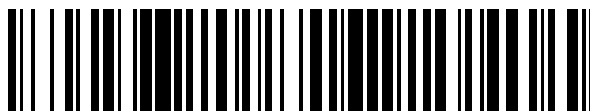


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 178**

51 Int. Cl.:

A61K 33/00 (2006.01)

A61K 9/72 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2011 E 11753240 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2545926**

54 Título: **Agente terapéutico y dispositivo terapéutico para aliviar el daño por isquemia-reperfusión**

30 Prioridad:

10.03.2010 JP 2010053405

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

09.05.2016

73 Titular/es:

**SCHOOL JURIDICAL PERSON KITASATO
INSTITUTE (100.0%)
9-1 Shirokane 5-chome, Minato-ku
Tokyo 108-8641, JP**

72 Inventor/es:

**KOBAYASHI, HIROSUKE;
SHIMBO, TOSHIHIRO y
KOKUBO, KENICHI**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 569 178 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

Agente terapéutico y dispositivo terapéutico para aliviar el daño por isquemia-reperfusión.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un agente terapéutico, a un dispositivo terapéutico y a un método terapéutico para aliviar lesiones en las partes afectadas, tales como el tejido cardiaco, y la microangiopatía que acompaña a la
10 reperfusión que se experimenta en la terapia de reperfusión para el infarto agudo de miocardio (daño por isquemia-reperfusión).

Antecedentes de la técnica

En las enfermedades de infarto tales como el infarto de miocardio, el infarto cerebral y la trombosis mesentérica, la
15 terapia de isquemia-reperfusión que permite que la sangre fluya nuevamente en tejido que se encontraba en un estado isquémico por la interrupción del flujo sanguíneo, con frecuencia se lleva a cabo mediante la expansión mecánica del vaso en el área infartada o disolviendo los trombos. En un órgano trasplantado tras el trasplante de órganos, de manera similar se reinicia el flujo sanguíneo en tejido al que ya no llega la circulación sanguínea. Es conocido que al reiniciar el flujo sanguíneo en un tejido, se suministra súbitamente oxígeno al tejido que ha
20 permanecido en estado isquémico, resultando en que se producen diversas reacciones fisiológicas, entre ellas la generación de oxígeno activo (radicales de oxígeno) u otros radicales libres, la infiltración neutrofílica y la activación de las plaquetas, provocando el agravamiento del trastorno orgánico, tal como el daño al músculo cardiaco (por ejemplo el infarto de miocardio). Dicho fenómeno se denomina daño por isquemia-reperfusión o simplemente daño por reperfusión.

El monóxido de nitrógeno (NO) es una sustancia vasodilatadora derivada del endotelio. Es conocido que la
25 administración de gas monóxido de nitrógeno mediante inhalación presenta efectos tales como la reducción de la presión arterial pulmonar por vasodilatación en los pulmones, una mayor oxigenación de todo el cuerpo, la supresión de la activación de las plaquetas y la supresión de la activación y adhesión/coagulación de los leucocitos. Con respecto al daño por isquemia-reperfusión, la inhalación de monóxido de nitrógeno proporciona un determinado
30 efecto demostrado por el hecho de que reduce el área infartada y resulta eficaz en el alivio del daño miocárdico (documento JP 2004-509850 B y Cardiovascular Research 75:339-348, 2007). Se ha demostrado un papel para el NO inhalado como sistema de administración terapéutico en la microvasculatura periférica, que muestra una enorme eficacia como molécula antiadhesiva, antivasoconstrictora y antipermeabilizadora en tejidos con agotamiento de NO
35 (J. Clin. Invest. 101(11):2497-2505, 1998). El documento EP 1 073 416 da a conocer la utilización del NO inhalado para el tratamiento del daño por isquemia-reperfusión no pulmonar. El NO gaseoso puede combinarse con un inhibidor de fosfodiesterasa o con superóxido dismutasa. El documento WO 97/15312 da a conocer la utilización de una composición gaseosa que comprende NO y dióxido de carbono para la preparación de un fármaco gaseoso útil
40 para el tratamiento o prevención intraabdominal de hiperperfusiones de órganos abdominales. Sin embargo, aunque el monóxido de nitrógeno presenta dichas actividades protectoras, adolece del problema de que reacciona particularmente con los aniones superóxido, los cuales se producen intracelularmente o extracelularmente, resultando en la producción de peroxinitrito, que presenta una toxicidad extremadamente elevada para los tejidos
45 (Mol. Cell Biochem. 303:19-25, 2007). De acuerdo con lo anterior, existe un riesgo elevado de efectos secundarios causados por la inhalación del monóxido de nitrógeno.

