

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 782**

51 Int. Cl.:

A61K 31/201 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2008** **E 08720639 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2015** **EP 2143430**

54 Título: **Fármaco para prevenir y/o tratar hígado graso o esteatosis hepática no alcohólica**

30 Prioridad:

30.03.2007 JP 2007090114

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

08.01.2016

73 Titular/es:

**KOWA COMPANY, LTD. (100.0%)
6-29, NISHIKI 3-CHOME NAKA-KU
NAGOYA-SHI, AICHI 460-8625, JP**

72 Inventor/es:

**YOSHIKAWA, YUJI;
YAMAMOTO, MEGUMI;
ISHIBASHI, NAOTO y
SEKI, MAMI**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 555 782 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

Fármaco para prevenir y/o tratar hígado graso o esteatosis hepática no alcohólica

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica. Más específicamente, la presente invención se refiere a un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica, que comprende ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico como principio activo, preferiblemente un medicamento que comprende ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico.

Antecedentes técnicos

En los últimos años, el consumo de grasas ha aumentado cada año en Japón con la occidentalización del estilo de vida incluyendo los hábitos alimenticios. Se sabe que las grasas tomadas excesivamente se acumulan gradualmente en los cuerpos, y se vuelven factores que inducen varias enfermedades. Los mecanismos de acumulación de grasas se clasifican aproximadamente en las siguientes dos clases. Según uno de los mecanismos, las grasas excesivas que existen en la sangre se depositan en las paredes de los vasos sanguíneos, lo que produce estenosis de los vasos sanguíneos para desarrollarse gradualmente en arterioesclerosis, y algún tiempo después desencadena el inicio de infarto de miocardio, angina de pecho, infarto cerebral, y similares. Según el otro mecanismo, las grasas excesivas similarmente se depositan en órganos viscerales. En particular, la denominada esteatosis hepática, en la que muchas grasas se depositan en el hígado, se ha observado recientemente con frecuencia, y algunas esteatosis hepáticas avanzan en algún futuro a esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis y hepatoma (Gastroenterology, 116, 1413-1419 (1999)). Las enfermedades mencionadas anteriormente se basan en los diferentes mecanismos de inicio, y según esto, se necesita un medicamento adecuado para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico para cada enfermedad.

Como agente terapéutico de esteatosis hepática, se ha usado clínicamente polienufosfatidilcolina. Además, también se han usado clínicamente agentes fibratos, de los cuales los ejemplos típicos incluyen clofibrato como un agente antihiperlipidémico, como agentes terapéuticos para esteatosis hepática. Se considera que los agentes fibratos mejoran el metabolismo lipídico actuando sobre enzimas para el sistema de β oxidación de ácidos grasos en el hígado (Ann. N.Y. Acad. Sci., 386, 111-135 (1982)). Sin embargo, en general se conocen reacciones secundarias tal como insuficiencia de la función hepática para los agentes fibratos (Atherosclerosis, 92, 31-40 (1992)), y por tanto se ha deseado un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica con menos efectos secundarios.

El ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico, que es uno de los compuesto de poliprenilo y que tiene una estructura química totalmente diferente de las de la polienufosfatidilcolina y los agentes fibratos mencionados anteriormente, es un retinoide acíclico que tiene afinidad para proteínas que se unen al ácido retinoico y receptores del ácido retinoico, y se conocen las acciones del mismo para inducir diferenciación e inducir apoptosis en carcinoma hepatocelular. Clínicamente, el ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico inhibió significativamente la recaída de hepatoma después del tratamiento radical del mismo por administración a largo plazo durante un año, y por tanto, se sugirió la acción supresora del mismo en la recaída de hepatoma. Además, la insuficiencia de la función hepática u otros efectos adversos, los causados por retinoides, no se observaron sustancialmente durante la administración del mismo, y por tanto se reveló que el compuesto era un medicamento seguro (N. Eng. J. Med., 334, 1561-1567 (1996)).

Sin embargo, no se sabía que los compuestos de poliprenilo tenían eficacia profiláctica y terapéutica sobre esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica.

