

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 766**

51 Int. Cl.:

A61K 31/573	(2006.01) A61K 35/15	(2015.01)
A61K 38/17	(2006.01) A61K 35/19	(2015.01)
A61K 38/20	(2006.01)	
A61K 45/06	(2006.01)	
A61P 19/02	(2006.01)	
A61P 19/00	(2006.01)	
A61P 37/00	(2006.01)	
A61K 38/00	(2006.01)	
A61K 9/00	(2006.01)	
A61K 9/51	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2010 PCT/EP2010/069426**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11082950**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2010 E 10800713 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.08.2016 EP 2437747**

54 Título: **Preparación combinada con exosomas y un corticoesteroide**

30 Prioridad:

10.12.2009 DE 102009057495

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

22.12.2016

73 Titular/es:

**ORTHOGEN AG (100.0%)
Ernst-Schneider-Platz 1
40212 Düsseldorf, DE**

72 Inventor/es:

**WEHLING, PETER y
REINECKE, JULIO**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 594 766 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

Preparación combinada con exosomas y un corticoesteroide

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas para una terapia combinada con exosomas y un corticoesteroide. A través de la terapia combinada se pueden tratar afecciones como la artrosis, la artritis y/o enfermedades degenerativas de la columna vertebral, en donde el tratamiento se efectúa preferentemente de forma local.

Antecedentes técnicos

- 10 En Alemania se conoce por artrosis un "desgaste articular" que sobrepasa las dimensiones propias de la edad. Viene acompañado de una pérdida de cartílago en la articulación afectada, lo que deriva en dolores y deterioros funcionales. Como causas se incluyen un exceso de esfuerzo, causas congénitas o traumáticas, como posiciones incorrectas de las articulaciones, o bien deformaciones óseas debido a enfermedades óseas como la osteoporosis. También puede surgir como consecuencia de otra enfermedad, como por ejemplo, la inflamación articular, o ir acompañada de derrames formados por sobreesfuerzos.

- 15 En principio, todas las articulaciones se pueden ver afectadas por cambios artrósicos. En Alemania, en la mayoría de los casos la enfermedad se localiza en la articulación de la rodilla. La artrosis es uno de los motivos de consulta más frecuentes en un consultorio de medicina general. Alrededor del 10 % de la población de los países occidentales padece artrosis. Si se tienen en cuenta las artrosis de las articulaciones intervertebrales pequeñas y las enfermedades degenerativas del disco intervertebral, el porcentaje de la población afectada es incluso de aprox. el 15 % al 20 %. El riesgo de sufrir artrosis se incrementa con el aumento de la edad. Alrededor de dos tercios de las personas mayores de 65 años se ven afectados por la enfermedad, pero no todos los afectados padecen los síntomas.

- 25 Se conocen ya algunos tipos de terapia para tratar la artrosis. Entre ellos se encuentran tanto las terapias conservadoras (p. ej., las medicamentosas) como las intervenciones quirúrgicas hasta la sustitución de toda la articulación por una prótesis. Para evitar intervenciones tan extensas e irreversibles, se prefiere en principio un tratamiento medicamentoso eficaz para posponer el máximo posible el momento de tener que sustituir completamente una articulación.

- 30 No obstante, muchos tratamientos medicamentosos también tienen sus desventajas. Por un lado, estas radican en los efectos adversos propios de los medicamentos, pero, por otro lado, su eficacia también se da en parte solo en determinadas condiciones.

- 35 Un principio activo que se suele utilizar para tratar la artrosis y la artritis reumatoide es la cortisona (aplicada también de forma local) y los corticoesteroides relacionados. Estos se administran en la articulación afectada, en el caso de la AR, de forma sistémica, y en el caso de la artrosis, de forma local como inyección. No obstante, en este sentido se muestra que el efecto positivo de una administración de corticoesteroides se reduce significativamente después de una semana, tanto en el caso de la artrosis como en el caso de la artritis reumatoide. Ello se ha probado clínicamente mediante estudios aleatorizados y experiencias clínicas. En el caso de la AR, el grado de eficacia se intenta mantener alto sistémicamente mediante un suministro continuado de cortisona. Sin embargo, esto es muy problemático debido al aumento de los efectos adversos y a la reducción del efecto terapéutico que se producen con la administración prolongada.

- 40 Los exosomas son pequeñas vesículas envueltas por una membrana de lípidos que se encuentran en el espacio extracelular de, por ejemplo, el cuerpo humano. Son formados y segregados por células mediante la separación de la membrana plasmática celular. Normalmente, estos exosomas también contienen proteínas que han adoptado de su célula original. En la solicitud de patente WO 2006/007529 A2, por ejemplo, se describen métodos para obtener y administrar exosomas. Los exosomas se forman en la inducción in vitro de proteínas eficaces a nivel profiláctico o terapéutico, como por ejemplo, IL-1Ra, mediante incubación de una muestra de sangre en un recipiente adecuado, como por ejemplo, una jeringuilla. Por lo tanto, el suero autólogo Orthokine, a modo de ejemplo, contiene exosomas. La formación de exosomas se puede incrementar incorporando un aditivo que potencie la formación de exosomas. La concentración de los exosomas se puede incrementar, por ejemplo, centrifugando a una aceleración centrífuga elevada. El empleo de exosomas en el tratamiento de la artritis reumatoide se conoce en sí mismo.

- 50 En la publicación "arznei-telegramm" 2001; vol. 32, N.º 3, p. 34 se explica en líneas generales el empleo del suero autólogo Orthokine en casos de artrosis, artritis reumatoide y hernia discal. Lo que no se divulga es un corticoesteroide o una terapia combinada con un corticoesteroide y exosomas.

Bianco et al. (2009) *Arthritis & Rheumatism* 60, 380, se centran en el efecto de los exosomas de células dendríticas en distintos modelos de afecciones en ratones. Bianco et al. no se refieren ni a exosomas obtenidos de una muestra de sangre ni a una terapia combinada con un corticoesteroide.

5 Bresnihan et al. (1998) *Arthritis & Rheumatism* 41, 2196, divulgan el tratamiento de la artritis reumatoide con IL-1Ra humana recombinante. Una parte de los pacientes utilizó un corticoesteroide (prednisolona) sin que se divulgue un efecto de esta medida. Además, tampoco se divulgan los exosomas.

Settas et al. (2007) divulgan la reactivación de una tuberculosis pulmonar en un paciente que padece artritis reumatoide al que se trató con IL-1Ra recombinante (anakinra). De forma adicional, este ingirió prednisolona, sin que se divulgara ningún efecto del mismo. No se divulgan los exosomas.

10 Otro medicamento que se puede emplear para tratar la artrosis es la proteína IL-1Ra del propio cuerpo o una isoforma o un fragmento de la misma que presente una actividad parecida. El antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1Ra) se une a los mismos receptores que la interleucina 1 (IL-1) en la superficie celular, pero no desencadena la cascada de señales que provoca normalmente la unión IL-1 en la misma. Mediante la unión al receptor de IL-1, el IL-1Ra bloquea la unión con IL-1 e impide de esta forma su transmisión de señal y, con ello, el efecto potenciador de la inflamación de la IL-1 en las células diana.