En los últimos años se ha demostrado que el hidrógeno (H₂), que es un agente reductor, reacciona selectivamente
50 con especies altamente reactivas de oxígeno activo (tal como radical hidroxilo <OH> y peroxinitrito <ONOO->) y las elimina. ES conocido que si se administra gas hidrógeno mediante inhalación en los pulmones, se suministra hidrógeno a todo el cuerpo a través de la sangre y puede suprimir lesiones asociadas a los radicales de oxígeno y eliminar los radicales libres, los cuales presentan un fuerte poder oxidante que provoca daños celulares. Se ha informado de que en modelos de isquemia-reperfusión de infarto cerebral y en modelos de isquemia-reperfusión del
55 hígado en ratones, el daño a órganos y tejidos en el momento de isquemia-reperfusión puede reducirse con hidrógeno (Nature Medicine 13:688-694, 2007, y Biochemical and Biophysical Research Communications 361:670-674, 2007). También se ha demostrado que la inhalación de gas hidrógeno reduce el tamaño del infarto en el modelo de rata de daño por isquemia-reperfusión miocárdico (Biochemical and Biophysical Research
Communications 373:30-35, 2008). Sin embargo, resulta difícil suprimir la infiltración neutrofílica y la activación plaquetaria que se observa en el momento de la isquemia-reperfusión utilizando únicamente la inhalación de hidrógeno.

60 El documento EP 1.946.762 da a conocer secuestrantes de especies de oxígeno reactivo y/o radicales libres dañinos in vivo. Los secuestrantes comprenden un líquido o gas que comprende por lo menos una molécula de hidrógeno.

Sumario de la invención

65 El objetivo de la presente invención es establecer una técnica de tratamiento para aliviar el daño por isquemia-

reperfusion que presenta un riesgo minimizado de efectos secundarios y que puede suprimir la infiltración neutrofílica y la activación plaquetaria en el momento de la isquemia-reperfusion.

Los presentes inventores han considerado el hecho de que el monóxido de nitrógeno y el hidrógeno presentan diferentes mecanismos de acción y han encontrado que la inhalación simultánea de estos dos tipos de gas a través de los pulmones puede aliviar diversos sucesos de daño por isquemia-reperfusion y concretamente la producción de oxígeno activo y otros radicales libres, así como la infiltración neutrofílica y la activación plaquetaria, previniendo simultáneamente los efectos secundarios causados por el monóxido de nitrógeno. Como resultado, han completado la presente invención.

La presente invención es una composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada al alivio del daño por isquemia-reperfusion que consiste esencialmente de 21% a 98% de oxígeno, 0,1% a 4% de hidrógeno, 40 a 80 ppm de monóxido de nitrógeno y un remanente de un gas inerte (tal como nitrógeno o helio).

Dicha composición farmacéutica, es decir, un gas mixto que contiene oxígeno, hidrógeno y monóxido de nitrógeno en un gas inerte, tal como nitrógeno o helio, se administra mediante inhalación en un paciente sometido a reperfusion desde inmediatamente antes del inicio de la isquemia-reperfusion hasta poco después del inicio de la reperfusion. Como resultado, puede evitarse el trastorno orgánico debido a la reperfusion.

En otro aspecto, la presente invención es un dispositivo terapéutico destinado al alivio del daño por isquemia-reperfusion mediante la administración por inhalación de la composición farmacéutica anteriormente indicada en un paciente directamente o mediante un ventilador, caracterizada porque comprende las respectivas fuentes de gas para gas inerte (tal como nitrógeno), gas oxígeno, gas hidrógeno y gas monóxido de nitrógeno, un regulador de presión y un caudalímetro conectado a cada fuente de gas, y un tubo de alimentación para alimentar cada gas desde su fuente, en el que la totalidad de los tubos de alimentación de gas convergen antes de la administración para formar un gas mixto que *consiste* esencialmente en gas inerte, oxígeno, hidrógeno y monóxido de nitrógeno.

