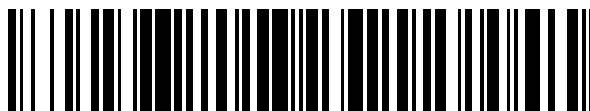


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 456**

51 Int. Cl.:

A61K 39/44 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2009** **E 09753599 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015** **EP 2288384**

54 Título: **Tratamiento de la tromboangeítis obliterante mediante la eliminación de autoanticuerpos**

30 Prioridad:

18.04.2008 EP 08075309

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

19.02.2016

73 Titular/es:

BAUMANN, GERT (100.0%)
Schumannstrasse 20
10117 Berlin, DE

72 Inventor/es:

BAUMANN, GERT

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 560 456 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

Tratamiento de la tromboangeítis obliterante mediante la eliminación de autoanticuerpos

- 5 La invención se refiere al uso de un ligando específico para anticuerpos, preferentemente autoanticuerpos, en la fabricación de una columna para el tratamiento de la tromboangeítis obliterante.

Los organismos multicelulares, especialmente los mamíferos, y más particularmente los seres humanos, tienen que hacer frente a su entorno a través de diversos mecanismos reguladores bioquímicos y/o inmunitarios. Por ejemplo, un mecanismo regulador bioquímico importante es el que es responsable de mantener en el organismo una temperatura interna específica constante. Otro mecanismo regulador importante proporciona sustancias celulares y humorales, tales como anticuerpos, que permiten que el organismo haga frente con éxito a microorganismos, parásitos, y también a tumores y otras enfermedades. Sobre todo, la función de los anticuerpos se basa en la capacidad de distinguir entre lo "extraño" y lo "propio". Esto es, el propio organismo produce anticuerpos que se diseñan de tal modo que las estructuras endógenas tales como tejidos y órganos no sean atacadas, pero que se unen a bacterias, parásitos u otros componentes exógenos, iniciando o sustentando así reacciones inmunitarias.

20 Durante el desarrollo bioquímico de una respuesta de anticuerpos en el organismo, se producen hipermutaciones somáticas de los linfocitos B productores de anticuerpos durante la respuesta inmunitaria dependiente de linfocitos T. Tales mutaciones implican de forma selectiva a los genes de inmunoglobulinas, siendo esenciales para la formación de células precursoras de células formadoras de anticuerpos con alta afinidad. En este contexto debe señalarse que, tal mutación, es un proceso normal y esencialmente no patológico. Sin embargo, las mutaciones también pueden dar lugar a la formación de autoanticuerpos altamente afines, haciendo así daño al organismo.

25 Los autoanticuerpos están estrechamente asociados con el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias o son responsables de forma casual de tales enfermedades. Las enfermedades autoinmunitarias mediadas por anticuerpos también incluyen enfermedades tales como reumatismo o lupus eritematoso. Numerosas enfermedades autoinmunitarias, que son altamente inconvenientes para las personas afectadas, se relacionan con importantes ciclos bioquímicos en el organismo.

30 Se conoce en el estado de la técnica (documento WO 97/17980; Richter *et al.* 1997 (documento XP-002492543)) el uso del tratamiento de inmunoaféresis para la cardiomiopatía e ITP. La cardiomiopatía es una enfermedad del corazón que no está relacionada con la tromboangeítis obliterante, por lo tanto no se ha sugerido en absoluto el uso del mismo o similar tratamiento en ambas enfermedades.

35 La tromboangeítis obliterante (también conocida como enfermedad de Buerger) es una inflamación aguda y trombosis (coagulación) de arterias y venas de las manos y los pies. Está fuertemente asociada con el uso de productos del tabaco, principalmente por el tabaquismo, pero también por el tabaco sin humo. Hay una inflamación recurrente aguda y crónica, y trombosis de arterias y venas en las manos y los pies. El síntoma principal es dolor en las áreas afectadas. Son complicaciones comunes las ulceraciones y la gangrena en las extremidades, dando como resultado a menudo la necesidad de amputar la extremidad involucrada.

45 La causa exacta de la tromboangeítis obliterante/enfermedad de Buerger es desconocida en el estado de la técnica. Se observa con más frecuencia en hombres jóvenes y maduros (edades entre 20-40 años) que son fumadores empedernidos de cigarrillos. Los casos de esta enfermedad en no fumadores son muy raros, por lo tanto, fumar cigarrillos se considera un factor causante. Aproximadamente el 40 % de los pacientes tienen un historial de inflamación de una vena (flebitis), lo que puede jugar un papel en el desarrollo de la enfermedad de Buerger. La enfermedad se ve principalmente en las piernas de las personas afectadas, aunque también puede aparecer en los brazos. Los síntomas tempranos incluyen disminución en el riego sanguíneo (isquemia arterial) y flebitis superficial (cerca de la superficie de la piel). El síntoma principal es dolor en las áreas afectadas. La aparición de la enfermedad es gradual y primero se produce en los pies o las manos. La inflamación se produce en arterias y venas de tamaño pequeño y mediano, cerca de la superficie de la extremidad. En casos avanzados, pueden estar afectados vasos sanguíneos en otras partes del cuerpo. Hay una disminución progresiva del flujo sanguíneo a las áreas afectadas. El pulso en las arterias de los pies es débil o no detectable. La pérdida de flujo sanguíneo puede conducir a gangrena, que es el deterioro de tejido debido al riego restringido de sangre. Se puede desarrollar una sensibilidad al frío en las manos, semejante a la vista en la enfermedad de Raynaud. En este caso, las manos cambian de color - blanco, azul y después rojo - cuando se exponen al frío.

60 Sin embargo, de forma desventajosa, no hay una medicación eficaz conocida o cirugía para la tromboangeítis obliterante. Los síntomas se tratan como si no hubiese tratamiento para la enfermedad. El único tratamiento actualmente disponible es la amputación de las áreas afectadas.

65 Por lo tanto, el objeto de la invención fue proporcionar medios que permitan la terapia sencilla, fiable y eficaz de la tromboangeítis obliterante.

La invención resuelve el anterior problema técnico mediante el uso de un dispositivo que comprende un ligando

específico, para anticuerpos, preferentemente anticuerpos IgG. Sin embargo, fue completamente sorprendente que puedan aplicarse ligandos para autoanticuerpos en la terapia de la tromboangeítis obliterante.

Fue muy sorprendente que la tromboangeítis obliterante se pueda tratar mediante la eliminación de anticuerpos IgG. No se esperaba que la eliminación de las IgG de todos los anticuerpos tuviese estos resultados preeminentes. No se conocía en el estado de la técnica, que la tromboangeítis obliterante pudiera tratarse como una enfermedad autoinmunitaria. Las enfermedades autoinmunitarias se producen de forma más frecuente en mujeres, mientras que la tromboangeítis obliterante afecta en su mayor parte a hombres. Además, la asociación de la tromboangeítis obliterante con el consumo de tabaco no sugiere un trasfondo autoinmunitario. El hallazgo de que la tromboangeítis obliterante puede tratarse con aféresis inmunitaria es consecuencia de una elección fortuita, dado que el resultado fue imprevisible. Especialmente sorprendente fue el hecho de que los anticuerpos que reconocen los anticuerpos IgG dirigidos contra tejido arterial y/o venoso pueden utilizarse para tratar la tromboangeítis obliterante. Hasta ahora, la aféresis inmunitaria no se utilizaba para neutralizar, eliminar o bloquear anticuerpos contra tejido arterial y/o venoso.

Por lo tanto, en una realización preferente, la invención se refiere al uso de un ligando específico para inmunoglobulina humana, en la fabricación de una columna que tiene dicho ligando acoplado a ella para el tratamiento de un paciente que padece tromboangeítis obliterante, comprendiendo dicho tratamiento pasar plasma del paciente a través de la columna, en condiciones que efectúan la unión de dicho ligando específico a la inmunoglobulina en el plasma del paciente, eliminando de este modo una porción significativa de la inmunoglobulina del plasma del paciente, y de reinfundir el plasma al paciente. En el contexto de la invención, la expresión "porción significativa" se dirige a una cantidad de autoanticuerpos cuya eliminación del plasma conduce a una mejora en el estado del paciente, o a la no aparición de un empeoramiento adicional. Esta mejora en el estado del paciente se refiere al menos a uno de los aspectos de la tromboangeítis obliterante, conocido para un experto en la materia.