Documento de no patente 1: Gastroenterology, 116, 1413-1419 (1999)

Documento de no patente 2: Ann. N.Y. Acad. Sci., 386, 111-135 (1982)

Documento de no patente 3: Atherosclerosis, 92, 31-40 (1992)

Documento de no patente 4: N. Eng. J. Med., 334, 1561-1567 (1996)

El documento JP2002104965 (KANEGAFUCHICHEMICAL) describe una composición usada para la profilaxis y mejora de hígado graso. La composición usada es un ácido grasos muy insaturado conjugado que tiene una estructura trieno conjugada en la molécula. El compuesto trieno divulgado en D1 es estructuralmente diferente de NIK33 que es un compuesto de poliprenilo.

El documento JP09194362 (BIZEN KASEI KABUSHIKI KAISHA) describe una composición que consiste en un fosfolípido que contiene ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico. Ambos compuestos son ácidos grasos omega 3 que se usan para suprimir la acumulación de grasa en el hígado.

65

El documento JP2006232711 (UNIV TOHOKU) se refiere a un agente útil en grasas y aceites comestibles para disminuir la grasa neutra en la sangre, y para inhibir la síntesis de grasa neutra en el hígado y la agregación de plaquetas, que comprende ácido 5,11,14-eicosatrienoico como principio activo. Este compuesto no tiene ningún doble enlace conjugado.

El documento JP04290821 (EFAMOL HOLDINGS PLC) describe un método para prevenir el efecto secundario de nutrición del colon por vía parenteral o vía de dieta líquida y proporciona un método para producir un agente medicinal para la prevención. El agente medicinal es un ácido grasos esencial 6-insaturado que previene la acumulación de grasa en el hígado. La referencia D4 no describe un compuesto que tenga un doble enlace conjugado.

El documento EP1277469 (NIKKEN CHEMICALS) menciona un activador para el receptor activado por el proliferador del peroxisoma usado para tratar y prevenir, por ejemplo, hiperlipidemia y diabetes mellitus no dependiente de insulina que comprende el compuesto de poliprenilo ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico (NIK-333).

Tanaka et al., explica el papel patogénico de la acumulación intrahepática de lípidos en el síndrome de resistencia a insulina y metabólico [...]. La esteatosis hepática constituye un factor de riesgo para esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Aunque la patofisiología de la esteatosis es multifactorial, una línea de evidencia a partir de estudios en roedores sugiere que PPARalfa y PPARgamma están implicados. PPARalfa se expresa mucho en hígado y su activación por agonistas produce oxidación aumentada de ácidos grasos y protege contra la esteatosis.

El documento EP1506778 (NIKKEN CHEMICALS) describe un agente para controlar la expresión del factor de crecimiento transformante alfa que contiene poliprenileno, útil para prevenir el cáncer de hígado, recaída del cáncer de hígado o metástasis, especialmente en hepatitis y cirrosis.

Factor et al., estudia la alteración de la homeostasis redox en el modelo de ratón transgénico factor de crecimiento transformante alfa/c-myc de hepatocarcinogénesis acelerada.

Takeda et al., se refiere al inhibidor de KLF5 Am80 que reduce el crecimiento del tejido adiposo y esteatosis hepática en ratones deficientes en leptina (ob/ob).

El documento EP1733723 (UNIV TOKYO/ NIKKEN) menciona una composición capaz de inhibir la activación del factor de transcripción KLF5 que contiene un compuesto poliprenilo no cíclico (ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico, particularmente ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico).

Muto et al., divulga la prevención de segundos tumores primarios por un retinoide acíclico, ácido poliprenoico, en pacientes con carcinoma hepatocelular.

El documento EP2027864 (NISSHIN OILLIO GROUP) se refiere a un agente para mejorar el metabolismo lipídico para tratar hipercolesterolemia, hiperlipidemia, hígado graso, diabetes, hipertensión y aterosclerosis, que comprende ácido linoleico cis9,trans11 conjugado y aceite de pescado como principio activo.

Langsam et al. (swinburne.edu.au) se refiere al ensayo SOLAGRAN HAILS AUSTRALIAN ROPREN TRIAL. Los estudios mostraron que Ropren restituyó sistemas enzimáticos dañados tanto en el hígado como en el cerebro de animales de laboratorio y ayudó a restablecer la neurotransmisión dañada.

Keischs et al. (cf. entrada prous No 679490, Literatura) divulga el tratamiento de cirrosis biliar primaria con Ropren.