En todavía otro aspecto, la presente invención es un método para aliviar el daño por isquemia-reperfusion que comprende la administración mediante inhalación de una composición farmacéutica gaseosa que consiste esencialmente de 21% a 98% de oxígeno, 0,1% a 4% de hidrógeno, 40 a 80 ppm de monóxido de nitrógeno y un remanente de un gas inerte en un paciente que está recibiendo terapia de isquemia-reperfusion, desde antes del inicio de la isquemia-reperfusion hasta poco después del inicio de la misma.

Según la presente invención, no sólo es mayor el efecto de alivio del daño por isquemia-reperfusion que puede obtenerse que el obtenido mediante el método conocido de inhalación de gas monóxido de nitrógeno solo o de inhalación de gas hidrógeno solo, sino que resulta posible evitar el problema del tratamiento convencional para el alivio del daño por isquemia-reperfusion mediante inhalación de monóxido de nitrógeno que presenta efectos secundarios en forma de daños a los tejidos causados por la formación de peroxinitrito debido a la reacción con los aniones superóxido. Además, la infiltración neutrofílica y la activación plaquetaria, los cuales no podían evitarse con la inhalación de hidrógeno, pueden suprimirse.

Mediante la inhalación combinada de monóxido de nitrógeno e hidrógeno, pueden evitarse los efectos secundarios de la inhalación de monóxido de nitrógeno y resulta posible conseguir un efecto sinérgico de alivio del daño por isquemia-reperfusion que es superior al efecto de la inhalación de monóxido de nitrógeno o de la inhalación de hidrógeno, al contrario que un mero efecto del uso combinado. Lo anterior es un efecto extremadamente significativo que no podía haber sido predicho por el experto en la materia. El alivio del daño por isquemia-reperfusion mejora la calidad de vida de los pacientes sometidos a reperfusion.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama esquemático que representa la estructura de un ejemplo de un dispositivo terapéutico que puede utilizarse para llevar a cabo la inhalación combinada de monóxido de nitrógeno e hidrógeno según la presente invención.

La figura 2 es un diagrama esquemático que representa la estructura de un dispositivo utilizado con ventiladores para la inhalación de oxígeno en un experimento.

La figura 3 es un gráfico que representa los resultados de experimentos animales (la proporción de área isquémica en el ventrículo izquierdo).

La figura 4 es un gráfico que representa los resultados de experimentos animales (la proporción de área infartada en el área isquémica).

Modos de poner en práctica la invención

La presente invención puede aliviar el daño por isquemia-reperfusion, que se observa al llevar a cabo la terapia de

isquemia-reperusión, por ejemplo, en tejido miocárdico isquémico en el que ha cesado el flujo sanguíneo en pacientes de infarto de miocardio mediante el reinicio del flujo sanguíneo mediante la colocación de stent, endarterectomía, terapia trombolítica o similar. Dicha reperusión de un área infartada también se lleva a cabo en el tratamiento del infarto cerebral o la trombosis mesentérica, y el daño por reperusión puede producirse de manera similar durante el tratamiento. El daño por reperusión también puede producirse después del trasplante de un órgano, al reiniciar el flujo sanguíneo al tejido en los órganos trasplantados hacia los que ha cesado el flujo sanguíneo. La presente invención puede aliviar el daño por isquemia-reperusión en cualquiera de dichos órganos.

En la presente invención, se administra mediante inhalación un gas que contiene oxígeno, hidrógeno y monóxido de nitrógeno en un gas inerte, tal como nitrógeno, en un paciente que está siendo sometido a reperusión de isquemia con el fin de aliviar el daño por reperusión desde inmediatamente antes del inicio de la reperusión hasta poco después del inicio de la reperusión. Durante la cirugía, por ejemplo, el periodo de administración puede ser de entre 5 y 60 minutos antes de producirse la reperusión de isquemia, hasta 30 minutos a 2 horas después de producirse la reperusión. Un periodo de administración preferente es de entre 10 y 30 minutos antes del inicio de la reperusión hasta 10 minutos a 1 hora después del inicio de la reperusión.