15 El tratamiento de pacientes con suero del propio cuerpo en el que se administró IL-1Ra se conoce en el estado de la técnica. El IL-1Ra empleado de esta forma se conoce como Orthokine. En cambio, un fragmento recombinante de IL-1Ra, el anakinra, no mostró ningún tipo de efecto en el tratamiento de las artrosis, en comparación con un tratamiento con placebo. El anakinra es una isoforma del antagonista del receptor de interleucina 1 humano acortada a los aminoácidos 26 a 177 y con L-metionina al final de la cadena, y que cuenta con una longitud de secuencia de 153 aminoácidos. La producción se efectúa, por ejemplo, mediante cepas de *Escherichia coli* con métodos recombinantes.

20 Por ello, en vista del estado de la técnica, existía el objeto de proporcionar un tratamiento medicamentoso para la artrosis que presente una mejor eficacia y que, particularmente, cuente con una buena eficacia a largo plazo. Además, el tratamiento debía tener preferentemente una buena eficacia, preferiblemente, una eficacia a largo plazo, para la artritis, particularmente, para la artritis reumatoide.

Explicación resumida de la invención

30 Sorprendentemente, se concluyó que la eficacia, particularmente, la eficacia a largo plazo, y la rapidez de la aparición del efecto de los corticoesteroides, como la cortisona, en casos de artrosis, artritis y enfermedades degenerativas de la columna vertebral se pueden mejorar de forma significativa o sinérgica administrando exosomas de forma adicional. Ello se muestra particularmente en la administración local de agentes terapéuticos directamente en la articulación que se desea tratar. Por ejemplo, uno de los descubrimientos sorprendentes es que el uso de corticoesteroides en combinación con exosomas obtenidos, por ejemplo, de una muestra de sangre en una jeringuilla de suero autólogo Orthokine (p. ej., corticoesteroide junto con suero autólogo Orthokine) parece ser superior a una terapia que no contenga el principio activo de los exosomas en cuanto a la rapidez con la que aparece el efecto en caso de artrosis. También se puede observar un efecto rápido si una terapia contra la artrosis que ya es eficaz en sí misma (por ejemplo, corticoesteroide junto con anakinra) incorpora exosomas como principio activo adicional.

40 Una eficacia destacablemente buena es la que muestra la combinación de corticoesteroides y exosomas, también en el tratamiento de la artritis reumatoide, tanto en lo que atañe a la rapidez con la que aparece el efecto como a la eficacia a largo plazo. En este sentido, un efecto especialmente favorable para el paciente viene dado por una eficacia sorprendentemente alta (condicionada por los distintos factores patofisiológicos) junto con un perfil especialmente favorable de efectos adversos. El perfil favorable de efectos adversos tiene una gran importancia, puesto que la administración crónica de corticoesteroides conlleva efectos adversos graves, como desequilibrios metabólicos, osteoporosis y otros efectos adversos. Sin embargo, combinando los exosomas con corticoesteroides como cortisona se aminoran los efectos desfavorables de los corticoesteroides (de la cortisona) y se incrementa la eficacia del tratamiento.

45 Independientemente de la indicación, en ciertos pacientes se ha podido observar que la combinación de exosomas con corticoesteroides muestra un efecto terapéutico que supera la suma de los efectos terapéuticos individuales de las dos sustancias activas, exosomas y corticoesteroides, particularmente si alguno de los dos principios activos no muestra efecto terapéutico en caso de administración aislada.

50 Por ello, en un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide junto con exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento, en donde los exosomas se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas.

La expresión "ausencia de un antagonista de citocina" significa, en el marco de la presente invención, que no está presente ni un solo antagonista de citocina. Ello también se aplica al factor de crecimiento.

5 Por consiguiente, la composición farmacéutica según el primer aspecto contiene en cualquier caso un corticoesteroide y exosomas. Asimismo, existe la opción de la presencia o la opción de la ausencia de un antagonista de citocina; igualmente, existe la opción de la presencia o de la ausencia de un factor de crecimiento.

10 Del mismo modo, los agentes terapéuticos se pueden administrar a la vez en dos composiciones farmacéuticas distintas o en secuencia temporal. Correspondientemente, en un segundo y en un tercer aspecto de la invención se proporciona una composición farmacéutica que contiene exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide, así como una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con exosomas, en donde la terapia combinada se refiere en ambos casos al tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación de las articulaciones y la pérdida de cartílago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre.

20 En un cuarto aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un antagonista de citocina y/o un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide y exosomas, en donde la terapia combinada se refiere al tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre.

25 En un quinto aspecto según la invención se proporciona un kit que contiene (i) una composición farmacéutica que contiene exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento, y (ii) una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento, en donde los exosomas se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contiene exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas.

30 Además, en un sexto aspecto, la invención se refiere al uso de exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para producir una composición farmacéutica para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide, y, en un séptimo aspecto, al uso de un corticoesteroide en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para producir una composición farmacéutica para su uso en una terapia combinada junto con exosomas, en donde la terapia combinada se refiere en ambos casos al tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartílago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre.

40 La terapia combinada nombrada más arriba en relación con el segundo, el tercer, el cuarto, el sexto y el séptimo aspecto es, preferentemente, una terapia combinada junto con un antagonista de citocina y/o un factor de crecimiento, particularmente en los casos en los que un antagonista de citocina y/o un factor de crecimiento está ausente en la propia composición farmacéutica.

45 En un octavo aspecto, la presente invención se refiere a un método para producir una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide y exosomas que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contiene exosomas; preferentemente, concentrar los exosomas y mezclarlos con un corticoesteroide.

Se indican otras formas de realización de la invención en la siguiente descripción detallada y en las reivindicaciones.

Descripción de la invención

50 La invención se basa en el descubrimiento sorprendente de que se puede mejorar significativamente el tratamiento de las enfermedades de las articulaciones y de la columna vertebral, como la artrosis, la artritis y las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, así como de las enfermedades autoinmunes, como la neurodermitis y la pérdida del cabello en parches circulares, por medio de corticoesteroides administrando adicionalmente exosomas. Así pues, la invención se dirige a la terapia combinada de enfermedades de este tipo por medio de un corticoesteroide junto con exosomas. Esta se puede efectuar en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento. Se prefiere la presencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento.

Así, estos distintos principios activos se pueden administrar de forma simultánea —en la misma formulación o en distintas formulaciones— o de forma secuencial. Por ello, las composiciones farmacéuticas según la invención que solo contienen uno de los dos principios activos, exosomas y corticoesteroides, así como el kit según la invención, pueden destinarse a una administración simultánea de los exosomas y del corticoesteroide, por un lado, y a una administración secuencial, por el otro. No obstante, se prefiere una administración simultánea, particularmente en solo una formulación. Así, las dos composiciones farmacéuticas del kit según la invención pueden, por ejemplo, mezclarse en una relación adecuada antes de la administración al paciente y, después, administrarse como una formulación. En una administración secuencial de los exosomas y del corticoesteroide, las distintas sustancias activas se administran preferentemente en un espacio de tiempo de una semana, preferentemente, de 5 días, 3 días, un día o de 12 horas.