Fue muy sorprendente que las columnas conocidas en el estado de la técnica se pueden usar para resolver el problema subyacente. Hasta ahora, se desconocía que estas columnas se puedan usar para tratar la tromboangeítis obliterante.

En una realización preferente adicional de la invención, el ligando específico es una sefarsa unida a anticuerpo en una columna que une anticuerpos específicos. Estos aspectos de la invención se basan en la conclusión hecha por los inventores, que los autoanticuerpos provocan la tromboangeítis obliterante, especialmente mediante autoanticuerpos agonistas que conducen a una potente vasoconstricción. Fue sorprendente que unir el ligando a la sefarsa conduzca a resultados superiores.

La invención también abarca el uso de un ligando específico en la fabricación de una columna para la eliminación extracorpórea de autoanticuerpos dirigido contra estructuras de la tromboangeítis obliterante - es decir arterias o venas de las manos, brazos, pies y piernas - mediante la eliminación de inmunoglobulinas de cualquiera o de todas las clases y subclases, para el tratamiento de la tromboangeítis obliterante. Tal eliminación se puede llevar a cabo mediante el uso de cualquiera de los ligandos específicos para inmunoglobulina humana, acoplados a una columna cromatográfica de inmunoafinidad. Tales ligandos incluyen anticuerpos antiinmunoglobulina humana policlonales y monoclonales, fragmentos de tales anticuerpos (FAB₁, FAB₂), anticuerpos o proteínas recombinantes, péptidos sintetizados, Proteína A y Proteína G.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención es, también, la eliminación esencialmente no específica de inmunoglobulinas de plasma tomado de un paciente que padece de tromboangeítis obliterante, y la reinfusión de dicho plasma al paciente. El plasma reinfundido puede también contener las inmunoglobulinas que inducen un efecto positivo en el contexto del sistema inmunitario del paciente.

La invención también abarca el uso de ligandos más específicos en la fabricación de una columna para la eliminación extracorpórea de autoanticuerpos específicos IgG, IgM, IgA, IgE, IgD, IgY y/o IgW. Esto significa que la eliminación de todos los anticuerpos o la eliminación de todos o parte de los autoanticuerpos o la eliminación de todos o parte de los autoanticuerpos específicos IgG, IgM, IgA, IgE, IgD, IgY y/o IgW, es parte de la invención.

En otra realización preferente, los anticuerpos anti-IgG comprenden un conector y/o un espaciador seleccionados del grupo que comprende ácidos α -aminocarboxílicos, así como homo y heterooligómeros de los mismos, ácidos α,ω -aminocarboxílicos y homo o heterooligómeros ramificados de los mismos, otros aminoácidos alifáticos y/o aromáticos, así como homo o heterooligómeros (péptidos) lineales y ramificados; amino-oligoalcoxilaminas; derivados del ácido maleinimidocarboxílico; oligómeros de alquilaminas; derivados de 4-alkilfenilo; derivados de 4-oligoalcoxilfenilo o 4-oligoalcoxilfenoxi; derivados de 4-oligoalquilmercaptofenilo o 4-oligoalquilmercaptofenoxi; derivados de 4-oligoalquilaminofenilo o 4-oligoalquilaminofenoxi; derivados de (oligoalquilbencil)fenilo o 4-(oligoalquilbencil)fenoxi, así como derivados de 4-(oligoalcoxilbencil)fenilo o 4-(oligoalcoxilbencil)fenoxi; derivados de tritilo; derivados de benciloxiarilo o benciloxialquilo; derivados de xanten-3-iloxialquilo; derivados del ácido (4-alkilfenil)- o ω -(4-alkilfenil)alcanóico; derivados de oligoalquilfenoxialquilo u oligoalcoxilfenoxialquilo; derivados del carbamato; aminas; derivados de dialquilalcoxisililo o dialquilalcoxisililo; derivados de mono u oligomercapto alifático o aromático; derivados de alquilo o arilo y/o combinaciones de los mismos. De forma adicional, el grupo SH de la

cisteína reacciona con el doble enlace del grupo maleinimida para formar un enlace covalente a una molécula conectora. Esta unión se podría acoplar a otra molécula o a una fase sólida.

En una realización preferente de la invención, los anticuerpos dirigidos contra el anticuerpo IgG se enlazan, forman complejo y/o se neutralizan por medio de los materiales y productos, aparatos, y particularmente el aparato de cromatografía del invento, mencionados anteriormente. Por ejemplo, la columna de la invención se puede utilizar en la detección de autoanticuerpos en sueros de pacientes, utilizando una ELISA u otros métodos de detección inmunitarios, bien conocidos para los expertos en la materia. Para la detección puede ser ventajoso, por ejemplo, cuando los autoanticuerpos se enlazan mediante péptidos biotinilados, o acoplados de otra manera, y se separan mediante soportes acoplados a estreptavidina, tales como partículas o placas magnéticas. Se ha descrito tal método en el documento DE 102 56 897.9. De forma más específica, los autoanticuerpos separados se detectan utilizando anticuerpos marcados del subtipo específico IgG.

La invención también se refiere al uso de un ligando específico para inmunoglobulinas humanas en la fabricación de una columna acoplada a dicho ligando para el tratamiento de un paciente que padece de tromboangeítis obliterante, comprendiendo dicho tratamiento pasar plasma del paciente, a través de la columna en condiciones que efectúen la unión de dicho ligando específico a la inmunoglobulina en el plasma del paciente, eliminando, por lo tanto, una porción significativa de la inmunoglobulina del plasma del paciente, y reinfundiendo el plasma al paciente.

En una realización preferente de la invención, el tratamiento con el sistema Ig-TheraSorb efectúa la eliminación de una alta proporción de anticuerpos de todas las clases y subclases de IgG, y por lo tanto de anticuerpos dirigidos contra arterias y venas, preferentemente de las manos y de los pies. Este tratamiento también elimina anticuerpos de cualquier otra especificidad contra tejido arterial o venoso. Se postula que la eliminación de estos autoanticuerpos es la base para la eficacia del tratamiento Ig-TheraSorb de pacientes con tromboangeítis obliterante. Es también preferente el uso de columnas ProSorb.

El programa de tratamiento prevé una serie inicial de inmunoféresis Ig-TheraSorb dentro de un periodo de cinco días consecutivos. La serie inicial de inmunoféresis Ig-TheraSorb puede seguirse por inmunoféresis adicional, si es aconsejable como se determine mediante el control de autoanticuerpos y/o síntomas clínicos. De forma sorprendente, el método de la invención es tan eficaz que los pacientes ya no necesitan opiáceos u otros calmantes. El efecto del método subsiste durante más de un año, lo que es un gran logro en comparación con los métodos de tratamiento conocidos en el estado de la técnica.

La invención abarca la eliminación extracorpórea de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras de arterias o venas, mediante la eliminación de inmunoglobulinas de cualquiera o de todas las clases y subclases, para el tratamiento de la tromboangeítis obliterante. Tal eliminación se puede llevar a cabo mediante el uso de cualquiera de los ligandos específicos para inmunoglobulina humana, acoplado a la columna Therasorb.

La invención también abarca la eliminación extracorpórea más específica de autoanticuerpos contra estructuras de arterias o venas, utilizando construcciones que mimetizan las dianas antigénicas de los autoanticuerpos, que están acopladas a la columna Therasorb. Tales moléculas que mimetizan antígeno incluyen anticuerpos antiidiotípicos (policlonales o monoclonales), fragmentos de tales anticuerpos o péptidos sintetizados, como partes de estructuras de receptor u otras sustancias químicas.