La concentración de oxígeno en el gas que se administra mediante inhalación se encuentra comprendida entre 21% y 98% y preferentemente se encuentra comprendida en el intervalo de entre 21% y 30%. Si la concentración de oxígeno es excesivamente baja existe el riesgo de hipoxemia, mientras que si es excesivamente elevada, existe el riesgo de daño a los pulmones. La concentración de hidrógeno en el gas se encuentra comprendida en el intervalo de entre 0,1% y 4% y preferentemente es de aproximadamente 2%. Si la concentración de hidrógeno es excesivamente baja, se reduce el efecto de alivio del daño por reperusión, mientras que si es excesivamente alta, se genera un riesgo de explosión. Sin embargo, en el aire, el hidrógeno no explota si la concentración del mismo es de 4,7% o inferior, aunque se aproxime una llama al mismo. La concentración de monóxido de nitrógeno en el gas se encuentra comprendida en el intervalo de entre 40 y 80 ppm, preferentemente de entre 60 y 80 ppm, y más preferentemente de aproximadamente 80 ppm. En el caso de que la concentración de monóxido de nitrógeno sea excesivamente baja, se reduce el efecto de alivio del daño por reperusión, mientras que en el caso de que sea excesivamente elevada, resulta difícil evitar los efectos secundarios anteriormente indicados del monóxido de nitrógeno aunque se encuentre presente hidrógeno en el intervalo de concentraciones anteriormente indicado. El monóxido de nitrógeno ya ha sido autorizado como fármaco para aliviar la insuficiencia respiratoria hipóxica acompañada de hipertensión pulmonar en neonatos (inhalación durante un máximo de 4 días a una concentración de 20 ppm) y se encuentra comercialmente disponible una preparación gaseosa que presenta una concentración de monóxido de nitrógeno de 800 ppm. En la presente invención, el remanente del gas utilizado como composición farmacéutica es un gas inerte, tal como gas nitrógeno o helio u otro gas inerte, aunque puede contener otros gases, tales como dióxido de carbono, en caso de hallarse presentes en cantidades minúsculas. Los gases utilizados como materias primas preferentemente presentan la máxima pureza posible.

En la presente invención, "aproximadamente" se refiere a que una variación de $\pm 5\%$ resulta permisible.

La terapia de inhalación según la presente invención puede llevarse a cabo utilizando un dispositivo basado en un ventilador convencional (respirador artificial) que presenta un tubo de suministro de oxígeno conectado mediante un regulador de presión y modificado de manera que disponga de un tubo de suministro de nitrógeno, un tubo de suministro de hidrógeno y un tubo de suministro de monóxido de nitrógeno conectados al ventilador mediante sus reguladores de presión respectivos.

La figura 1 representa la estructura global de un ejemplo de dicho dispositivo. El dispositivo ilustrado presenta una fuente 1 de monóxido de nitrógeno (NO), una fuente 2 de un gas mixto de hidrógeno/nitrógeno preparada mediante dilución de hidrógeno (H_2) con nitrógeno (N_2) y una fuente 3 de oxígeno (O_2). Cada uno de dichos gases se suministra a partir de un cilindro de gas. El hidrógeno se suministra mediante dilución con nitrógeno con el fin de evitar el riesgo de explosión. La concentración de hidrógeno en el gas mixto de hidrógeno/nitrógeno preferentemente es como máximo 5%, por ejemplo, y particularmente preferentemente como máximo de 4,7%. De manera similar, aunque no se muestra en el dibujo, por consideraciones de seguridad, el cilindro de monóxido de nitrógeno que se utiliza en la práctica típicamente es un cilindro que contiene un gas monóxido de nitrógeno diluido en nitrógeno que presenta una concentración de monóxido de nitrógeno de aproximadamente 1% (1.000 ppm) o inferior (tal como el gas anteriormente indicado, que presenta una concentración de monóxido de nitrógeno de 800 ppm). El gas de cada fuente pasa por un regulador de presión y un microcaudalímetro 4 o 5 y se mezclan entre sí para formar un gas mixto, y el gas mixto se administra mediante inhalación en los pulmones de un paciente directamente o mediante un ventilador 7 tras pasar por una válvula 6.