En las composiciones farmacéuticas según la invención, que contienen exosomas y/o un corticoesteroide, puede estar presente o ausente un antagonista de citocina y/o un factor de crecimiento. Se prefiere la presencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento. De hecho, un efecto significativamente ventajoso para la eficacia, particularmente, para la eficacia a largo plazo, de los corticoesteroides en enfermedades articulares y de la columna vertebral aparece si además se administra un antagonista de citocina como el suero autólogo Orthokine (IL-1 Ra natural) y anakinra (IL-1 Ra recombinante), particularmente en caso de administración local de agentes terapéuticos directamente en la articulación que se desea tratar. Una eficacia parecida y sorprendentemente buena de la combinación de estas sustancias activas se observó también en las enfermedades autoinmunes, en donde el efecto antiinflamatorio desempeña un papel principal. Igualmente, la eficacia de una terapia combinada con corticoesteroides y exosomas en enfermedades articulares y de la columna vertebral, como la artrosis, la artritis y las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, se mejora considerablemente administrando un antagonista de citocina de forma adicional. Sorprendentemente, en un tratamiento con el IL-1Ra recombinante, anakinra, la eficacia no se da hasta la combinación con un corticoesteroide. En el caso del IL-1Ra natural, suero autólogo Orthokine, es precisamente en las enfermedades inflamatorias donde se observa una mejora significativa de la eficacia. Una explicación posible de este hecho es que los antagonistas de citocina tienen un efecto anabólico y pueden anular el efecto catabólico perjudicial del corticoesteroide en las articulaciones afectadas. Por ello, además de los antagonistas de citocina, los corticoesteroides también se pueden combinar en el tratamiento de, por ejemplo, artrosis, de forma alternativa o adicional con factores de crecimiento anabólicos para lograr un efecto parecido. En general, el antagonista de citocina también se puede sustituir por un factor de crecimiento o combinar con un factor de crecimiento.

La composición farmacéutica según la invención (según el cuarto aspecto de la presente invención) que contiene un antagonista de citocina y/o un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide y exosomas puede destinarse a una administración simultánea, por un lado, y a una administración secuencial, por el otro, del antagonista de citocina y/o del factor de crecimiento, de los exosomas y del corticoesteroide. Se prefiere una administración simultánea, particularmente solo en una formulación. Así, el antagonista de citocina y/o el factor de crecimiento se pueden, por ejemplo, mezclar en una relación adecuada con un corticoesteroide y exosomas antes de una administración al paciente y, después, administrarse como una formulación. De forma alternativa, en caso de administración simultánea, también se pueden administrar el antagonista de citocina y/o el factor de crecimiento, los exosomas, o bien el corticoesteroide por separado y mezclar los otros componentes como una formulación. No obstante, el antagonista de citocina y/o el factor de crecimiento, los exosomas y el corticoesteroide también se pueden administrar de forma secuencial en un orden arbitrario, o bien administrar una de estas sustancias activas en otro momento, distinto del de las otras dos. En una administración secuencial, las distintas sustancias activas se administran preferentemente en un espacio de tiempo de una semana, preferentemente, de 5 días, 3 días, un día o de 12 horas.

En las otras composiciones farmacéuticas según la invención, al igual que en el kit según la invención y en el uso según la invención (primero, segundo, tercer, quinto, sexto y séptimo aspecto de la presente invención), es posible la presencia o la ausencia de un antagonista de citocina en la composición farmacéutica. Se prefiere la presencia de un antagonista de citocina. Además, la terapia combinada según la invención es preferentemente una terapia combinada junto con un antagonista de citocina, particularmente en los casos en los que en la propia composición farmacéutica está ausente un antagonista de citocina (véase más arriba).

El antagonista de citocina utilizado según la invención puede ser cualquier sustancia o cualquier mezcla de sustancias que disminuya o inhiba una, o preferentemente, prácticamente todas las actividades biológicas de una o de varias citocinas en el cuerpo del paciente. Así, el efecto antagonista puede suceder de forma directa mediante el antagonista o de forma indirecta, por ejemplo, activando o inhibiendo otras vías de señalización que influyen por su parte en la actividad biológica de la citocina. Preferentemente, la actividad biológica de la citocina se inhibe bloqueando su interacción con uno o varios de los receptores a los que se puede unir. Ello se puede alcanzar, por ejemplo, uniéndose competitivamente el antagonista al o a los receptores correspondientes o uniéndose el antagonista a la propia citocina. Preferentemente, el antagonista de citocina inhibe el efecto de la citocina IL-1.

El antagonista de citocina puede ser, por ejemplo, una proteína, un péptido, un ácido nucleico, un lípido o un compuesto orgánico. Del mismo modo, el antagonista de citocina puede estar formado por una mezcla de dos o más antagonistas de citocina como se describen en la presente memoria. Particularmente, el antagonista de

citocina puede ser un péptido o una proteína existente de forma natural, o bien un péptido o una proteína producido de forma recombinante. Además, el antagonista de citocina puede ser o contener un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo, particularmente, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se puede unir a la citocina en cuestión o a un receptor de citocina. Ejemplos de antagonistas de citocina adecuados son los antagonistas de interleucina, particularmente, los antagonistas de IL-1, como el IL-1Ra, los antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF), particularmente, un antagonista del TNF- α , como un anticuerpo anti-TNF- α , antagonistas de interferón y antagonistas de quimiocina. Especialmente preferida es una proteína IL-1 Ra existente de forma natural o recombinante, preferentemente, una IL-1 Ra humana. El IL-1Ra comprende preferentemente o se compone preferentemente de la secuencia de aminoácidos de una isoforma o de un homólogo del IL-1 Ra humano según las SEQ ID NOs: 1, 2, 3, 4 o 5, una isoforma de la IL-1 Ra equina según las SEQ ID NOs: 6, o 7, o una isoforma de la IL-1 Ra canina según la SEQ ID NOs: 8.

Además, según la invención se pueden utilizar fragmentos o derivados de IL-1Ra como antagonistas de citocina, siempre y cuando estos puedan ejercer la función deseada, es decir, disminuir o inhibir una o varias funciones biológicas de IL-1. Preferentemente, los fragmentos de IL-1 Ra comprenden al menos 20, más preferiblemente, al menos 40, 60, 80 o, al menos, 100 aminoácidos de una secuencia IL-1Ra natural. Preferentemente, los fragmentos son fragmentos secretados de IL-1Ra existentes de forma natural. En una realización, el IL-1Ra comprende los aminoácidos 26 a 177 del IL-1Ra humano, preferentemente, los aminoácidos 26 a 177 de la secuencia SEQ ID NO: 1. Preferentemente, los derivados de IL-1Ra son homólogos al IL-1Ra natural y tienen preferiblemente una homología o identidad con el IL-1Ra natural de al menos el 60 %, más preferiblemente, de al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % y 95 %, y lo más preferiblemente, de al menos el 98 % en un alcance de al menos 20 aminoácidos contiguos, preferiblemente, al menos 40, 60, 80 o al menos 100 aminoácidos contiguos, lo más preferiblemente, por toda la longitud del IL-1Ra. Particularmente preferibles son el IL-1Ra aislable de muestras biológicas naturales, como sangre, también conocida como Orthokine, así como el fragmento de IL-1Ra con los aminoácidos 26 a 177 del IL-1Ra humano, también conocido como anakinra. La obtención de Orthokine se describe en las solicitudes de patente WO 00/46249 A1 y WO 03/080122 A1, entre otras. El anakinra, así como otros antagonistas de IL-1 que se pueden utilizar en esta invención se describen en la solicitud de patente EP 0 343 684 A1, entre otras.

