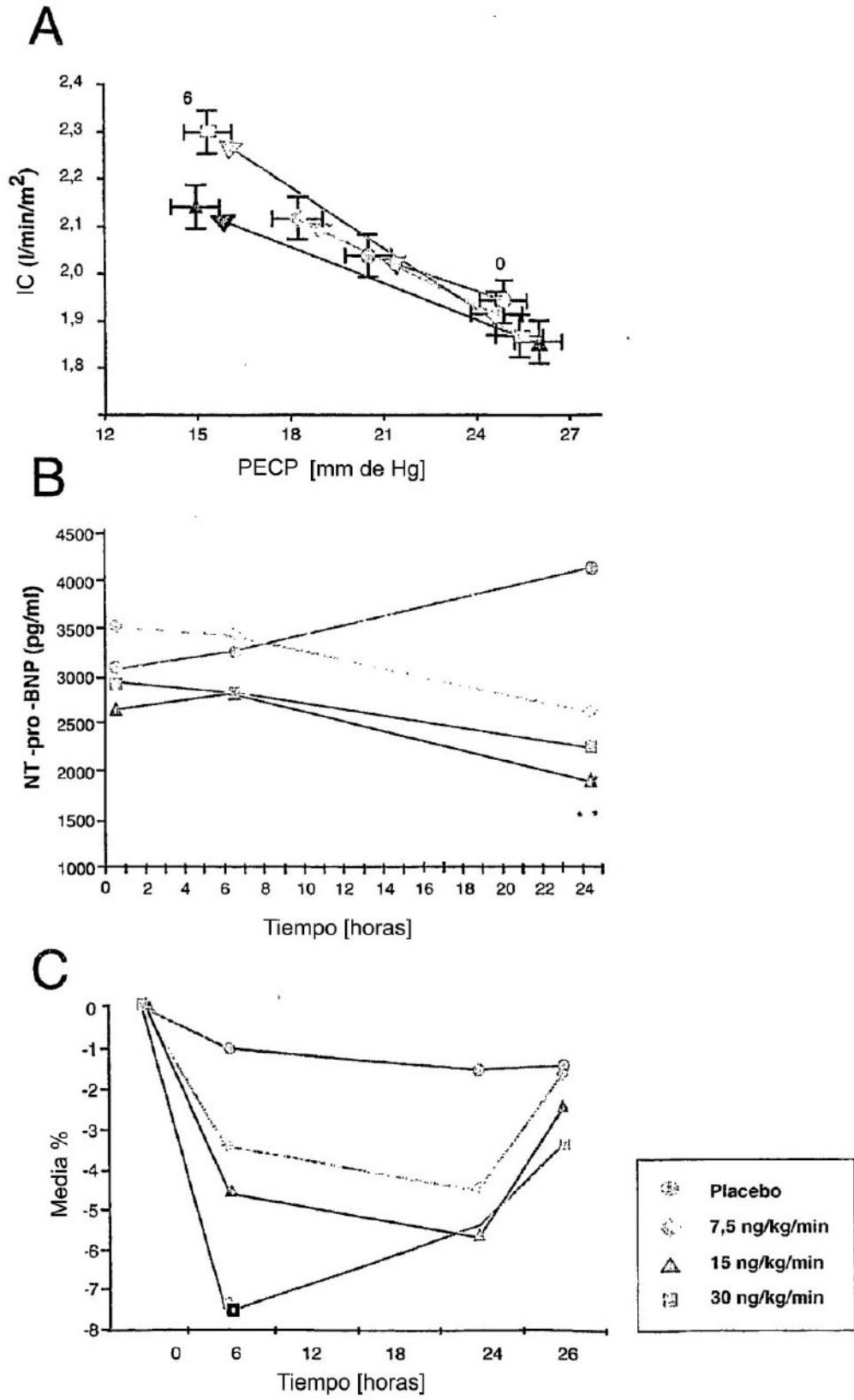




Figura 6

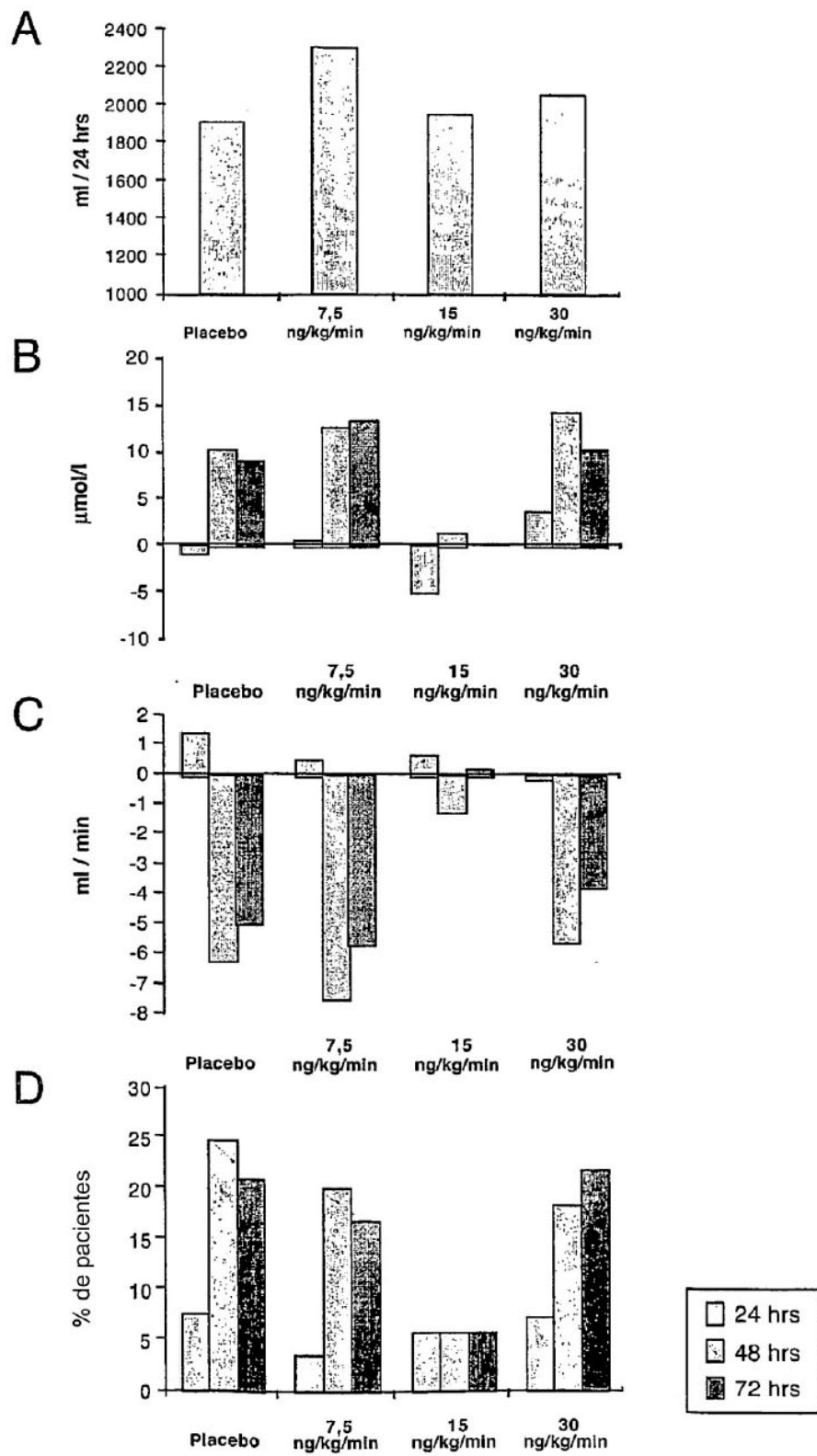


Figura 7