De forma adicional, la invención se refiere también al tratamiento de un paciente que padece tromboangeítis obliterante, comprendiendo dicho tratamiento las etapas de:

(a) proporcionar una columna acoplada a un ligando específico para inmunoglobulina humana,

(b) pasar plasma que se ha tomado de un paciente, a través de la columna en condiciones que efectúen la unión de dicho ligando específico a inmunoglobulina en el plasma del paciente, eliminando de esta forma una porción significativa de la inmunoglobulina del plasma del paciente, y

(c) reinfundir dicho plasma al paciente.

En una realización preferente, el tratamiento de un paciente se caracteriza por que el ligando específico se selecciona del grupo que consiste de anticuerpos policlonales anti inmunoglobulina humana, anticuerpos monoclonales anti inmunoglobulina humana, un fragmento de tales anticuerpos, moléculas recombinantes del idioma del anticuerpo, péptidos sintetizados, Proteína A y Proteína G.

En otra realización preferente del tratamiento de un paciente, el ligando específico reconoce anticuerpos dirigidos contra tejido venoso y arterial. Preferentemente, el ligando específico es una molécula que mimetiza antígeno seleccionada del grupo que consiste de anticuerpos policlonales y monoclonales antiidiotípicos, fragmentos de tales anticuerpos, y péptidos sintetizados.

Es preferente que el ligando específico elimine anticuerpos de cualquier otra especificidad contra tejido arterial o

venoso. De forma sorprendente, la eliminación de estos autoanticuerpos es la base para la eficacia del tratamiento de pacientes con tromboangeítis obliterante.

Preferentemente, el ligando específico es un péptido sintetizado que mimetiza una secuencia de un anticuerpo.

5 En el contexto de la invención es un tratamiento de un paciente que padece tromboangeítis obliterante, una realización preferente del uso del ligando específico para inmunoglobulina humana en la fabricación de una columna para el tratamiento de un paciente.

10 Los contenidos de la presente invención se caracterizan por las siguientes características:

- apartarse de lo convencional
- una nueva percepción del problema
- satisfacción de una necesidad o privación que se tuvo durante mucho tiempo
- 15 - hasta ahora todos los esfuerzos de los expertos fueron en vano
- la simplicidad de la solución, lo que demuestra la acción de la invención, especialmente porque que reemplaza una doctrina más compleja
- el desarrollo de tecnología científica siguió otra dirección
- el logro anticipa el desarrollo
- 20 - conceptos erróneos entre los expertos acerca de la solución del problema acordado (prejuicio)
- progreso técnico, tal como: mejora, desempeño aumentado, reducción de precios, ahorro de tiempo, material, etapas de trabajo, costes o recursos que son difíciles de obtener, fiabilidad mejorada, subsanación de defectos, calidad mejorada, sin mantenimiento, eficacia aumentada, mejor rendimiento, aumento de las posibilidades técnicas, suministro de otro producto, apertura a una segunda vía, apertura a un nuevo campo, primera solución
- 25 para una tarea, producto de repuesto, alternativas, posibilidad de racionalización, automatización o miniaturización o enriquecimiento del fondo farmacéutico
- elección especial; dado que una cierta posibilidad, el resultado de la cual era imprevisible, se eligió entre un gran número de posibilidades, es una elección fortuita patentable
- error en las citaciones
- 30 - un campo nuevo de la tecnología
- invención combinada; una combinación de varios elementos conocidos, con un efecto sorprendente
- certificación
- elogio de los expertos y
- éxito comercial

35 Dichas ventajas se muestran de forma especial en las realizaciones preferenciales de la invención.

Es conocido, de forma obvia par un experto en la materia, que es posible proporcionar medios funcionalmente análogos para el anticuerpo anti IgG de la invención. En el significado de la invención, "medios funcionalmente análogos" son medios que son funcionalmente equivalentes o equivalentes a los péptidos y ácidos nucleicos de la invención. Para comprobar si un medio análogo es funcionalmente equivalente (= equivalente) al anticuerpo anti IgG de la invención, se debe comprobar si el medio funcionalmente análogo/equivalente produce esencialmente la misma función en esencialmente el mismo modo, con esencialmente el mismo resultado. Es decir, el resultado producido con los medios de la invención también se puede producir con el medio funcionalmente análogo/equivalente. Por lo tanto, un experto en la materia puede, de forma fácil y rápida, verificar si un medio funcionalmente análogo/equivalente que él proporciona está incluido en la invención. El medio funcionalmente análogo está incluido en la invención si puede utilizarse para resolver el problema de la invención y si la resolución del problema de la invención se puede realizar en esencialmente el mismo modo como se reivindica en la invención. Mientras que la invención se ha descrito en términos de realizaciones preferentes, el experto apreciará que las diversas modificaciones, sustituciones, omisiones y cambios se pueden hacer sin apartarse del espíritu de la misma. Por lo tanto, como será obvio para los expertos en la materia a la que la invención se dirige, la presente invención se puede contener en formas distintas a las divulgadas de forma específica, sin apartarse de las características esenciales de la invención. Por lo tanto, las realizaciones particulares de la presente invención, como se describe, son para considerarse en todos los aspectos como ilustrativas y no restrictivas. El alcance de la presente invención es como se indica en las reivindicaciones adjuntas, en lugar de limitarse a los ejemplos contenidos en la descripción precedente.

Fue especialmente sorprendente que el método de la invención también puede usarse para tratar, prevenir o mejorar los síntomas asociados con el alto consumo de tabaco.

60 Sin pretender ser limitante, la invención se explicará con más detalle con referencia a los ejemplos.

Ejemplos

65 **Ejemplo 1:** Estudio piloto

Para el fin de esta solicitud de patente, la tromboangeítis obliterante sirve como un cuadro sintomático, con un

modelo natural para un gran número de enfermedades que hasta ahora o bien se han tenido en consideración durante mucho tiempo, o no se han considerado aún como un cuadro sintomático con un trasfondo autoinmunitario. Las estrategias de terapia que conducen a la mejora, o incluso a la curación, de este cuadro sintomático, deberían también resultar beneficiosas para la terapia de, precisamente, estas otras enfermedades.

5 Dentro de este contexto, se realizó un estudio piloto que incluía 10 pacientes con tromboangeítis obliterante (TAO) que ya habían experimentado amputaciones dentro del curso de su enfermedad (por ejemplo, amputación de dedos del pie, parte delantera del pie, parte inferior de las piernas, o dedos de las manos), o para quienes se había establecido la indicación de tal amputación debido a dolor grave, isquemia, o necrosis. En el momento de la
10 inmunoadsorción (IA) se administró a todos los pacientes opiáceos (morfina), en combinación con dosis máximas de antirreumáticos no esteroideos (ARNE) para fines analgésicos. La movilidad estaba severamente limitada en la mayoría de los pacientes - por ejemplo, solo algunos metros de marcha - y algunos estaban completamente confinados a una silla de ruedas.

15 El programa de tratamiento prevé una serie inicial de tratamientos de inmunoadsorción dentro de un periodo de cinco días consecutivos. La serie inicial de tratamientos de inmunoadsorción puede seguirse de tratamientos de inmunoadsorción adicionales, si es aconsejable según determine el control de autoanticuerpos y/o los síntomas clínicos. Para la eliminación de inmunoglobulinas de la sangre de pacientes humanos que padecían tromboangeítis obliterante, se utilizaron columnas acopladas a inmunoglobulinas anti ser humano.

20 Brevemente, primero se llena con NaCl estéril al 0,9 % el sistema de tuberías del sistema de separación principal. Se conectaron dos columnas de Ig anti ser humano (Ig-Therasorb, Baxter, Immunotherapy Division, Europa) con el sistema de separación principal. Todas las conexiones de las tuberías se hicieron en condiciones asépticas.

25 Antes del primer uso se aclaró cada columna con 5 litros de solución estéril de NaCl al 0,9 %, a un caudal de 90-100 ml/min, para eliminar la solución conservante de las columnas. Para cada uso posterior, fue suficiente con aclarar cada columna con 2 litros de solución estéril, al mismo caudal.