En la obtención de IL-1Ra de muestras biológicas naturales, como sangre, como por ejemplo, en el caso del suero autólogo Orthokine, la solución de IL-1Ra obtenida contiene también preferentemente factores de crecimiento. Por ello, según la invención, también puede haber un antagonista de citocina en combinación con uno o varios factores de crecimiento o sustituirse por uno o varios factores de crecimiento. Preferentemente, el factor de crecimiento tiene según la invención un efecto anabólico. Ejemplos de factores de crecimiento adecuados son TGF- β , IGF, BMP, HGF y VEGF. También se comprenden análogos, derivados y fragmentos de estos factores de crecimiento, siempre y cuando presenten el efecto deseado, esto es, particularmente su efecto como factor de crecimiento.

El corticoesteroide utilizado según la invención puede ser un corticoesteroide cualquiera, que exista de forma natural, así como un corticoesteroide producido de forma sintética. Particularmente, puede ser un glucocorticoide, un mineralocorticoide o un andrógeno, en donde se utilizan preferiblemente glucocorticoides. Igualmente, se puede utilizar una mezcla de dos o más corticoesteroides como se describe en la presente memoria. Ejemplos de glucocorticoides son cortisona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona, cloprednol, deflazacort, fluocortina, triamcinolona, dexametasona, metilprednisolona, fluprednisolona, clocortolona, clobetasona, alclometasona, flumetasona, fluprednido, fluorandrenolona, betametasona, beclometasona, fluocortolona, mometasona, fluticasona, halometasona, fluocinolona, diflorasona, desoximetasona, fluocinónida, amcinónida, halcinónida, diflucortolona, clobetasol y parametasona. Ejemplos de mineralocorticoides son aldosterona, desoxicorticosterona y fludrocortisona, y ejemplos de los andrógenos son la dehidroepiandrosterona (DHEA) y los estrógenos. El corticoesteroide puede utilizarse como compuesto libre o en forma de una sal, un éster o un profármaco. En realizaciones preferidas, el corticoesteroide utilizado es triamcinolona, cortisona, hidrocortisona, prednisolona o prednisona.

Los exosomas de las composiciones farmacéuticas que contienen exosomas según la invención o del kit según la invención se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas. La concentración se efectúa preferentemente mediante una etapa de centrifugación con al menos 100 000 g, puesto que las aceleraciones centrífugas tan altas son especialmente adecuadas para concentrar exosomas. Preferentemente, esta etapa se desarrolla durante al menos 30 min, particularmente, al menos 60 min, puesto que la concentración en ese caso es especialmente efectiva.

La etapa de preparar una muestra de sangre que contiene exosomas comprende preferentemente las etapas de: preparar una muestra de sangre extraída de un paciente; opcionalmente, añadir un aditivo potenciador de la formación de exosomas e incubar la muestra de sangre en un recipiente adecuado para la producción de exosomas. La incubación provoca la formación de una composición sanguínea condicionada. Para la producción de exosomas son adecuados recipientes como, por ejemplo, jeringuillas, tubos, como, por ejemplo, tubos de vacío, placas microtituladoras y bolsas de transfusión. En los recipientes adecuados para la producción de exosomas, la superficie de contacto con la muestra de sangre comprende preferentemente vidrio, plástico (p. ej., poliestireno),

cloruro de polivinilo, polietileno o polipropileno), corindón o cuarzo, y se compone preferiblemente de uno de estos materiales. Preferentemente, a estos recipientes se les añaden aditivos expansores de superficie de vidrio, plástico, corindón o cuarzo, como esferas, geles, lanas, harina, granulados o partículas para la producción de exosomas. Preferentemente, el aditivo que potencia la formación de exosomas es IL-1Ra. Preferiblemente, el aditivo que potencia la formación de exosomas se emplea en una cantidad de 1 a 20 µg por ml de sangre completa.

En las composiciones farmacéuticas según la invención para su uso en una terapia combinada junto con exosomas se da la circunstancia de que los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre. Preferentemente, los exosomas son autólogos o alogénicos en relación con el paciente que se desea tratar. En cuanto a la obtención de los exosomas, se hace referencia a las formas de realización que se acaban de exponer para la producción de exosomas. Preferentemente, la etapa de centrifugación descrita más arriba se desarrolla a, al menos, 100 000 g (preferentemente, al menos durante 30 min, particularmente, al menos 60 min) para el tratamiento de una afección en la que se necesite una mayor concentración de exosomas, preferiblemente, dado el caso, en el tratamiento de la artritis reumatoide. Muy preferiblemente, se desarrolla una etapa de centrifugación de este tipo generalmente en el caso de que la terapia combinada incluya exosomas que se han obtenido de una muestra de sangre del paciente.

Por consiguiente, las formas de realización más detalladas para producir exosomas expuestas más arriba se aplican al método según la invención para producir una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide y exosomas que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas; preferentemente, concentrar los exosomas y mezclar con un corticoesteroide. La mezcla puede efectuarse de cualquier manera conocida por el experto.

En algunas formas de realización (dado el caso, preferidas), las composiciones farmacéuticas según la invención o el kit según la invención se destinan al tratamiento de enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartílago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes. La artrosis que se desea tratar puede haberse causado por sobreesfuerzos, tener causas congénitas o traumáticas, o ser el resultado de otra enfermedad, como una inflamación. Preferentemente, la artrosis que se desea tratar es una artrosis activa o una artrosis inflamatoria. Las composiciones farmacéuticas según la invención se pueden emplear en cualquier articulación para el tratamiento de la artrosis y la artritis, por ejemplo, en la articulación de la rodilla, la articulación de la cadera, el tobillo, la articulación del hombro, las articulaciones intervertebrales, las articulaciones de los dedos de las manos, la articulación del codo, las articulaciones de los dedos de los pies, la articulación temporomandibular y la muñeca. La artritis que se desea tratar puede ser una artritis infecciosa, como una artritis bacteriana, o una artritis no infecciosa, como, dado el caso, la artritis reumatoide, o bien una artritis psoriásica o una artritis gotosa. De forma alternativa, las composiciones farmacéuticas según la invención y/o el kit según la invención también se pueden destinar a su uso en el tratamiento de una afección distinta de una o varias de las afecciones nombradas (por ejemplo, la artritis reumatoide). La enfermedad degenerativa de la columna vertebral que se desea tratar puede ser, por ejemplo, una hernia discal. Las enfermedades autoinmunes incluyen, entre otras, enfermedades autoinmunes de las articulaciones, como por ejemplo, la enfermedad de Bechterew, dado el caso, la artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico, así como otras enfermedades autoinmunes, como particularmente, la neurodermitis y la alopecia areata (pérdida del cabello en parches circulares).