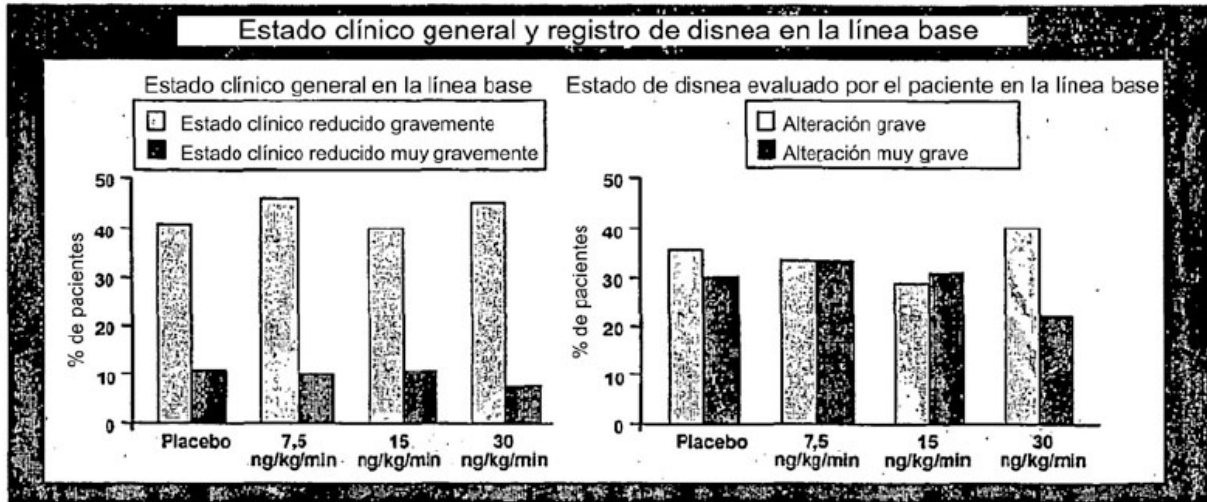


Figura 8

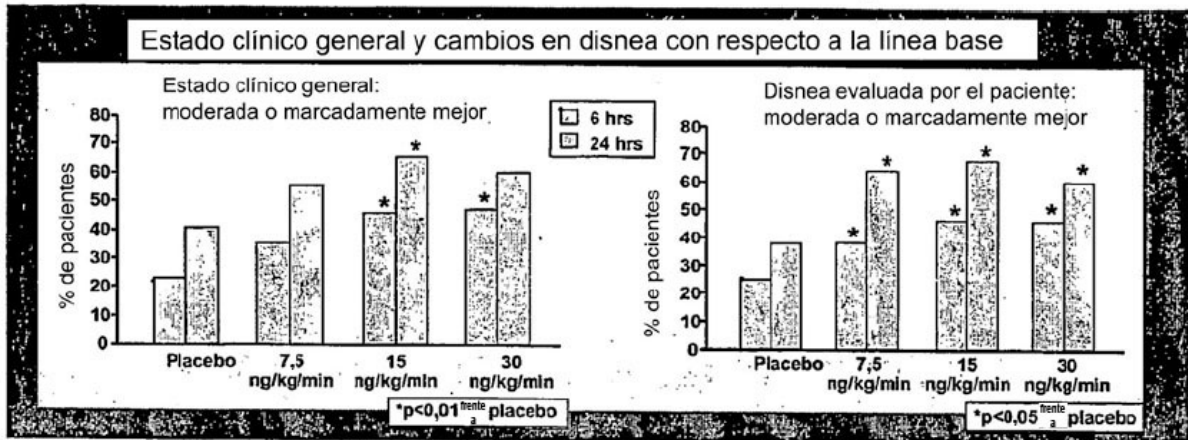


Figura 9