La entrada prous No. 679490 -Bioeffectiv R/Ropren - Solagran [L] https://integrity.thomson-pharma.com/integrity/xmlsl/pk_prod_list.exec?form=pro_pr?p_par=PRO_DRUG_NAM_E&val=pro=Ropren&origen=PROD&oper=AND&par=tar=&val=tar=&oper=tar=AND&par=ref=&val=ref=&oper=ref=AND&par=pat=&val=pat=&oper=pat=AND explica que el producto está compuesto de una preparación aislada de agujas de pino verde (*Pinus sylvestris*) y píceas (*Picea abies*) que contiene principalmente dolicol. Está comercialmente disponible en Rusia para el tratamiento de enfermedad hepática.

Schuller et al. http://www.lifescientist.com.au/article/149043/russia_recommends_approval_solagran_liver_disease_drug manifiesta que Rusia recomienda la aprobación del fármaco para enfermedad hepática Solagran.

Divulgación de la invención

Objeto que se va a alcanzar por la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica.

5 Más específicamente, el objeto de la presente invención es proporcionar un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica con efectos secundarios reducidos.

Medios para alcanzar el objeto

10 Los inventores de la presente invención condujeron varias investigaciones para encontrar un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica. Como resultado, se encontró que los compuestos de poliprenilo redujeron la cantidad de lípidos en el hígado. La presente invención se logró en base al descubrimiento anterior.

15 La presente invención, por tanto, se refiere a lo siguiente.

[1] Un medicamento para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica, que comprende ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico.

20 [2] El medicamento para uso según [1], en donde el compuesto de poliprenilo es ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico.

[3] El medicamento para uso según cualquiera de [1] o [2], que está en forma de una composición farmacéutica que contiene un soporte farmacéutico farmacológicamente aceptable.

25 [4] El medicamento para uso según cualquiera de [1] a [3], que es una preparación para administración oral.

Breve descripción de las figuras

30 [Fig. 1] La figura 1 es un gráfico que muestra las cantidades de H-TG (mg/g de hígado) y las cantidades de H-T-col (mg/g de hígado) observadas para los grupos en el ejemplo 1. En el gráfico, el símbolo * significa una diferencia significativa ($P < 0,05$) comparado con el grupo control normal.

35 [Fig. 2] La figura 2 es un gráfico que muestra las puntuaciones de esteatosis hepática y las áreas positivas para O.R. (mm^2/mm^2) observadas para los grupos en el ejemplo 1. En el gráfico, el símbolo * significa una diferencia significativa ($P < 0,05$) comparado con el grupo control normal.

40 [Fig. 3] La figura 3 es un gráfico que muestra las concentraciones de S-TG (mg/dl) y las concentraciones de S-T-col (mg/dl) observadas para los grupos en el ejemplo 1. En el gráfico, el símbolo * significa una diferencia significativa ($P < 0,05$) comparado con el grupo control normal.

45 [Fig. 4] La figura 4 es un gráfico que muestra las concentraciones de S-ALT (U/l) y las concentraciones de S-AST (U/l) observadas para los grupos en el ejemplo 1. En el gráfico, los símbolos * y # significan una diferencia significativa ($P < 0,05$) comparado con el grupo control normal y el grupo control, respectivamente.

[Fig. 5] La figura 5 es un gráfico que muestra las concentraciones de S-TG (mg/dl) observadas para los grupos en el ejemplo 2. En el gráfico, el símbolo * significa una diferencia significativa ($P < 0,05$) comparado con el grupo control.

50 [Fig. 6] La figura 6 es un gráfico que muestra los pesos de los testículos (mg) observados para los grupos en el ejemplo 2. En el gráfico, el símbolo * significa una diferencia significativa ($P < 0,05$) comparado con el grupo control.

Mejor manera de llevar a cabo la invención

55 El compuesto de poliprenilo ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico usado para el medicamento de la presente invención significa un compuesto que tiene varias unidades de isopreno lineales en la estructura química descrita en la publicación de patente japonesa (Kokoku) No. 63-34855, y similar. El compuesto incluye ácidos poliprenilcarboxílicos que tienen un grupo carboxilo en el extremo, y un compuesto particularmente preferido incluye ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico (de aquí en adelante denominado NIK-333).

60 El compuesto de poliprenilo ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico usado en la presente invención se puede sintetizar por un método conocido (publicación de patente japonesa No. 63-32058; J. Chem. Soc. (C), 2154 (1966)).