Preferentemente, las composiciones farmacéuticas según la invención o el kit según la invención son adecuados para la administración local. Preferiblemente, están previstas para la administración local. Por ello, en formas de realización preferidas, se designan para inyectarse, particularmente, para inyectarse en la parte del cuerpo que se va a tratar, particularmente, en la articulación afectada, en la raíz nerviosa afectada o en el disco intervertebral afectado. Así pues, la composición farmacéutica está prevista para inyectarse de forma intraarticular y/o perirradicular. De forma alternativa, las composiciones farmacéuticas según la invención pueden estar formuladas para una administración tópica, particularmente, como crema o gel, o para una administración sistémica, particularmente, una administración en forma de comprimidos, cápsulas o pastillas. El tipo de administración depende, entre otros, de la afección que se desea tratar. Así, en el caso de una artrosis local o de una enfermedad degenerativa de la columna vertebral es preferible una administración local de las composiciones farmacéuticas según la invención. En formas de realización preferidas, las composiciones farmacéuticas según la invención o el kit según la invención están previstas o son adecuadas exclusivamente para una administración distinta de una administración sistémica.

Las composiciones farmacéuticas según la invención se formulan de manera adecuada para las distintas vías de administración, de una forma conocida por el experto. Así, una composición farmacéutica adecuada para una inyección se encuentra preferentemente en forma de solución o dispersión, o bien en estado seco, p. ej., en polvo o liofilizado que se tiene que disolver en un disolvente adecuado, como el agua, antes de la inyección. Las composiciones farmacéuticas según la invención contienen los exosomas y/o el corticoesteroide en cantidades eficaces desde un punto de vista terapéutico. Preferentemente, el corticoesteroide está en una concentración de 1 a 80 mg/dosis, más preferiblemente, de 5 a 40 mg/dosis, en la composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide. Preferentemente, un antagonista de citocina, dado el caso, presente, está en una concentración

de 0,5 a 150 mg/dosis en las composiciones farmacéuticas que contienen antagonista de citocina. Sin embargo, también puede estar en concentraciones considerablemente más bajas, como por ejemplo, 1 ng/dosis o más, por ejemplo, entre 1 y 1000 ng/dosis. Estas concentraciones de dosis tan bajas se pueden utilizar particularmente en una combinación con factores de crecimiento y/o en preparados naturales de IL-1Ra, como por ejemplo, en composiciones con suero autólogo Orthokine. Las concentraciones de dosis más elevadas son preferibles, por ejemplo, en antagonistas de citocina producidos de manera recombinante, como el anakinra. Además, las composiciones farmacéuticas según la invención también pueden contener uno o más vehículos y/o uno o más excipientes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden destinarse a un tratamiento de pacientes que ya han sido sometidos a otro tratamiento de la afección en cuestión, esto es, por ejemplo, de una artrosis, una artritis y/o una enfermedad degenerativa de la columna vertebral, particularmente si este otro tratamiento no tuvo éxito o si los síntomas de la enfermedad han vuelto, al menos parcialmente, pese a un tratamiento inicial satisfactorio. En formas de realización preferidas, este otro tratamiento es una terapia con exosomas, pero sin ningún corticoesteroide, o una terapia con un corticoesteroide, particularmente, un glucocorticoide como se ha descrito anteriormente, pero sin exosomas.

Los pacientes en el sentido de la invención pueden ser tanto personas como animales que padezcan una de las afecciones descritas en la presente memoria. Así pues, las composiciones farmacéuticas según la invención pueden ser adecuadas para el tratamiento de una persona y/o un animal, como por ejemplo, un perro, un gato, un caballo, un buey, un cerdo, una cabra, un camello o similar.

20 Breve descripción de las figuras

Las Figs. 1A a 1C muestran fotografías de los pies de un paciente con neurodermitis, cuyo caso se expone más abajo como el caso IX (Ejemplo 4).

La Fig. 1A reproduce los cambios dermatológicos en los dos pies inmediatamente antes del tratamiento con exosomas y triamcinolona.

25 La Fig. 1B muestra el estado una semana después del tratamiento en el pie derecho.

La Fig. 1C muestra el estado una semana después del tratamiento en el pie izquierdo.

Ejemplos

A continuación se describen distintos estudios de caso de pacientes con artrosis avanzada. Estos se trataron con una terapia combinada de un antagonista de citocina (p. ej., IL-1Ra recombinante, IL-1Ra recombinante u obtenida de muestras de sangre autólogas) y un corticoesteroide.

Abreviaturas:

dcho.	derecho
izdo.	izquierdo
AL	a ambos lados
35 RI	rotación interna
RE	rotación externa
EVA	escala visual análoga para valoración de la intensidad del dolor (0 a 10)
WOMAC	cuestionario del paciente de artrosis
40 PCR	proteína C-reactiva, un marcador de la inflamación detectable en la sangre
AF	articulación femoral

Terapia con suero autólogo Orthokine y cortisona en artrosis:

Número de pacientes: N = 129
 Periodo de seguimiento medio: 3 meses
 Reducción del dolor medio: 71 % (es decir, reducción de un 100 % de dolor antes del tratamiento a un 29 % después del tratamiento)
 se aprecia una aparición más rápida del efecto

1. Administración local de anakinra y cortisona y exosomas

Caso I: T., 56 años, mujer

Diagnóstico: Desde un punto de vista clínico y radiológico existe gonartrosis medial y retropatelar izda., grado IV. Ya se había planificado una sustitución total de la rodilla izquierda;

Terapia: 3 inyecciones de exosomas combinadas con anakinra y 10 mg de triamcinolona en la rodilla izquierda (2 veces por semana) evitando una operación de rodilla.

5 *Resultado:* En el momento de la 3.^a inyección, mejora del dolor del 100 %, clara mejoría de las funciones. Se canceló la fecha de la operación, y la paciente no sufría ningún dolor 5 meses después de la terapia.

2. Administración local de anakinra y cortisona y suero autólogo Orthokine

Caso II: L., 57 años, hombre

10 *Diagnóstico:* Fuertes dolores de hombro izdo. desde hace 6 meses (EVA 8); desde entonces, interrupción significativa del sueño nocturno. El paciente apenas pudo dormir en los últimos 6 meses, lo que también alteró su bienestar general. Las numerosas inyecciones de cortisona en el hombro izquierdo resultaron ineficaces. Se acordó una fecha de operación para el hombro izquierdo. En este caso, se pretendía llevar a cabo un intento de evitar la cirugía. Desde un punto de vista radiológico y clínico, muestras de rotura parcial del manguito rotador y de estrechamiento del espacio subacromial con entumecimiento de todo el hombro izquierdo; falta de sensibilidad en el brazo izquierdo con debilidad de la fuerza de la mano y el antebrazo izquierdos, grado 4.