Al entrar en contacto el monóxido de nitrógeno con el oxígeno, el monóxido de nitrógeno puede ser consumido por una reacción que forma dióxido de nitrógeno. Por lo tanto, estos dos gases preferentemente se mezclan inmediatamente antes de alcanzar la válvula. Por este motivo, en el dispositivo ilustrado, un gas mixto de hidrógeno/nitrógeno y gas oxígeno pasan a través del mismo microcaudalímetro 5 y se mezclan después de ajustar su caudal. El gas mixto de oxígeno/hidrógeno/nitrógeno resultante a continuación se mezcla inmediatamente antes de la válvula 6 con gas monóxido de nitrógeno, que es suministrado a través de un microcaudalímetro dedicado 4. Mediante el accionamiento de la válvula 6, se envía el gas mixto al paciente directamente o mediante un ventilador 7

y se administra mediante inhalación en los pulmones del paciente.

También resulta posible la utilización de un gas mixto de un cilindro que contiene monóxido de nitrógeno (por ejemplo a una concentración de 800 ppm) e hidrógeno (por ejemplo a una concentración del 20%) con un equilibrio de nitrógeno, y la dilución del gas mixto con oxígeno y nitrógeno (por ejemplo con un volumen de 10 veces).

Ejemplos

El alivio del daño por isquemia-reperfusión mediante tratamiento según la presente invención se confirmó mediante los experimentos animales descritos a continuación.

1. Ratones utilizados para el experimento y administración de antibiótico

Para el experimento se utilizaron ratones C57BL/6J macho de 10 semanas de edad. Con el fin de eliminar el efecto del hidrógeno producido por las bacterias presentes en el intestino, los animales fueron alimentados con agua *ad libitum* que contenía un antibiótico y la alimentación habitual durante 4 días y después se sometieron a ayuno durante 18 horas antes de iniciar el experimento. Sin embargo, durante este periodo se permitió que los animales ingiriesen *ad libitum* el agua que contenía antibiótico. Antes del inicio del experimento, se midió la concentración de hidrógeno en el gas exhalado por cada ratón utilizando un dispositivo en circuito fabricado por los propios inventores para la medición de la concentración de hidrógeno en el gas expirado, con el fin de determinar el efecto del antibiótico, y sólo se utilizaron para el experimento los ratones en los que la concentración de hidrógeno era inferior al límite medible. Si el efecto del hidrógeno producido por las bacterias entéricas no se elimina, se produce una gran variación en los resultados experimentales y no resulta posible evaluar con precisión el efecto debido al hidrógeno inhalado.

2. Construcción de modelos murinos de daño miocárdico por isquemia-reperfusión

Tras la administración intraperitoneal de pentobarbital como anestésico y la intubación traqueal, se conectó cada animal a un ventilador animal para el cuidado respiratorio. Se afeitó el tórax izquierdo y se desinfectó a fin de llevar a cabo la toracotomía, y se ligó la arteria coronaria descendente anterior izquierda con un filamento de seda a fin de mantener un estado de isquemia durante 60 minutos. A continuación, para provocar la reperfusión se liberó el filamento de seda utilizado para la ligación. Se confirmó la reperfusión por el reinicio del flujo sanguíneo. Tras confirmar la reperfusión, se cerró el tórax y se continuó con los cuidados con ventilador hasta despertar el animal de la anestesia. Tras despertar de la anestesia, se retiró el tubo y el animal recibió cuidados en aire interior.

3. Periodo de inhalación y concentración para la inhalación

El periodo de inhalación fue de 35 minutos, desde 5 minutos antes de iniciar la reperfusión (liberación de la ligadura) hasta 30 minutos después de iniciar la reperfusión. Un grupo en el que los animales no inhalaban ningún gas de interés (únicamente inhalación de oxígeno con un ventilador animal) se utilizó como grupo de control y este grupo se comparó con un grupo de inhalación de hidrógeno, un grupo de inhalación de monóxido de nitrógeno y un grupo de inhalación de la combinación de hidrógeno y monóxido de nitrógeno según la presente invención.