30 Antes de iniciar el procedimiento, se probó en el sistema completo la ausencia de burbujas de aire y de fugas, las correctas conexiones de las soluciones, incluyendo los anticoagulantes, la correcta instalación de la programación del dispositivo, la funcionalidad de los amortiguadores automáticos y la seguridad del sistema en el sistema completo.

35 Se conectaron las cánulas apropiadas a las venas cubitales izquierda y derecha del paciente. Se tomaron muestras de sangre. Se colocó en su lugar la conexión al separador de células sanguíneas.

La anticoagulación se llevó a cabo con heparina o citrato (ACD-A o ACD-B). Cuando el citrato fue el anticoagulante, durante la primera mitad del procedimiento el citrato se utilizó a una dilución de 1:22 a 1:18. En la segunda fase de la
40 terapia, la dilución utilizada fue de 1:12 a 1:8. Se controlaron los síntomas de hipocalcemia (parestesia en dedos de las manos o labios), y la administración de citrato se redujo de forma consecuente. En los casos de hipocalcemia franca podrían proporcionarse comprimidos de calcio.

Después de la punción venosa y de la conexión del sistema de tuberías al paciente, se llenó el separador de células sanguíneas con la sangre del paciente. El caudal de sangre se mantuvo entre 50 - 90 ml/min. Cuando se utilizó una
45 columna con un volumen de 100 ml, el nivel del líquido se mantuvo en la columna a aproximadamente 0,8 cm sobre la Sefarosa. Después de la estabilización del proceso de separación, el plasma sin células se dirigió a través del sistema de tuberías a través de la primera columna. Fue importante mantener el caudal constante y controlar el nivel de plasma sobre la Sefarosa en la columna. Un nivel de plasma más alto era no deseable, debido a que habría conducido a una carga de volumen más alto para el paciente, y a la pérdida de plasma debido a la retención de
50 plasma en la columna.

Utilizando un flujo de plasma de hasta 40 ml/min, la columna se cargó con tanto plasma como fue posible durante 15 minutos. Después, el flujo de plasma se cambió a la segunda columna, que fue llenada del mismo modo con tanto plasma como fue posible en 15 minutos.

55 Durante el tiempo de llenado de la segunda columna, se hizo salir el plasma de la primera columna utilizando NaCl estéril al 0,9 %, al caudal del plasma. Se restituyó un volumen de columna de plasma al paciente, junto con las células sanguíneas que se habían eliminado.

60 También, durante el llenado de la segunda columna, la primera columna se regeneró como sigue: (1) Un aclarado adicional con 50 ml de NaCl al 0,9 % a un caudal de 100 ml/min; (2) Desorción de la inmunoglobulina unida con un volumen de columna de tampón glicina/ClH 0,2 M estéril, pH 2,8. El controlador del dispositivo evitó el contacto entre esta solución y el paciente. La inmunoglobulina desorbida se desechó. (3) Neutralización con un volumen de columna de PBS estéril, pH 7,4. Prueba de la neutralización utilizando papel indicador de pH. (4) Aclarado del PBS
65 con al menos un volumen de columna de NaCl estéril al 0,9 %. Después, la columna estuvo lista para la próxima ronda de adsorción.

Después, el relleno de las columnas se cambió otra vez de forma automática. Este procedimiento se repitió tantas veces como fuese necesario para procesar el volumen deseado de plasma. El médico responsable eligió el número de ciclos utilizado, de acuerdo con el estado y las necesidades del paciente. Hasta ahora, dentro de la experiencia clínica de los inventores, durante un procedimiento de columna ha sido posible procesar hasta 3,5 veces el volumen extracorpóreo de un paciente dado. Además, la capacidad de unión de las columnas no limitó el número de ciclos utilizados, sino más bien las necesidades del paciente individual.

Resultados: los resultados preliminares mostraron que la concentración de IgG en la sangre de los sujetos se redujo en al menos el 70 % hasta más del 99 %, en comparación con las concentraciones iniciales. Los niveles de IgA e IgM se redujeron en del 70 % al 90 %.

No hubo morbilidad o mortalidad asociadas con el uso de procedimiento de columna. Normalmente, la pérdida de plasma fue baja, y no se necesitó reemplazo de plasma.

En resumen, la inmunoadsorción puede ser un principio terapéutico alternativo para la tromboangeítis obliterante en presencia de anticuerpos humanos circulantes. La inmunoadsorción puede eliminar una porción significativa de inmunoglobulinas del plasma de un paciente. En el presente documento, la expresión "porción significativa" se refiere a al menos el 20 % de inmunoglobulina del paciente. En ciertos casos, es conveniente eliminar hasta el 80 % y en ciertos casos, más del 80 %, preferentemente el 90 % de la inmunoglobulina del paciente.

Resultados

(1) Todos los pacientes se liberaron de molestias durante el curso del tratamiento de cinco días, con resultados medidos en una escala de dolor de cero a diez (0 = sin dolor; 10 = dolor intolerable, máximo). Ya durante el propio procedimiento - y en algunos casos incluso tan pronto como después de las primeras 24 horas - se consiguió un alivio completo del dolor (Fig. 1). Se registró un valor inicial de aproximadamente 8 bajo terapia analgésica completa; los valores a partir de entonces, sin medicación alguna.

(2) Fue posible reducir o eliminar de forma completa la medicación analgésica en todos los pacientes, en la forma de morfina o de ARNE, en algunos casos ya después de las primeras 24 o 48 horas de terapia. Un paciente fue una excepción. Después de la terapia de inmunoadsorción, no tenía síntomas o dolor en absoluto. Sin embargo, como resultado de la adicción a opiáceos restante, todavía necesitaba una dosis baja de morfina (Fig. 3 y 4).

(3) Se potenció la distancia que los pacientes eran capaces de andar - capacidad involucrando principalmente a las piernas - no solo inmediatamente después de la inmunoadsorción, sino también en los meses siguientes. La distancia de marcha aumentó de forma dramática: desde solamente algunos metros antes de la IA, hasta distancias de más de 1.500 m (Fig. 2).

(4) La presión parcial de oxígeno (pO_2) en el tejido de las extremidades implicadas aumentó de forma dramática después de la terapia de inmunoadsorción, en la mayoría de los casos ya después del segundo día de tratamiento. Después de la conclusión de la inmunoadsorción, y durante los meses siguientes, los valores de presión parcial de oxígeno alcanzaron niveles normales. (Fig. 5 y 6).

(5) La presión parcial de dióxido de carbono (pCO_2) en los tejidos demostró un comportamiento análogo, y cayó desde altos valores patológicos a niveles normales (Fig. 7 y 8).

(6) Para los dos pacientes con formas de tromboangeítis obliterante que se manifestaba principalmente en los brazos, el resultado fue un desarrollo comparable a los cambios de nivel de tpO_2 y pCO_2 resumidos anteriormente (no mostrado en las figuras).

(7) El efecto terapéutico de tal tratamiento fue de naturaleza prolongada y persistió (con una excepción) durante al menos 6 meses. Durante las revisiones de seguimiento llevadas a cabo hasta ahora, los efectos terapéuticos positivos han persistido durante 12 meses (Figs. 1 a 10).

(8) Las Fig. 9 y 10 resumen los resultados con respecto a la pO_2 y la pCO_2 para los 10 pacientes en la extremidad más aquejada, es decir, en la extremidad que experimentaba el dolor más grave, y/o demostraba la necrosis más crítica, y/o necesitaba amputación.

(9) Para 3 de los 10 pacientes tratados, la necrosis se curó de forma completa dentro de las 8 semanas después de la terapia de inmunoadsorción, a pesar de que las lesiones necróticas habían ya existido durante varios años, y a pesar de que no se habían curado bajo ningún esfuerzo terapéutico (Fig. 11a, b, c, d).