15 *Terapia:* Las inyecciones se aplicaron de forma dorsal y lateral en el hombro izquierdo. Se aplicaron 2 ml de Orthokine con 10 mg de anakinra y 10 mg de triamcinolona en el hombro izquierdo mediante una jeringuilla. La terapia se desarrolló durante 4 días consecutivos.

20 *Resultado:* Ya en el 2.^o día de tratamiento, el paciente mostró una mejoría del dolor extrema, con una reducción del dolor del 90 %. La EVA había bajado de 8 a 1, y el hombro se podía mover libre y con normalidad. Por primera vez en 6 meses, el paciente pudo dormir toda la noche ininterrumpidamente. Debido a ello, el paciente había mejorado significativamente su bienestar general. Continuación de la terapia hasta el día de tratamiento 4. Se siguió mostrando una mejora significativa sin cambios como en el día de tratamiento 2, y en el seguimiento, 6 meses después del tratamiento, continuaron los resultados positivos. Se canceló la operación, la movilidad era libre, el paciente puede volver a levantar maletas y libros por encima de la altura de los hombros sin problemas.

Caso III: F., 45 años, mujer

30 *Diagnóstico:* Completo entumecimiento del hombro derecho desde aprox. 8 meses. Todas las terapias hasta el momento habían resultado insatisfactorias y se había planificado una operación. La paciente quería probar el nuevo tratamiento conservador. Desde hacía algunas semanas, imposibilidad de conciliar el sueño. Dolores de hombro incipientes en la parte izquierda. No obstante, hallazgo principal en el hombro derecho, con EVA 9 con ataques severos agudos de hasta 10, por ello, empeoramiento del estado de salud en general.

Terapia: Tratamiento del hombro derecho con una combinación de 2 ml de Orthokine por separado, aplicado junto con otra jeringuilla con una combinación de 150 mg de anakinra y 5 mg de triamcinolona en 6 días consecutivos.

35 *Resultado:* A partir del 5.^o día, mejora del dolor en un 85 %. El sueño ininterrumpido se hizo posible desde el 2.^o tratamiento, con ello, mejora significativa del estado de salud general. Al final del tratamiento, EVA a 1. El seguimiento, 8 meses después del tratamiento, siguió mostrando un resultado muy bueno; se canceló la operación.

3. Exosomas incubados con IL-1Ra y triamcinolona/prednisolona

Caso IV: S., 25 años, hombre

40 *Diagnóstico:* Artritis reumatoide juvenil severa desde hace aprox. 15 años. Tratamiento con 25 mg de Enbrel 2 veces por semana, 10 mg de metotrexato, 5 mg de Decortin y naproxeno 2x1 al día. Sinovitis masiva y dolor de las dos AF y los dos hombros. Abducción de 60 grados de los dos hombros antes del tratamiento. Valor PCR del laboratorio: 5,35 (hasta 0,5 mg es normal); leucocitosis.

45 *Terapia:* Se extrajo sangre para producir exosomas en una jeringuilla de 6 ml (jeringuilla Orthokine). Después, 24 h de incubación a 37 grados, en donde antes del rellenado de la jeringuilla con sangre se aplicaron 1 mg de anakinra (IL-1Ra) y 2 mg de prednisolona en la jeringuilla. Tras distintas etapas de centrifugación (hasta 100 000 g) la mezcla se aplicó al paciente en las AF y en los hombros.

50 *Resultado:* Después de 3 días, reducción incipiente significativa de la hinchazón en las articulaciones. Control clínico y en laboratorio después de 9 días: Mejora del dolor en un 80 %, AF normal, sin hinchazón. Valor de PCR actual de 1,93. Mejora también en las otras articulaciones afectadas, a las que no se les aplicó inyección local. Mejora considerable de la calidad de vida en general. En el control, pasados 3 meses, continuó la situación estable. EVA de 9 antes del tratamiento, y desde la primera semana de tratamiento, después de la inyección, EVA 3. Paciente muy satisfecho, puede continuar con su trabajo.

4. Inyección de exosomas y triamcinolona adicional en la inyección

Caso V: M., 64 años, mujer

AR severa y resistente a la terapia pase a terapia de base con prednisolona 15 mg p. d., Lantarel 20 mg p. s., Humira cada 2 semanas. La radiosinovioartesis en las muñecas mostró un efecto mínimo, inyecciones intraarticulares con dosis de entre 10 mg y 40 mg de triamcinolona mostraron un efecto muy débil (mejora del dolor de un 20 % después de una semana) tanto en el dolor como en los parámetros de inflamación. Cuando el paciente se presentó a la terapia de exosomas, PCR de 120 mg/l a pesar de la terapia de base descrita anteriormente, presentaba dolores muy fuertes en las manos y en los dos hombros. Desarrollo de una inyección de exosomas (tras incubación con IL-1Ra) y agregación de 20 mg de cantidad total de triamcinolona en las articulaciones metacarpofalángicas 2 a 5 AL y en los dos hombros. En consecuencia, fuerte mejora clínica (reducción del dolor en un 80 % después de 1 semana) que comenzó después de 2 días y que persiste de forma continua durante 3 meses. Control con PCR después de 3 meses, PCR de 42,6 mg/l, terapia de base no modificada, con lo que el efecto se debe atribuir a la combinación de exosomas con triamcinolona. Dosis más elevadas de triamcinolona aislada como se describe más arriba no mostraron efectos comparables.

Caso VI: M., 25 años, hombre

Artritis psoriásica conocida; terapia de base de 5 mg de prednisolona y 10 mg de MTX; problema principal en terapia de base hinchazones todavía significativos en la rodilla izquierda con sinovitis e hinchazón de 2 cm en comparación con el lado opuesto. Además, hinchazón en la zona de las muñecas pese a desarrollo de terapia de base. Las inyecciones intraarticulares de cortisona en la rodilla y en las muñecas en dosis de entre 20 y 40 mg mostraron únicamente un efecto muy débil durante algunos días, con reducciones del dolor de entre el 10 y el 30 %. Presentación a la terapia de exosomas, PCR de 5,6 mg/l inmediatamente antes de la inyección. Tras preparación de los exosomas, aplicación de exosomas (producidos tras la incubación con IL-1Ra como se describe) en la rodilla izquierda (exosomas + triamcinolona 10 mg) y en las articulaciones metacarpofalángicas 2+3 AL (exosomas con 2 mg de triamcinolona por cada articulación). Transcurso sin complicaciones, tras unos días, alivio significativo del dolor de un 90 %; pasados 3 meses, PCR de 3,0 mg/l; pasada 1 semana, rodilla completamente exenta de hinchazón, ninguna diferencia entre los lados: los 5 mg de prednisolona se pudieron suspender completamente en el marco de la terapia de base, puesto que el efecto de la inyección intraarticular de exosomas y triamcinolona fue permanente.