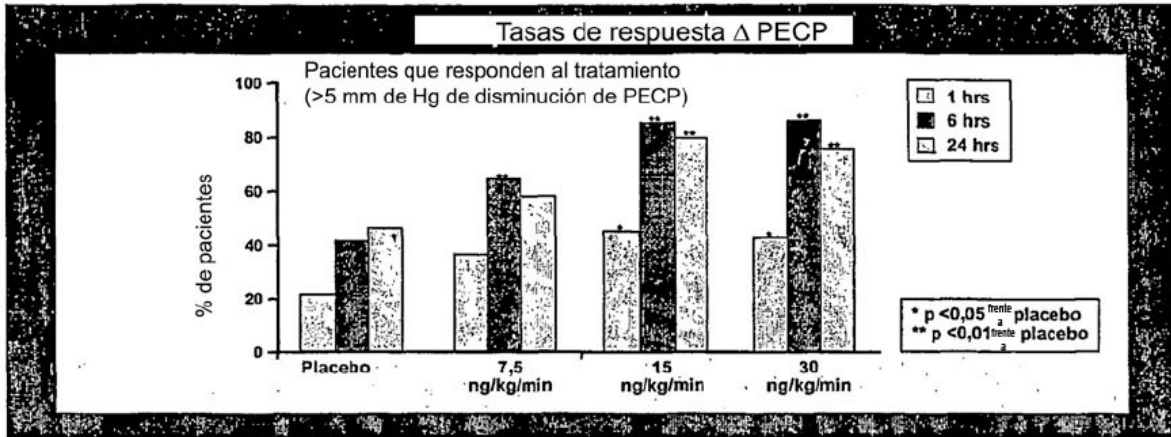


Figura 10

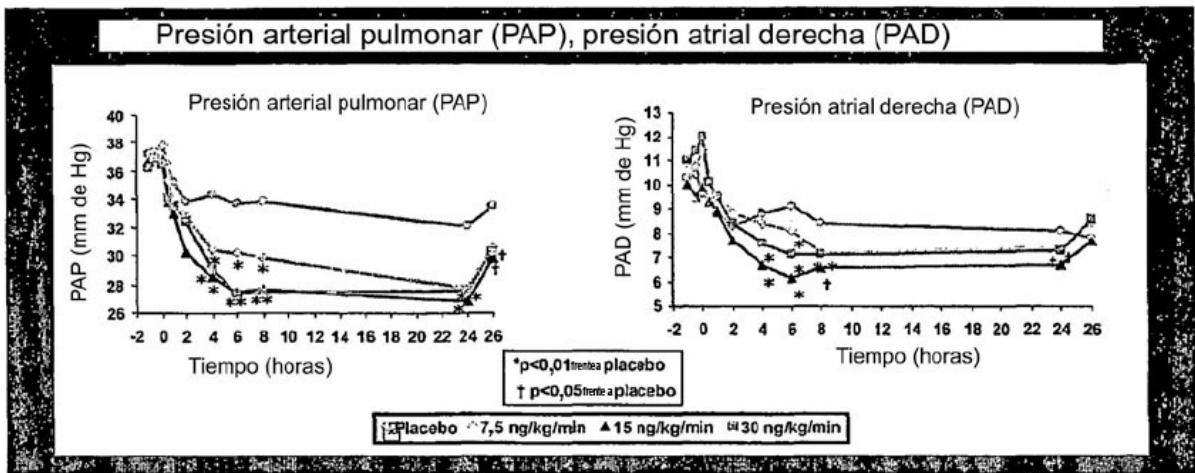


Figura 11