(10) El síndrome de Reynould, presente en forma pronunciada entre todos los pacientes, mejoró de forma decisiva entre los 10 pacientes, como se divulga de forma objetiva con la ayuda de fotopletiografía. Incluso en provocación por frío, después de la inmunoadsorción los perfiles pulsátiles se hicieron aparentes en las falanges

terminales de los dedos de los pies y de los dedos de las manos. No hubo signos de circulación pulsátil antes de la inmunoadsorción.

5 (11) Los pacientes experimentaron, de forma subjetiva, todas las alteraciones descritas anteriormente, como calentamiento de las respectivas extremidades, como alivio del dolor que se extendía hasta la ausencia completa de síntomas, así como la potenciación adicional de las molestias experimentadas de forma subjetiva que no eran específicas de la tromboangiitis obliterante: por ejemplo, mejora de la disfunción eréctil entre 8 de los 10 pacientes de sexo masculino.

10 (12) La mayoría de los pacientes que habían estado desempleados o habían sido incapaces de trabajar debido a su enfermedad, regresaron a sus profesiones o a otros trabajos remunerados.

15 (13) Es esencial enfatizar que la terapia de inmunoadsorción se puede repetir en cualquier momento con las columnas regenerables TheraSorb®. Si se mantienen a 4 °C, pueden usarse otra vez en cualquier momento para la terapia de inmunoadsorción durante un periodo de 5 años. Sin embargo, esto no ha sido necesario: ni para 10 pacientes después de 6 meses, ni para 4 pacientes después de 12 meses. Por lo tanto, la inmunoadsorción representa una forma de terapia rentable, puesto que el factor de coste principal para este procedimiento terapéutico es la adquisición de las columnas de inmunoadsorción.

20 Leyendas de las figuras

Fig. 1	Escala de dolor
Fig. 2	Distancia andada
Fig. 3	Consumo de ARNE
Fig. 4	Consumo de opiáceo
Fig. 5	pO ₂ para el pie derecho
Fig. 6	pO ₂ para el pie izquierdo
Fig. 7	pCO ₂ para el pie derecho
Fig. 8	pCO ₂ para el pie izquierdo
Fig. 9:	pO ₂ de la extremidad más aquejada
Fig. 10	pCO ₂ de la extremidad más aquejada
Fig. 11 A-D	Ejemplo de curación de la necrosis del paciente 8
	11A y B: antes de la IA
	11C y D: 6 semanas después de la IA

REIVINDICACIONES

1. Uso de un ligando específico para inmunoglobulina humana en la fabricación de una columna que tiene dicho ligando acoplado en ella, para el tratamiento de un paciente que padece tromboangeítis obliterante, comprendiendo dicho tratamiento pasar plasma del paciente a través de la columna en condiciones que efectúen la unión de dicho ligando específico a inmunoglobulina en el plasma del paciente, eliminando de este modo una porción significativa de la inmunoglobulina del plasma del paciente, y la reinfusión del plasma al paciente.
2. Uso de un ligando específico según la reivindicación 1, donde dicho ligando específico se selecciona del grupo que consiste de anticuerpos policlonales anti inmunoglobulina humana, anticuerpos monoclonales anti inmunoglobulina humana, un fragmento de tales anticuerpos, moléculas recombinantes del idiotipo del anticuerpo, péptidos sintetizados, Proteína A y Proteína G.
3. Uso de un ligando específico según la reivindicación 1, donde dicho ligando específico reconoce autoanticuerpos dirigidos contra tejido arterial o venoso.
4. Uso de un ligando específico según la reivindicación 3, donde dicho ligando específico es una molécula que mimetiza antígeno seleccionada del grupo que consiste de anticuerpos antiidiotípicos policlonales y monoclonales, fragmentos de tales anticuerpos y péptidos sintetizados.
5. Un método para eliminar una porción significativa de la inmunoglobulina del plasma que se ha tomado de un paciente que padece tromboangeítis obliterante, comprendiendo el método:
 - (a) proporcionar una columna que tiene acoplado en ella un ligando específico para inmunoglobulina humana, columna que es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y
 - (b) pasar el plasma a través de la columna en condiciones que efectúen la unión de dicho ligando específico a inmunoglobulina en el plasma.
6. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como un medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante, **caracterizado por que** el ligando está acoplado a una columna de aféresis, a través de la que se pasa el plasma del paciente en condiciones que promueven la unión del ligando específico a inmunoglobulina en el plasma, seguido de reinfusión del plasma del paciente en el paciente.
7. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como un medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado por que** se elimina al menos el 80 por ciento de la inmunoglobulina del paciente.
8. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, mediante el cual el ligando se selecciona del grupo que consiste de anticuerpos policlonales anti inmunoglobulina humana, anticuerpos monoclonales anti inmunoglobulina humana, un fragmento de tales anticuerpos, moléculas recombinantes del idiotipo del anticuerpo, péptidos sintetizados, Proteína A y Proteína G.
9. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, **caracterizado por que** se somete al paciente a una pluralidad de procedimientos de inmunoaféresis.
10. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como un medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, mediante el cual se realizan en el paciente al menos tres procedimientos de inmunoaféresis, dentro de un periodo de una o dos semanas.
11. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como un medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, mediante el cual se lleva a cabo el procedimiento de inmunoaféresis al menos una vez al día durante cinco días consecutivos.
12. Ligando que une específicamente inmunoglobulina humana para su uso como medicamento en el tratamiento de la tromboangeítis obliterante, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, **caracterizado por que** la inmunoglobulina son autoanticuerpos IgG, IgM, IgA, IgE, IgD, IgY y/o IgW.

Figura 1: escala de dolor (1-10)

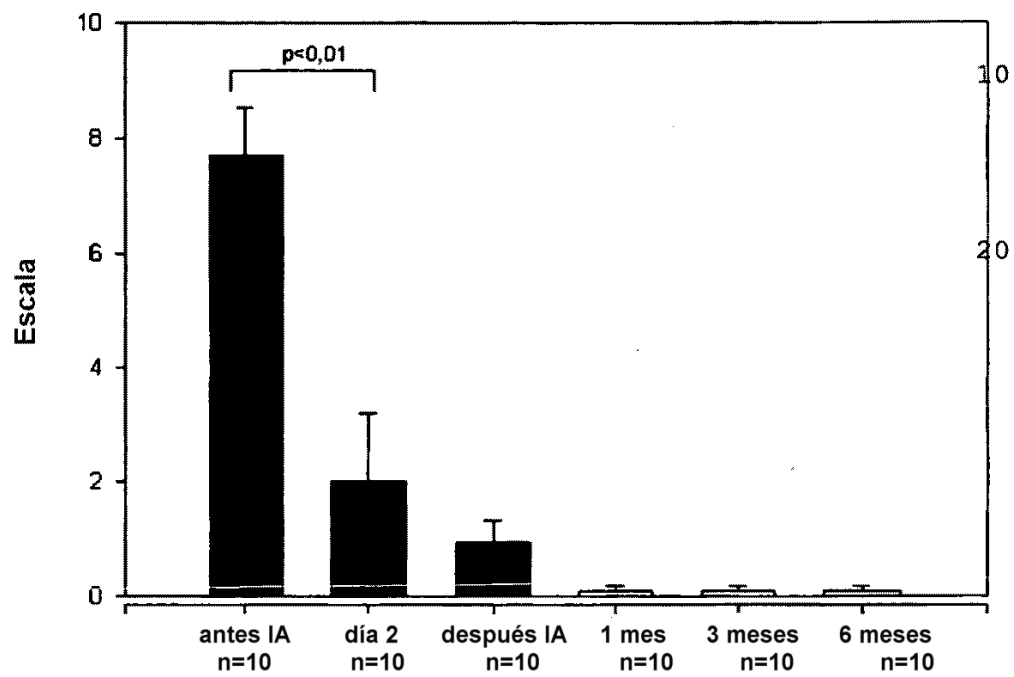
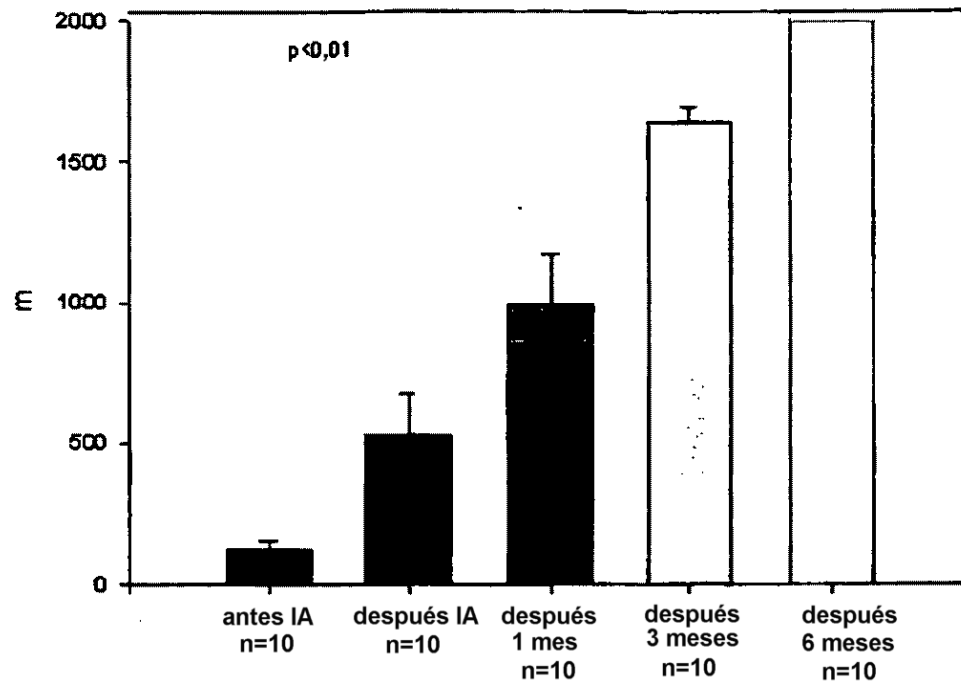