65 Cuando el compuesto de poliprenilo ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico se usa para el medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica

de la presente invención, dicho compuesto se puede administrar por un método de administración apropiado tal como administración oral o administración parenteral. Los ejemplos de formas para la administración oral incluyen, por ejemplo, comprimidos, gránulos, cápsulas, cápsulas blandas, píldoras, polvos, soluciones, y similares. Los ejemplos de formas para la administración parenteral incluyen, por ejemplo, inyecciones, supositorios, y similares. Estas preparaciones se pueden preparar por un método convencional usando el compuesto de poliprenilo ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más tipos de soportes farmacéuticos normales.

Por ejemplo, en el caso de la preparación para la administración oral, las formas de administración deseadas se pueden preparar usando excipientes tal como lactosa, glucosa, almidón de maíz y sacarosa, agentes disgregantes tal como carboximetilcelulosa cálcica e hidroxipropilcelulosa, lubricantes tal como estearato de calcio, estearato de magnesio, talco, polietilenglicol y aceite hidrogenado, aglutinantes tal como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, alcohol polivinílico, gelatina y goma arábica, y agentes humectantes tal como glicerina y etilenglicol, así como tensioactivos, agentes saborizantes y similares según se requiera.

Además, en el caso de la preparación para la administración parenteral, se pueden usar diluyentes tal como agua, etanol, glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, aceite vegetal, agar y goma tragacanto así como ayudas de disolución, agentes de suspensión, emulsionantes, estabilizantes, tampones, agentes isotónicos, conservantes, agentes suavizantes y similares, según se requiera.

Cuando el compuesto se receta como el medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica de la presente invención, una dosis puede ser de 1 a 2.000 mg, preferiblemente 20 y 800 mg, en términos del compuesto usado para la presente invención, al día para un adulto en el caso de administración oral. En el caso de administración parenteral, el compuesto se administra a una dosis en el intervalo de 1 a 1.000 mg, preferiblemente en el intervalo de 10 a 100 mg. Los efectos terapéuticos deseados se pueden esperar administrando los compuestos de 1 a 3 veces al día como porciones divididas de las dosis anteriormente mencionadas.

Ejemplos

La presente invención se explicará más específicamente con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, el ámbito de la presente invención no está limitado a estos ejemplos.

Ejemplo 1: Evaluación de la acción de NIK-333 para disminuir la cantidad de lípidos hepáticos

Para el experimento se usaron ratas SD macho de 6 semanas de edad (Charles River Japón). Se usó HFD32 (Clea Japón) para el grupo de dieta con alta grasa y se usó CE-2 (Clea Japón) para el grupo control normal. La alimentación se restringió a 25 ± 3 g para ambos grupos. Los ingredientes del pienso se muestran en la tabla 1. La administración de NIK-333 se empezó al mismo tiempo que el inicio de la carga de la dieta de alta grasa, y el fármaco se dio una vez al día durante 8 semanas por administración oral continua forzada. Después de la terminación de la prueba, se extrajo cada hígado, y se midieron la cantidad de triglicéridos (H-TG) y la cantidad de colesterol (H-T-col) en el hígado. Los resultados se muestran en la figura 1. Se prepararon muestras teñidas con hematoxilina-eosina (H.E.) y Oil Red O (O.R.) del hígado extraído, y se realizó el examen histopatológico. El grado de degeneración grasa del hígado se clasificó en cinco categorías basándose en el examen de la muestra teñida con H.E., y se asignaron puntuaciones. Además, a partir de la muestra teñida con O.R., se calculó el área positiva para O.R. en el área de la muestra de hígado usando un analizador de imágenes. Los resultados se muestran en la figura 2. Además, se midieron los niveles en suero de triglicéridos (S-TG), colesterol total (S-T-col), alanina aminotransferasa (S-ALT), y aspartato aminotransferasa (S-AST). Los resultados se muestran en las figuras 3 y 4.