4. Preparación y medición de secciones cardíacas

Tras 24 horas del inicio de la reperfusión, cada animal se sometió nuevamente a anestesia, toracotomía y ligación de la manera anteriormente indicada. Se inyectó una solución de tinción de azul de Evans en el ventrículo izquierdo para identificar el área isquémica. Tras confirmar que la solución de azul de Evans había pasado por la arteria coronaria, se extirpó el corazón. El corazón extirpado se cortó en trozos de 1 mm de anchura para preparar las secciones cardíacas. Las secciones cardíacas preparadas se tiñeron con una solución de tinción de TTC (cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio) con el fin de identificar el área infartada y se obtuvieron imágenes con un microscopio estereoscópico.

Basándose en la imagen obtenida, se midió en cada sección cardíaca el área del VI (ventrículo izquierdo), el AER (área en riesgo=el área isquémica) y el área de Nec (necrosis; el área infartada) utilizando el software de procesamiento de imágenes ImageJ para calcular el valor de AER/VI (proporción de área isquémica en el ventrículo izquierdo) y de Nec/AER (proporción de área infartada en el área isquémica). Se utilizó AER/VI como índice para determinar si se había conseguido el mismo grado de ligación en todos los animales de muestra y se utilizó Nec/AER como índice del efecto de la inhalación.

5. Estructura del circuito y flujo de gas

La estructura del circuito era básicamente la mostrada en la figura 1. Por consideraciones de seguridad el hidrógeno se suministró a partir de un cilindro de gas hidrógeno diluido con nitrógeno que contenía 4% de hidrógeno en nitrógeno. El monóxido de nitrógeno se suministró a partir de un cilindro de gas que contenía 800 ppm de monóxido de nitrógeno en nitrógeno. Mediante la utilización de reguladores de flujo y microcaudalímetros se administró

mediante inhalación un gas mixto que contenía 30% de oxígeno, 2% de hidrógeno y 80 ppm de monóxido de nitrógeno en nitrógeno en los pulmones de los ratones mediante un ventilador animal.

5 A título comparativo se administró mediante inhalación un gas mixto que presentaba la misma composición que la indicada anteriormente excepto en que no contenía hidrógeno o monóxido de nitrógeno, con el fin de proporcionar un grupo de inhalación de monóxido de nitrógeno (80 ppm de monóxido de nitrógeno y 30% de nitrógeno) y un grupo de inhalación de hidrógeno (2% de hidrógeno y 30% de oxígeno), respectivamente.

10 Al realizar los cuidados respiratorios mediante inhalación de oxígeno en el grupo de control, tal como se muestra en la figura 2, sólo se alimentó oxígeno de una fuente de oxígeno 3 a un ventilador animal 7 a través de un caudalímetro mecánico 8.

Resultados experimentales

15 Los resultados de los experimentos se muestran en las figuras 3 y 4.

20 La figura 3 muestra la proporción (AER/VI) del área isquémica del ventrículo izquierdo para cada grupo. El número de animales fue el mostrado en la figura, y cada valor se muestra como media \pm desviación estándar. La proporción de área isquémica varía según la localización de la ligadura de la arteria coronaria izquierda. Con el fin de evaluar el grado de daño por reperfusión, la proporción de área isquémica formada mediante ligación es deseablemente la misma aproximadamente para cada grupo. A partir de la figura puede observarse que el valor de AER/VI era aproximadamente el mismo para todos los grupos. Es decir, se preparó en cada grupo aproximadamente el mismo grado de área isquémica.

25 La figura 4 muestra la proporción (Nec/AER) de área infartada del área isquémica. El número de animales fue el mostrado en la figura, y cada valor se muestra como media \pm desviación estándar. Un grupo para el que se determinó una diferencia significativa mediante una prueba t se indica con un * ($p < 0,01$).