Figura 2: distancia de marcha



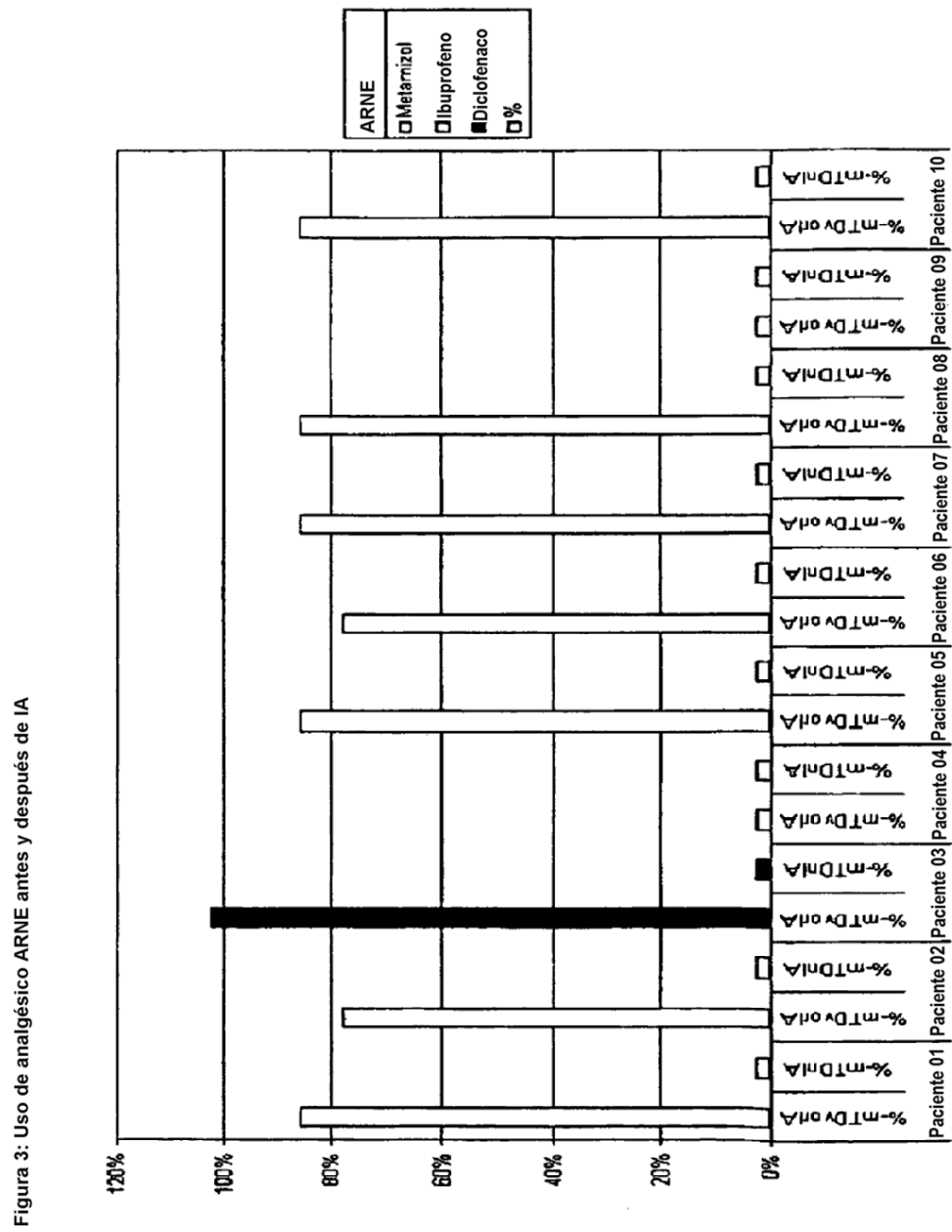


Figura 4: Uso de analgésicos opioides antes y después de IA

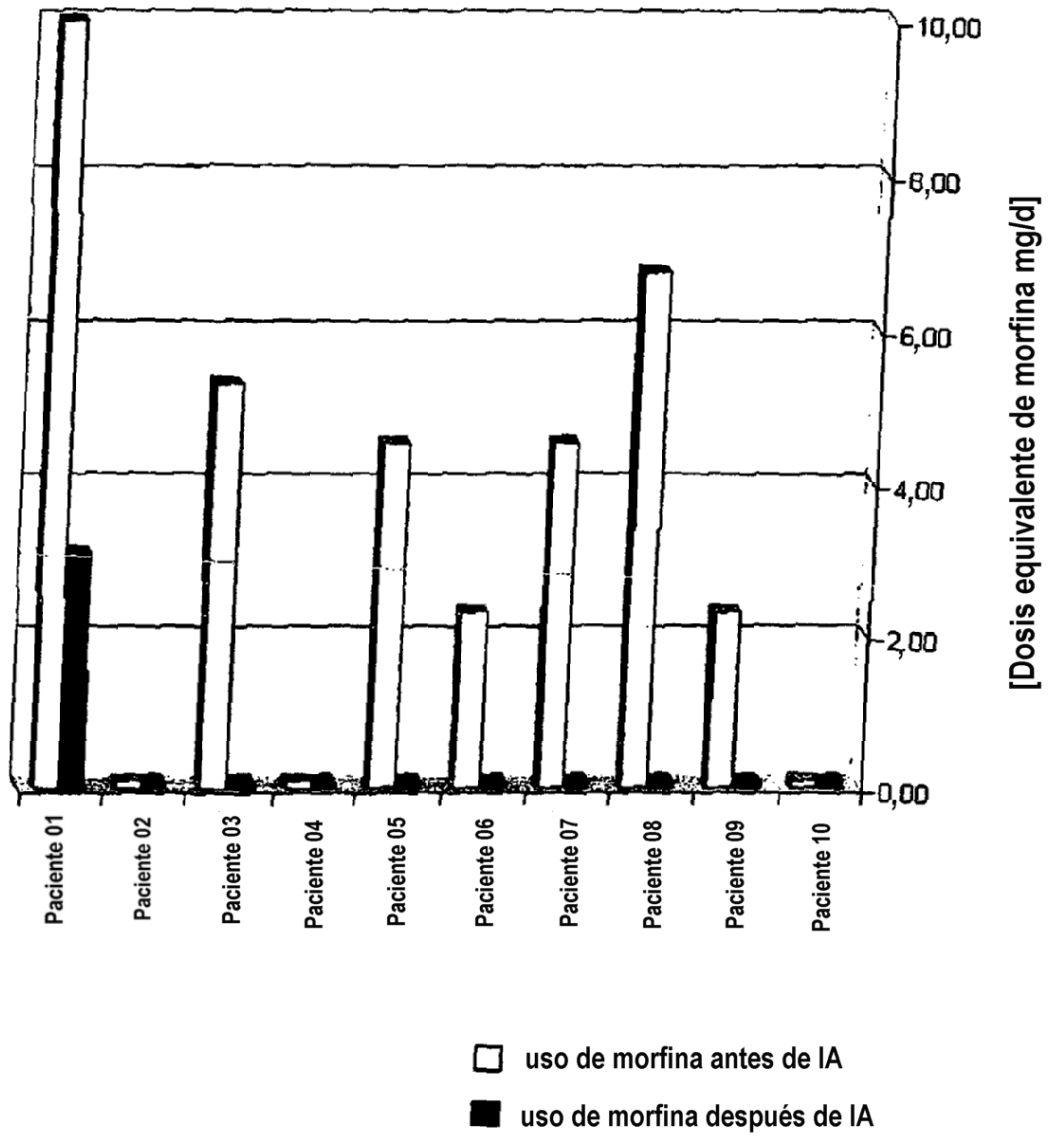


Figura 5: PO₂ pie derecho

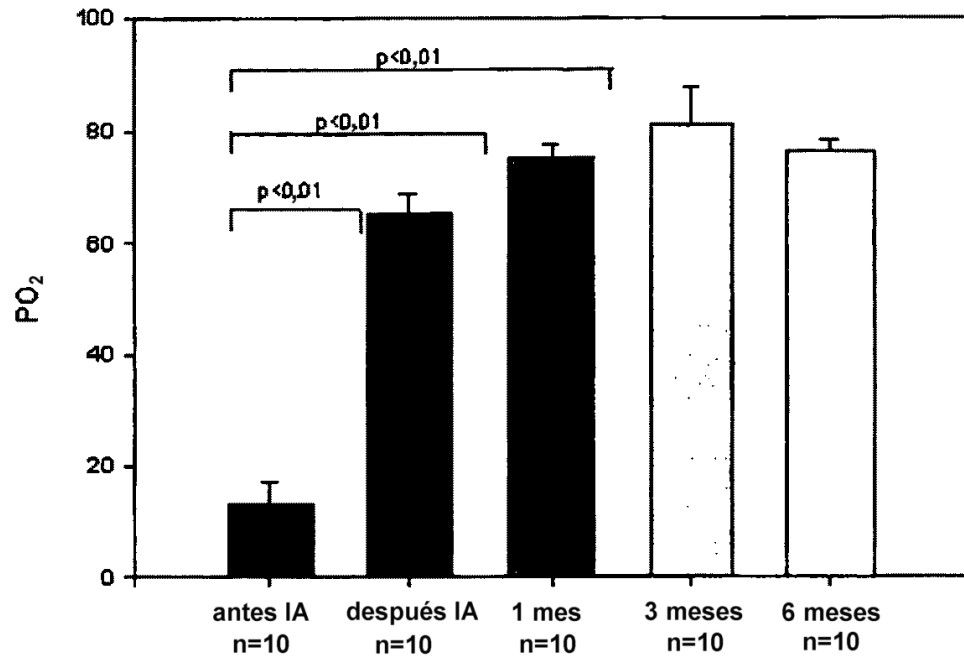