[Tabla 1]

Contenidos en 100 g de pienso

Ingredientes comunes	CE-2	HFD32
Humedad (g)	9,2	6,9
Proteína cruda (g)	25,8	25,0
Grasa cruda (g)	4,0	32,4
Fibra cruda (g)	3,8	2,9
Ceniza cruda (g)	6,9	4,0
Sustancia soluble no nitrogenada (g)	50,5	28,8
Energía (kcal)	340,4	506,8

Como se muestra en las figuras 1 y 2, NIK-333 disminuyó la cantidad de lípidos en el hígado, y por tanto, se reveló que el compuesto tiene eficacia en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica. También se puede entender que NIK-333 disminuye la cantidad de lípidos en el hígado sin afectar la concentración de lípidos en sangre como se muestra en la figura 3. En general, se señala que

5 los retinoides tienen un problema de inducción de hipertrigliceridemia como un efecto secundario en el uso clínico (N. Eng. J. Med., 313, 981-985 (1985)). Sin embargo, NIK-333 no muestra tal aumento en la concentración de lípidos en sangre. Se puede reconocer que NIK-333 tiene un efecto supresor sobre el aumento de transaminasas en sangre como se muestra en la figura 4, y tiene una acción de protección del hígado. A partir de lo anterior, se entiende claramente que NIK-333 tiene eficacia en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica.

Ejemplo 2: Evaluación de NIK-333 y ATRA para toxicidad

10 Se dio a ratones C57BL/6N de 7 semanas de edad (Charles River Japón) NIK-333 y ATRA una vez al día durante 2 semanas por administración oral continua a la fuerza. Después de la terminación de la prueba, se midieron las concentraciones de S-TG y los pesos de los testículos de ratones individuales. Los resultados se muestran en las figuras 5 y 6, respectivamente. Al grupo control se le administró aceite de soja.

15 Como se muestra en la figura 5, se puede entender que ATRA aumenta la concentración de S-TG, mientras que NIK-333 no afecta la concentración. También se puede reconocer que ATRA disminuye marcadamente el peso de los testículos, mientras que NIK-333 no afecta el peso como se muestra en la figura 6. Se observó que ATRA disminuía el peso de los testículos en ratones (Fundam. Appl. Toxicol., 8, 517-530 (1987)) y ratas (Toxicology, 30, 115-124 (1984)), mientras que la acción anteriormente mencionada no se observa para NIK-333. A partir de los resultados anteriores, se entiende claramente que la toxicidad de NIK-333 para S-TG y testículos es menor que la de ATRA.

20 A partir de los resultados anteriores, se puede concluir que el medicamento de la presente invención es útil como un medicamento novedoso para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica.

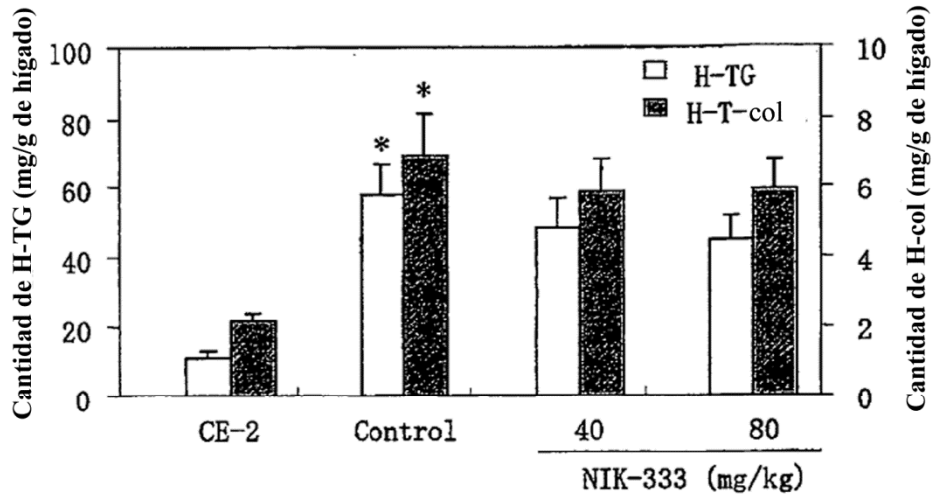
Aplicabilidad industrial

30 El medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica proporcionado por la presente invención tiene una acción de disminuir la cantidad de lípidos en el hígado y mejorar las funciones hepáticas. El medicamento tiene menor efecto sobre la concentración de triglicéridos (S-TG) en suero sanguíneo y el peso de los testículos comparado con ácido retinoico todo trans (en lo sucesivo abreviado como ATRA) como un retinoide cíclico, y por tanto un medicamento con efectos secundarios reducidos.