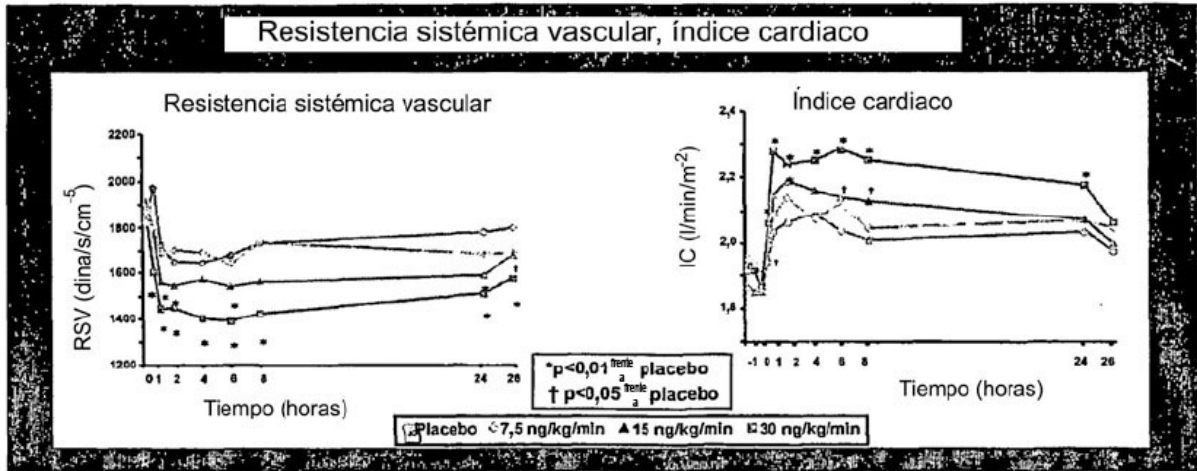


Figura 12

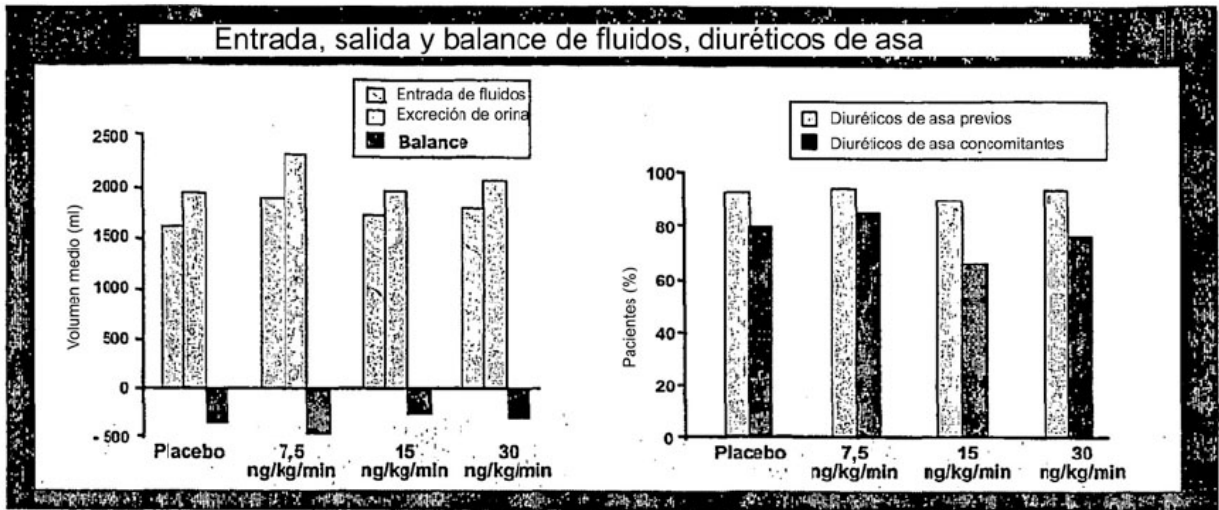


Figura 13