Figura 6 : PO₂ pie izquierdo

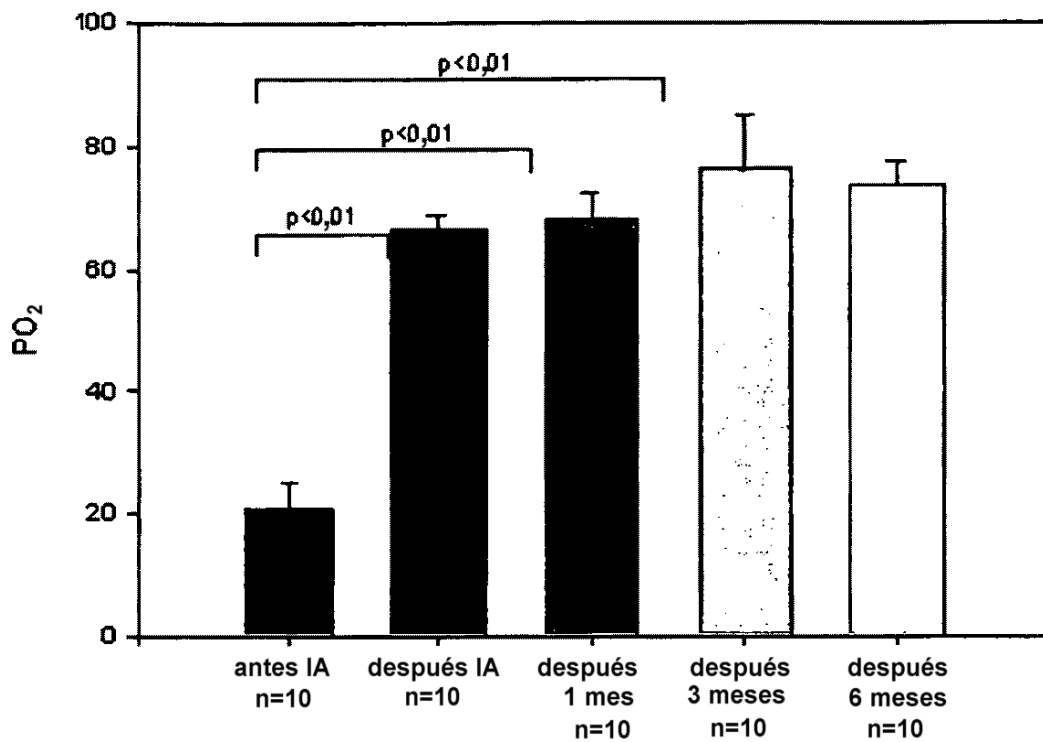


Figura 7: PCO₂ pie derecho

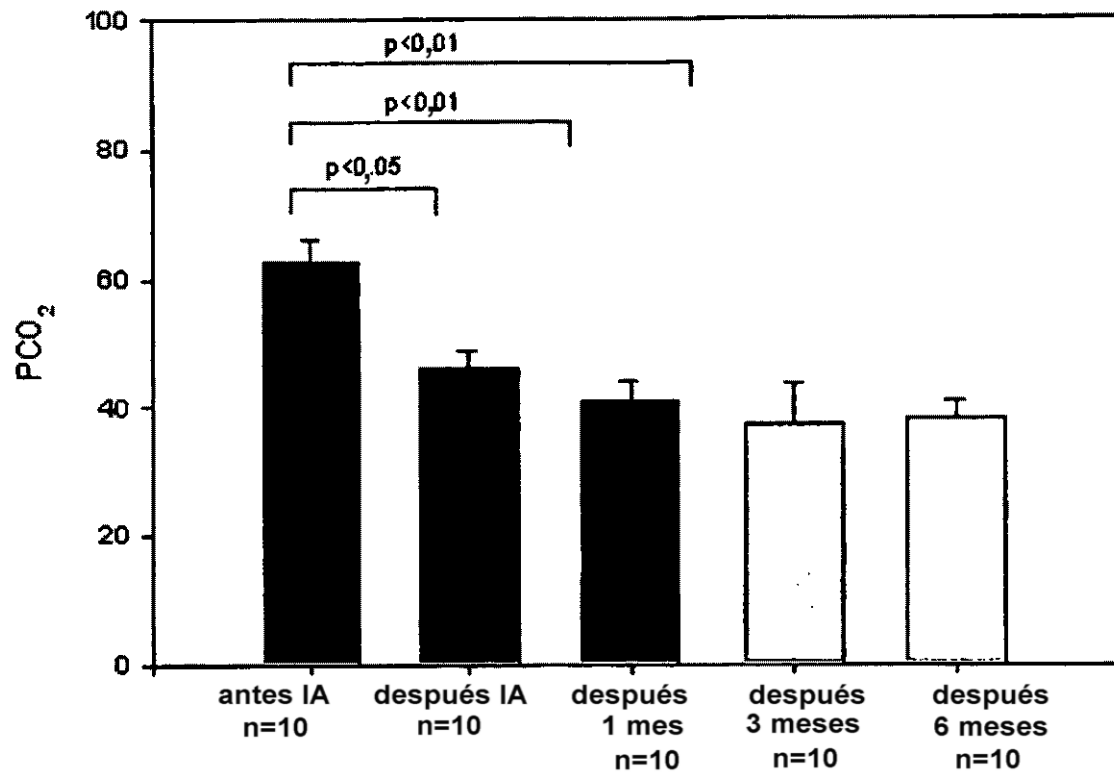


Figura 8: PCO₂ pie izquierdo

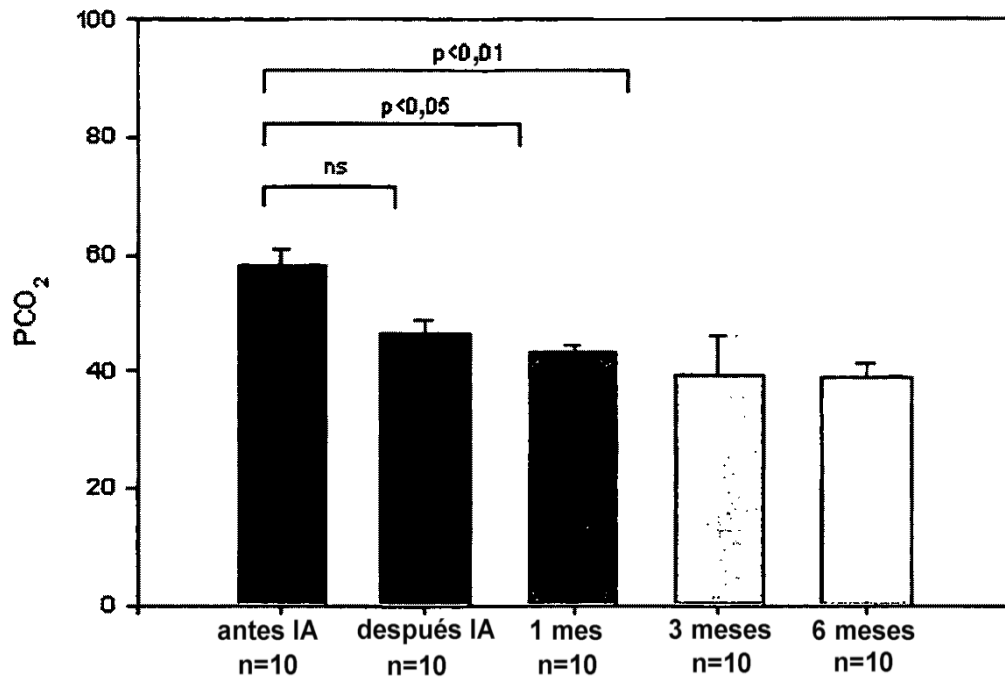