30 En comparación con el grupo de control, en el que no se inhaló hidrógeno o monóxido de nitrógeno, el valor de Nec/AER era más bajo para el grupo de inhalación de hidrógeno, el grupo de inhalación de monóxido de nitrógeno y el grupo de inhalación de la combinación de hidrógeno/monóxido de nitrógeno, con una diferencia significativa identificada mediante una prueba t. También se observó una diferencia significativa entre el grupo de inhalación de monóxido de nitrógeno y el grupo de inhalación combinada de hidrógeno/monóxido e nitrógeno, demostrando que el grupo que había recibido la inhalación combinada de hidrógeno y monóxido de nitrógeno según la presente invención experimentó un efecto más grande de alivio del daño por reperfusión que el grupo de inhalación de monóxido de nitrógeno. No se observó ninguna diferencia significativa entre el grupo de inhalación de la combinación de hidrógeno/monóxido de nitrógeno y el grupo de inhalación de hidrógeno, aunque se observó una tendencia a que el valor de Nec/AER se redujese adicionalmente en el área infartada en el grupo de inhalación de la combinación de hidrógeno/monóxido de nitrógeno.

40 Tal como se ha indicado anteriormente, el monóxido de nitrógeno presenta el efecto secundario de que se produce peroxinitrito, que presenta una fuerte citotoxicidad. Se conjeturó que el hidrógeno reduciría el peroxinitrito y lo neutralizaría, reduciendo de esta manera el daño debido al peroxinitrito. Con sólo la inhalación de hidrógeno no resultó posible suprimir la infiltración neutrofílica o la activación plaquetaria que se observan en el momento de la reperfusión de la isquemia, pero resultó posible suprimir estos fenómenos con la utilización combinada de hidrógeno y monóxido de nitrógeno.

50 En el presente experimento, se permitió la inhalación simultánea de hidrógeno y monóxido de nitrógeno, aunque resulta posible llevar a cabo la inhalación de sólo hidrógeno o la inhalación de sólo monóxido de nitrógeno, antes, después o tanto antes como después de la inhalación simultánea. En este caso, la concentración de hidrógeno y la concentración de monóxido de nitrógeno en el gas para la inhalación pueden ser iguales a las concentraciones en el gas administrado según la presente invención.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada a la utilización en el alivio del daño por isquemia-reperfusion que consiste esencialmente en 21% a 98% de oxígeno, 0,1% a 4% de hidrógeno, 40 a 80 ppm de monóxido de nitrógeno, y un remanente de un gas inerte.
- 10 2. Composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada a la utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que comprende 21% a 30% de oxígeno.
- 15 3. Composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada a la utilización según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que comprende aproximadamente 2% de hidrógeno.
4. Composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada a la utilización según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que comprende 60 a 80 ppm de monóxido de nitrógeno.
- 20 5. Composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada a la utilización según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que el gas inerte es gas nitrógeno o helio.
6. Composición farmacéutica gaseosa para inhalación destinada a la utilización según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que se administra de 5 a 60 minutos antes de que tenga lugar la reperfusion de isquemia y hasta 30 minutos a 2 horas después de que tenga lugar la reperfusion.
- 25 7. Dispositivo terapéutico para el alivio del daño por isquemia-reperfusion mediante la administración por inhalación de una composición farmacéutica destinada a la utilización según una de las reivindicaciones 1 a 5 en un paciente, directamente o mediante un ventilador, caracterizado por que comprende unas fuentes de gas para un gas inerte, oxígeno, hidrógeno y monóxido de nitrógeno, unos reguladores de presión y unos caudalímetros conectados individualmente a las fuentes de gas, y unos tubos de suministro para suministrar individualmente los gases a partir de las fuentes de gas dispuestos de manera que todos los tubos de suministro de gas convergen antes de la administración para formar un gas mixto que consiste esencialmente en gas inerte, oxígeno, hidrógeno y monóxido de nitrógeno.
- 30