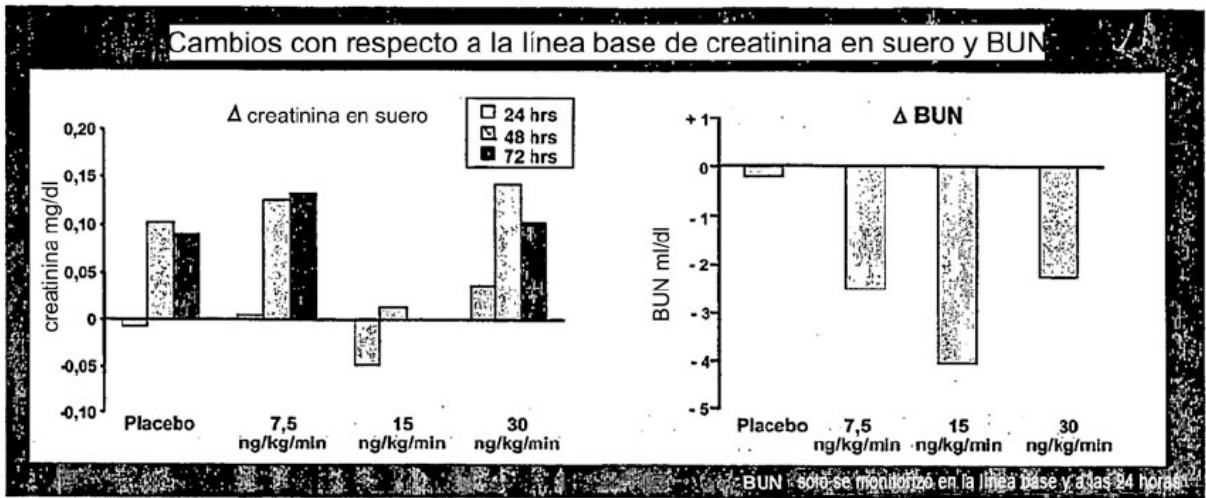




Figura 14

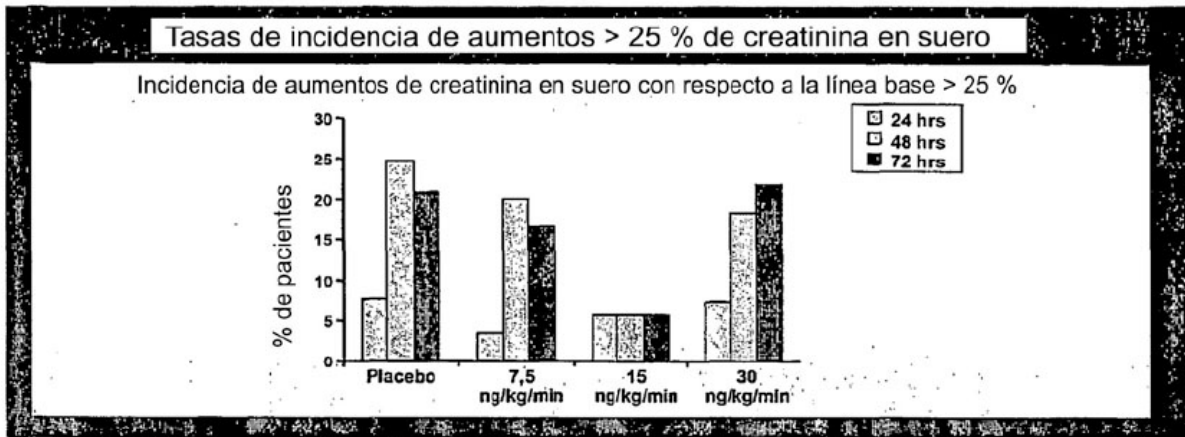


Figura 15