Figura 9: PO₂ extremidad más afectada

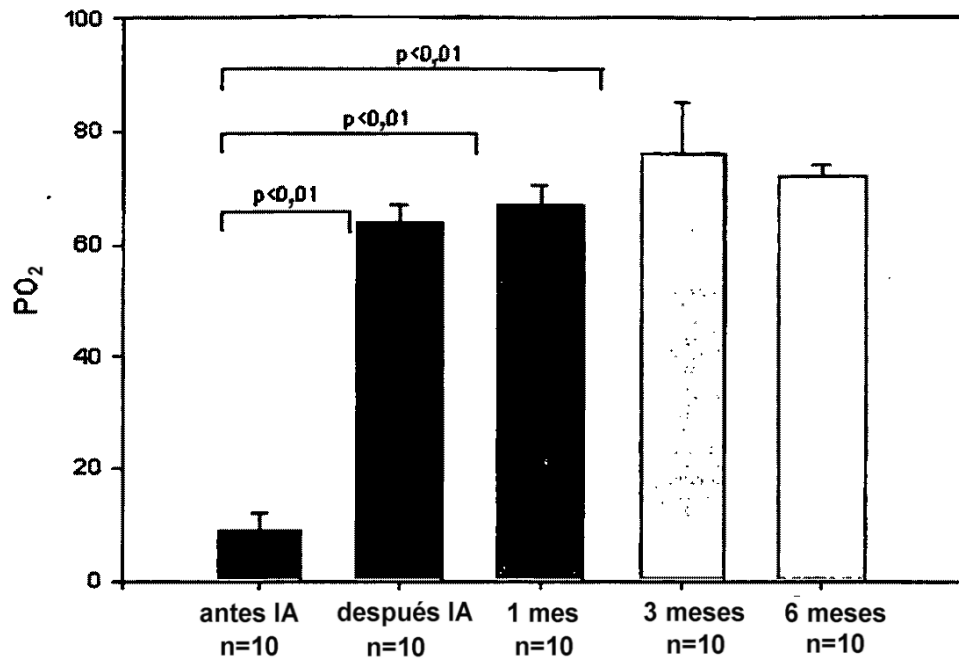


Figura 10: PCO₂ extremidad más afectada

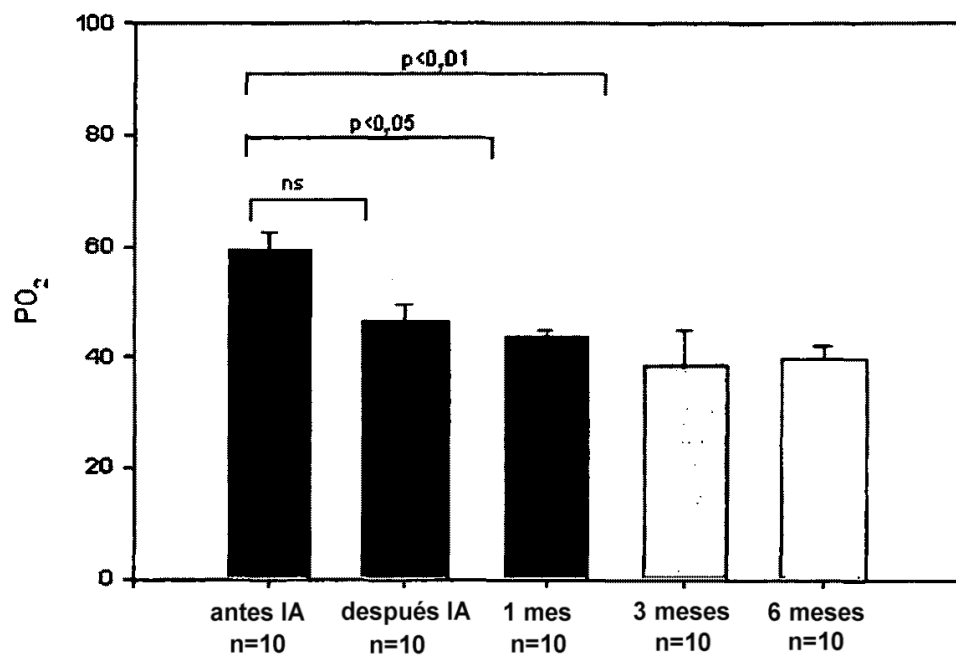


Figura 11: paciente 8 antes (A y B) y 6 semanas después del tratamiento (C y D)