REIVINDICACIONES

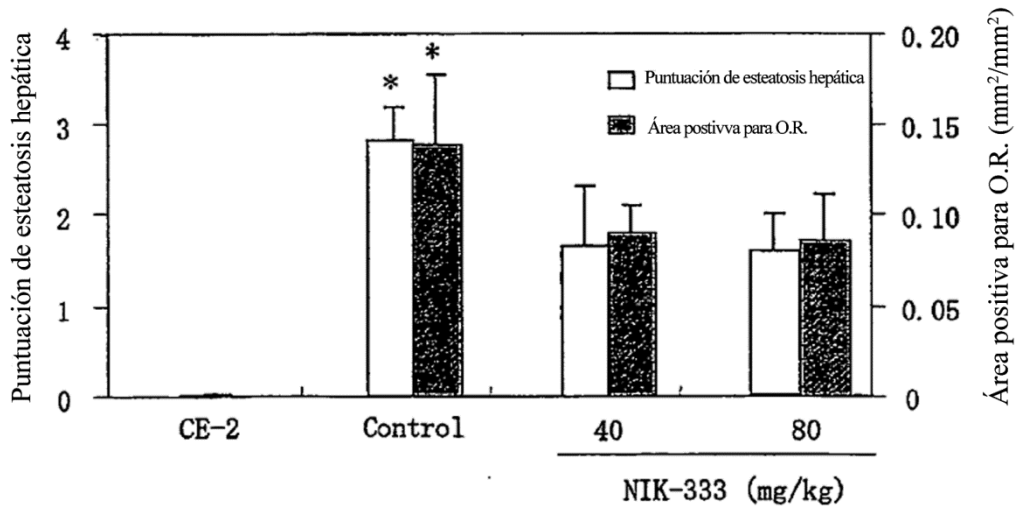
1. Un medicamento para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de esteatosis hepática o esteatohepatitis no alcohólica, que comprende ácido 3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico.
- 5 2. El medicamento para uso según la reivindicación 1, en donde el compuesto de poliprenilo es ácido (2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-tetrametil-2,4,6,10,14-hexadecapentaenoico.
- 10 3. El medicamento para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que está en la forma de una composición farmacéutica que contiene un soporte farmacéutico farmacológicamente aceptable.
4. El medicamento para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que es una preparación para administración oral.

Fig. 1



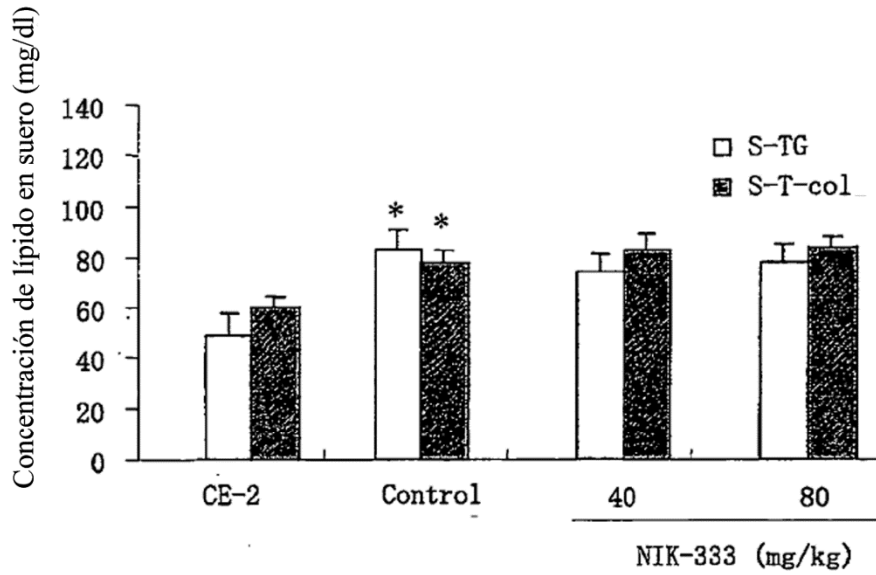
*P<0,05 frente a grupo control normal
 MEDIA ± E.E. (n=8)