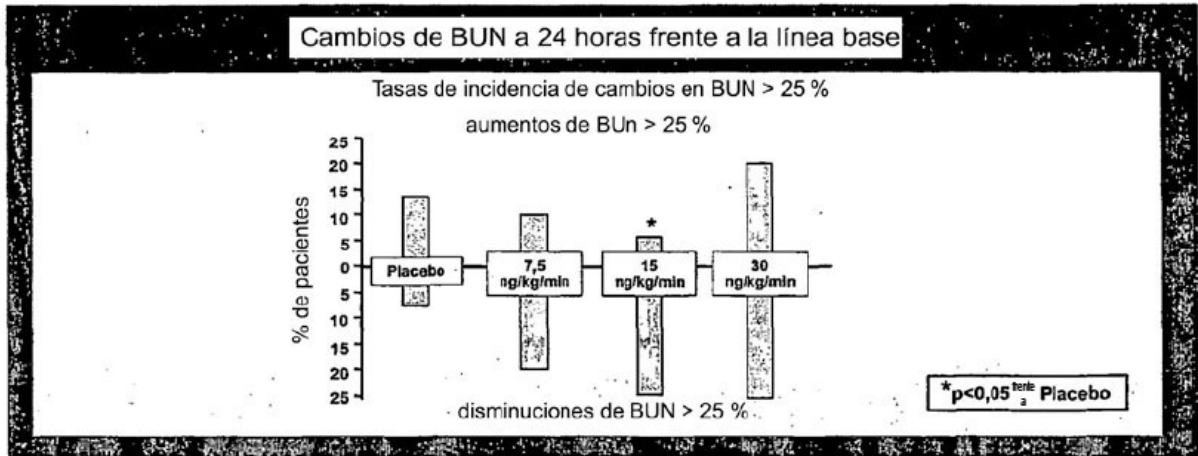


Figura 16

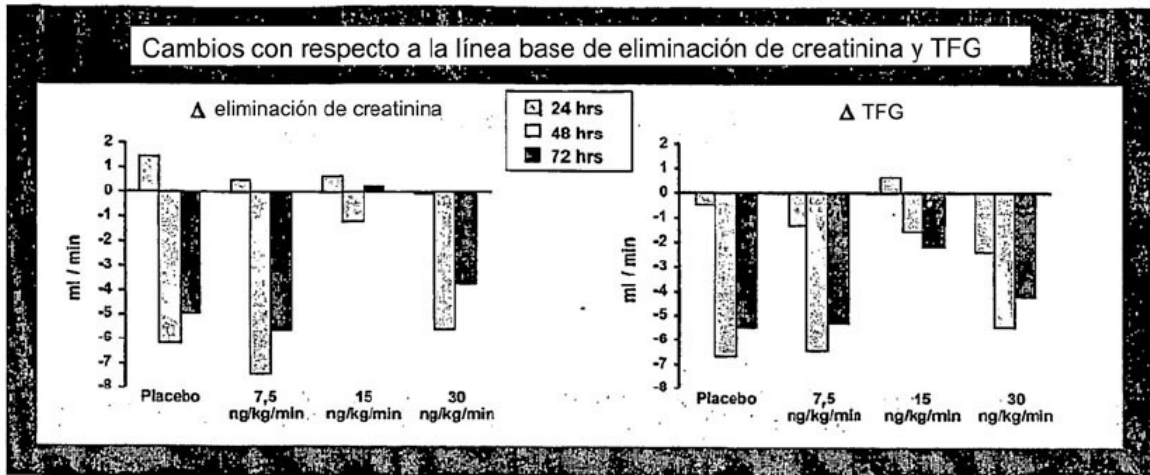


Figura 17