Fig. 1

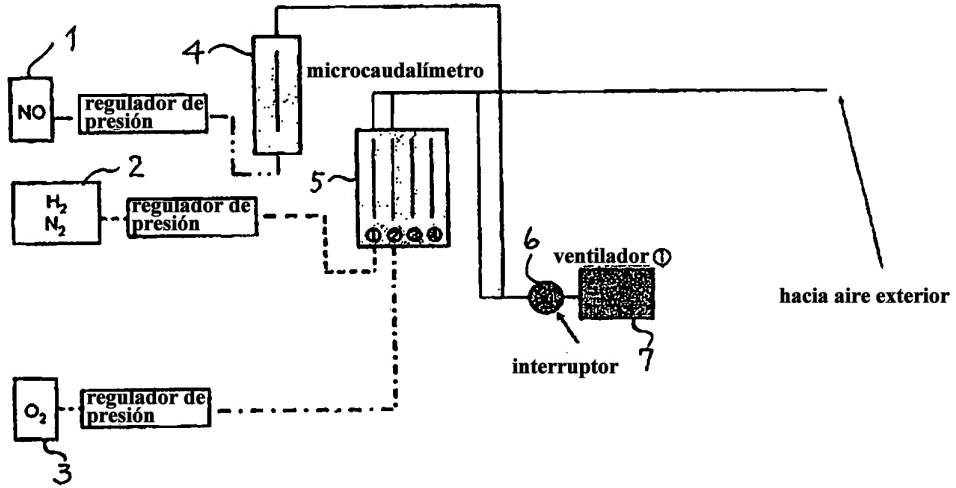


Fig. 2

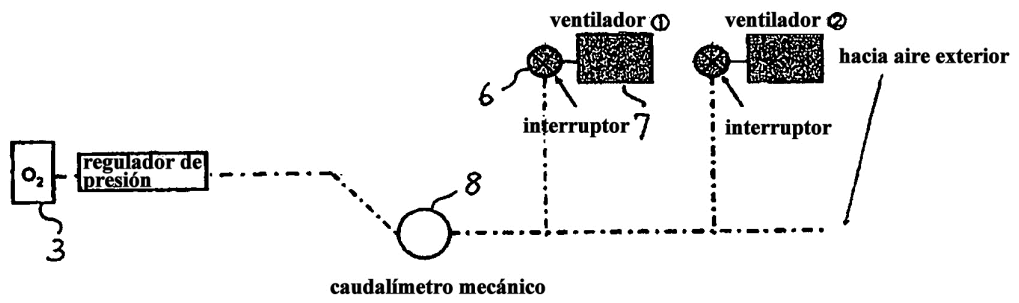


Fig. 3

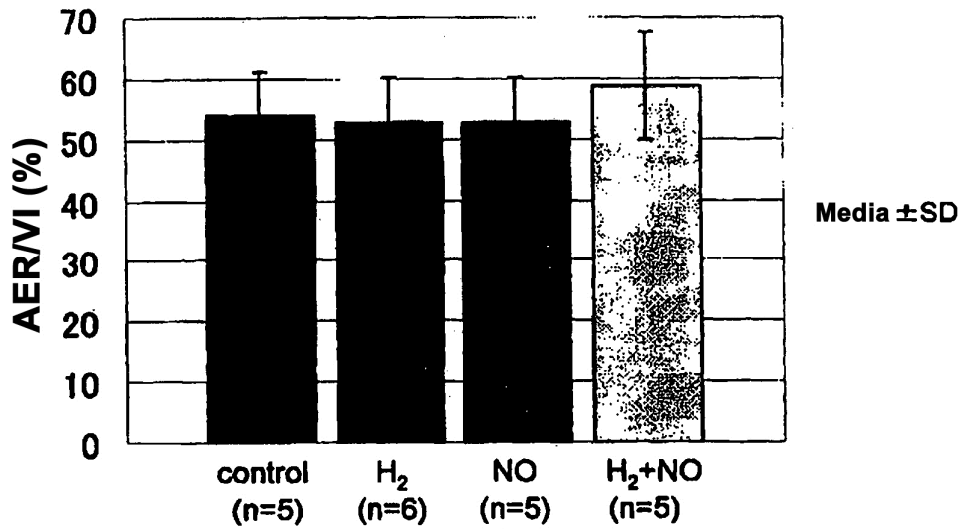


Fig. 4