Fig. 2



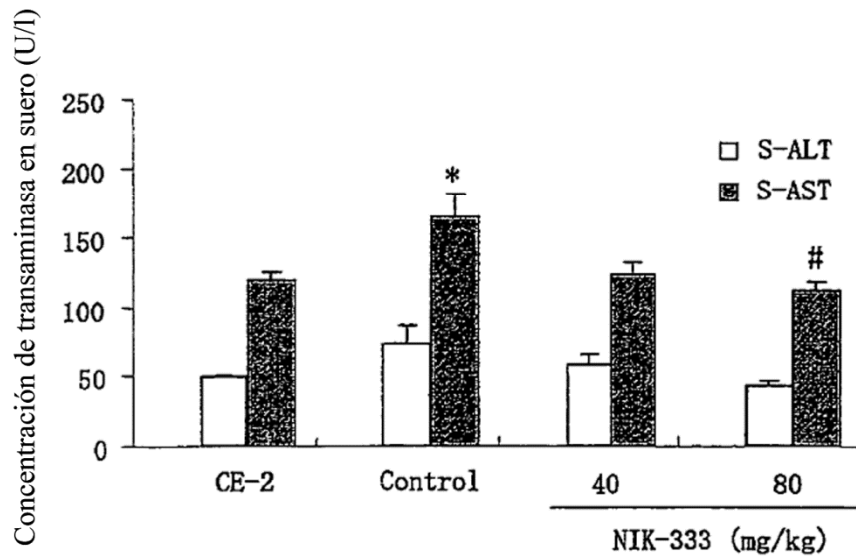
*P<0,05 frente a grupo control normal
 MEDIA ± E.E. (n=8)

Fig. 3



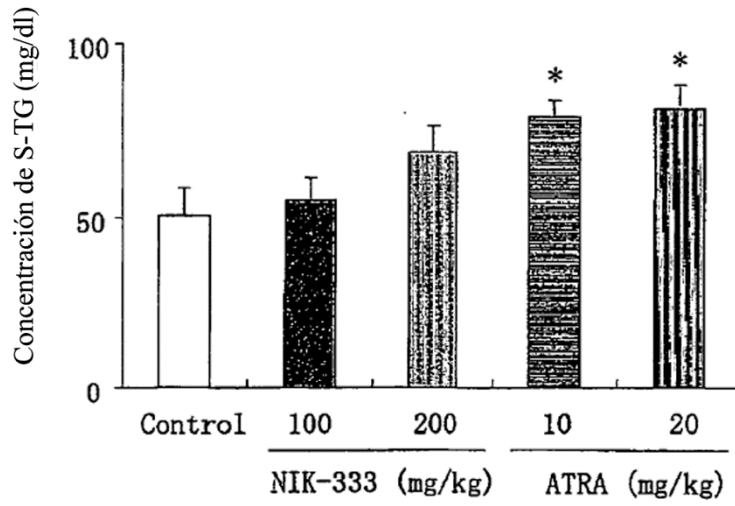
*P<0,05 frente al grupo control normal
 MEDIA±E.E. (n=8)

Fig. 4



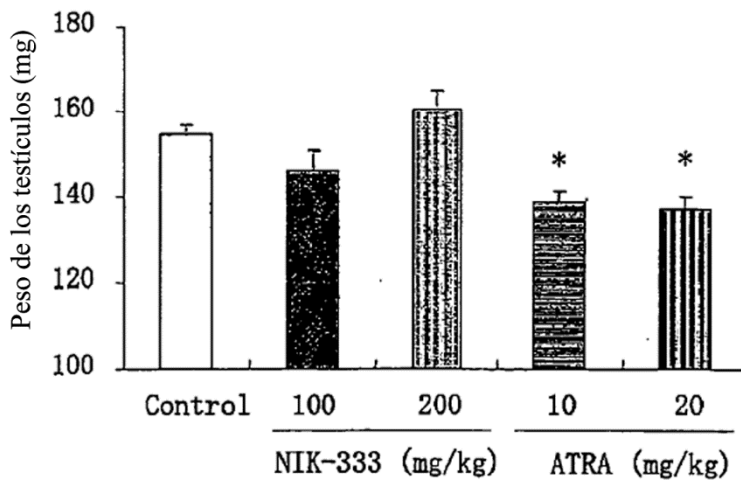
*P<0,05 frente al grupo control normal
 #P<0,05 frente al grupo control
 MEDIA±E.E. (n=8)

Fig. 5



*P<0, 05 frente al grupo control
 MEDIA±E.E. (n=4-5)

Fig. 6



*P<0, 05 vs. frente al grupo control
 MEDIA±E.E. (n=5)