Caso VII: R., 32 años, hombre

Alopecia completa conocida desde hace años, todos los intentos de terapia, incluida la aplicación sistémica y local de cortisona en altas dosis sistémicas y locales (de 10 a 80 mg de prednisolona) sin efecto: Presentación al tratamiento con exosomas. Producción de los exosomas con la técnica descrita más arriba, inyección intramuscular única de los exosomas junto con 10 mg de triamcinolona. Controles de seguimiento sin hallazgos, después de 3 meses, detección de crecimiento del pelo en aproximadamente la mitad del área cubierta originalmente de pelo antes de la enfermedad.

Caso VIII: H., 47 años, hombre

Gonartrosis dcha. con anomalías en el cartílago verificado mediante artroscopia grado 2 a 4 según Outerbridge. El paciente desea posponer una operación y una sustitución articular. Inyección intraarticular de triamcinolona en anamnesis en dosis de 10 a 40 mg sin ningún tipo de efecto. Inyección de 1 ml de exosomas producidos por la técnica descrita tras incubación con IL-1Ra. Inyección intraarticular única de 2 ml de exosomas, después de 4 semanas, paciente insatisfecho con efecto clínico en relación con el dolor y la función. En consecuencia, decisión de efectuar una inyección intraarticular en la rodilla derecha combinada con 10 mg de triamcinolona. Transcurso sin complicaciones. Después de 1 semana, mejora del dolor de un 95 %, función completamente reestablecida, el paciente puede volver a participar en un partido de tenis por primera vez desde hace años.

Caso IX: J., 27 años, hombre

Neurodermitis severa probada dermatológicamente con grandes cambios sobre todo en la zona de las manos y de los pies. Todas las terapias dermatológicas conocidas mostraron no proporcionar ninguna mejoría duradera, particularmente, solo se observó un efecto momentáneo de 1 semana después de la aplicación local de corticoesteroides y la aplicación sistémica de prednisolona y triamcinolona de forma intramuscular en dosis de 80 mg. Producción de exosomas por la técnica descrita, aplicación intramuscular; después de 3 semanas, ningún efecto satisfactorio en las alteraciones de la piel ni en la afección. En consecuencia, intento de aplicación intramuscular de 2 ml de exosomas junto con 20 mg de triamcinolona. Pasadas 2 semanas, mejoría significativa que perdura sin cambios durante 6 meses. Después, ligero empeoramiento, pero, después de todo, mejoría en comparación con el examen preliminar. La Fig. 1A describe los cambios dermatológicos en los dos pies inmediatamente antes del tratamiento; las Figs. 1B y 1C, una semana después del tratamiento en el pie derecho y en el izquierdo, respectivamente.

Caso X: B., 69 años, mujer

ES 2 594 766 T3

5 Artritis Bechterew severa con iridociclitis en el ojo izquierdo. La paciente recibe prednisolona y MTX en dosificaciones cambiantes como terapia de base. PCR de 20,3 mg/l; AF izquierda con hinchazón significativa de +2 cm frente al otro lado; articulación metacarpofalángica izquierda y articulación distal 1. Dedo significativamente hinchado y doloroso a la izquierda, hombro derecho hinchado, doloroso, abducción reducida en 30 grados frente a la normal. En consecuencia, inyección de exosomas por la técnica conocida en la articulación afectada sin reducción del dolor ni reducción de PCR, en consecuencia, inyección de triamcinolona en una dosis total de 40 mg en todas las articulaciones afectadas, mejora ligera del 20 % durante 1 semana. Después de 4 semanas, inyección de exosomas y de triamcinolona en una dosis total de 20 mg, en consecuencia, mejoría del hombro en un 80 %, mejoría de los dedos en un 50 % con reducción de la hinchazón de 8,2 cm de circunferencia del pulgar izquierdo a 10 articulación metacarpofalángica de 6,6 cm. Todavía ningún efecto claro en el tobillo. PCR reducido de 20,3 mg/l a 2,9 mg/l en 1 semana.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Orthogen AG

<120> Preparados de combinación con corticoesteroides y exosomas

15 <130> 52 253 K

<160> 8

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

20 <211> 177

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 594 766 T3

Met Glu Ile Cys Arg Gly Leu Arg Ser His Leu Ile Thr Leu Leu Leu
 1 5 10 15

Phe Leu Phe His Ser Glu Thr Ile Cys Arg Pro Ser Gly Arg Lys Ser
 20 25 30

Ser Lys Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe
 35 40 45

Tyr Leu Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn
 50 55 60

Val Asn Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro His Ala
 65 70 75 80

Leu Phe Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser Cys Val Lys
 85 90 95

Ser Gly Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp
 100 105 110

Leu Ser Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe Ile Arg Ser
 115 120 125

Asp Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp
 130 135 140

Phe Leu Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser Leu Thr Asn
 145 150 155 160

Met Pro Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp
 165 170 175

Glu

<210> 2
 <211> 159
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

ES 2 594 766 T3

Met Ala Leu Glu Thr Ile Cys Arg Pro Ser Gly Arg Lys Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe Tyr Leu
 20 25 30

Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn Val Asn
 35 40 45

Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro His Ala Leu Phe
 50 55 60

Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser Cys Val Lys Ser Gly
 65 70 75 80

Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp Leu Ser
 85 90 95

Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe Ile Arg Ser Asp Ser
 100 105 110

Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp Phe Leu
 115 120 125

Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser Leu Thr Asn Met Pro
 130 135 140

Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp Glu
 145 150 155

<210> 3

<211> 180

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

5

ES 2 594 766 T3

Met Ala Leu Ala Asp Leu Tyr Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Gly Glu
 1 5 10 15

Gly Glu Asp Asn Ala Asp Ser Lys Glu Thr Ile Cys Arg Pro Ser Gly
 20 25 30

35 40 45

Lys Thr Phe Tyr Leu Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln
 50 55 60

Gly Pro Asn Val Asn Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu
 65 70 75 80

Pro His Ala Leu Phe Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser
 85 90 95

Cys Val Lys Ser Gly Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn
 100 105 110

Ile Thr Asp Leu Ser Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe
 115 120 125

Ile Arg Ser Asp Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys
 130 135 140

Pro Gly Trp Phe Leu Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser
 145 150 155 160

Leu Thr Asn Met Pro Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe
 165 170 175

Gln Glu Asp Glu
 180

<210> 4
 <211> 143
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4

5

ES 2 594 766 T3

Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe Tyr Leu
 1 5 10 15

Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn Val Asn
 20 25 30

Leu Glu Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro His Ala Leu Phe
 35 40 45

Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser Cys Val Lys Ser Gly
 50 55 60

Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp Leu Ser
 4 65 70 75 80
 Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe Ile Arg Ser Asp Ser
 85 90 95

Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp Phe Leu
 100 105 110

Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser Leu Thr Asn Met Pro
 115 120 125

Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp Glu
 130 135 140

5
 <210> 5
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 5

ES 2 594 766 T3

Met Val Leu Ser Gly Ala Leu Cys Phe Arg Met Lys Asp Ser Ala Leu
 1 5 10 15

Lys Val Leu Tyr Leu His Asn Asn Gln Leu Leu Ala Gly Gly Leu His
 20 25 30

Ala Gly Lys Val Ile Lys Gly Glu Glu Ile Ser Val Val Pro Asn Arg
 35 40 45

Trp Leu Asp Ala Ser Leu Ser Pro Val Ile Leu Gly Val Gln Gly Gly
 50 55 60

Ser Gln Cys Leu Ser Cys Gly Val Gly Gln Glu Pro Thr Leu Thr Leu
 65 70 75 80

Glu Pro Val Asn Ile Met Glu Leu Tyr Leu Gly Ala Lys Glu Ser Lys
 85 90 95

Ser Phe Thr Phe Tyr Arg Arg Asp Met Gly Leu Thr Ser Ser Phe Glu
 100 105 110

Ser Ala Ala Tyr Pro Gly Trp Phe Leu Cys Thr Val Pro Glu Ala Asp
 115 120 125

Gln Pro Val Arg Leu Thr Gln Leu Pro Glu Asn Gly Gly Trp Asn Ala
 130 135 140

Pro Ile Thr Asp Phe Tyr Phe Gln Gln Cys Asp
 145 150 155

<210> 6
 <211> 177
 <212> PRT
 <213> Equus caballus
 <400> 6

5

ES 2 594 766 T3

Met Glu Ile Arg Arg Arg Ser Val Arg His Leu Ile Ser Leu Leu Leu
 1 5 10 15

Phe Leu Phe Tyr Ser Glu Thr Ala Cys His Pro Leu Gly Lys Arg Pro
 20 25 30

Cys Lys Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe
 35 40 45

Tyr Met Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Glu Ser Asn
 50 55 60

Thr Lys Leu Gln Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro Asp Ala
 65 70 75 80

Leu Phe Leu Gly Leu His Gly Arg Lys Leu Cys Leu Ala Cys Val Lys
 85 90 95

Ser Gly Asp Glu Ile Arg Phe Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp
 100 105 110

Leu Ser Lys Asn Lys Glu Glu Asn Lys Arg Phe Thr Phe Ile Arg Ser
 115 120 125

Asn Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp
 130 135 140

Phe Leu Cys Thr Ala Gln Glu Ala Asp Arg Pro Val Ser Leu Thr Asn
 145 150 155 160

Lys Pro Lys Glu Ser Phe Met Val Thr Lys Phe Tyr Leu Gln Glu Asp
 165 170 175

Gln

<210> 7
 <211> 177
 <212> PRT
 <213> Equus caballus

<400> 7

Met Glu Ile Arg Arg Arg Ser Val Arg His Leu Ile Ser Leu Leu Leu
 1 5 10 15

5

ES 2 594 766 T3

Phe Leu Leu Tyr Ser Glu Thr Ala Cys His Pro Leu Gly Lys Arg Pro
 20 25 30
 Cys Lys Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe
 35 40 45
 Tyr Met Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Glu Ser Asn
 50 55 60
 Thr Lys Leu Gln Glu Lys Ile Asp Val Val Pro Ile Glu Pro Asp Ala
 65 70 75 80
 Leu Phe Leu Gly Leu His Gly Arg Lys Leu Cys Leu Ala Cys Val Lys
 85 90 95
 Ser Gly Asp Glu Ile Arg Phe Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp
 100 105 110
 Leu Ser Lys Asn Lys Glu Glu Asn Lys Arg Phe Thr Phe Ile Arg Ser
 115 120 125
 Asn Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp
 130 135 140
 Phe Leu Cys Thr Ala Gln Glu Ala Asp Arg Pro Val Ser Leu Thr Asn
 145 150 155 160
 Lys Pro Lys Glu Ser Phe Met Val Thr Lys Phe Tyr Leu Gln Glu Asp
 165 170 175

Gln

<210> 8
 <211> 176
 <212> PRT
 <213> Canis familiaris

<400> 8

ES 2 594 766 T3

Met Glu Thr Cys Arg Cys Pro Leu Ser Tyr Leu Ile Ser Phe Leu Leu
 1 5 10 15

Phe Leu Ser His Ser Glu Thr Ala Cys Arg Pro Leu Gly Lys Arg Pro
 20 25 30

Cys Arg Met Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe
 35 40 45

Tyr Leu Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Ser Asn
 50 55 60

Thr Lys Leu Glu Glu Lys Leu Asp Val Val Pro Val Glu Pro His Ala
 65 70 75 80

Val Phe Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Leu Cys Leu Ala Cys Val Lys
 85 90 95

Ser Gly Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp
 100 105 110

Leu Ser Lys Asn Lys Asp Gln Asp Lys Arg Phe Thr Phe Ile Leu Ser
 115 120 125

Asp Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp
 130 135 140

Phe Leu Cys Thr Ala Leu Glu Ala Asp Arg Pro Val Ser Leu Thr Asn
 145 150 155 160

Arg Pro Glu Glu Ala Met Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Lys Glu
 165 170 175

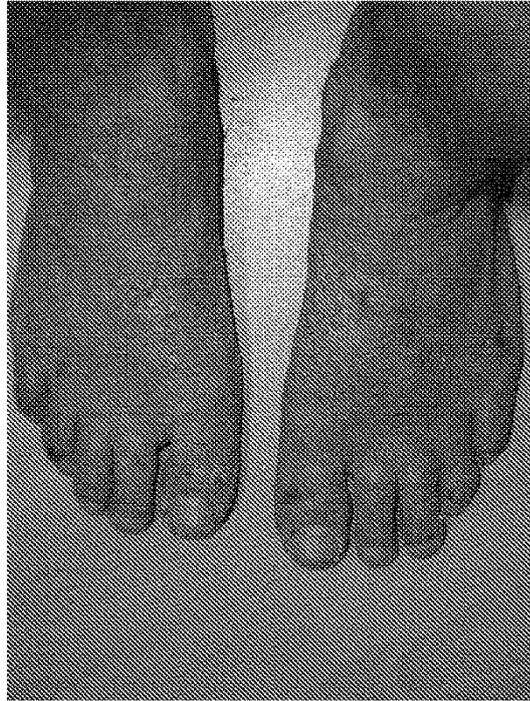
REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide junto con exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento, en donde los exosomas se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas.
- 10 2. Composición farmacéutica que contiene exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide en el tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartilago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas.
- 15 3. Composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con exosomas en el tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartilago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre.
- 20 4. Composición farmacéutica que contiene un antagonista de citocina y/o un factor de crecimiento para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide y exosomas en el tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartilago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre.
- 25 5. Kit que contiene (i) una composición farmacéutica que contiene exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento, y (ii) una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento, en donde los exosomas se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas.
- 30 6. Composición farmacéutica para su uso según una de las reivindicaciones 2 o 3, o kit según la reivindicación 5, en donde la o las composiciones farmacéuticas están previstas para una administración simultánea o secuencial de los exosomas y del corticoesteroide.
- 35 7. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el corticoesteroide es
- 40 (a) un glucocorticoide, como por ejemplo, cortisona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona, cloprednol, deflazacort, fluocortina, triamcinolona, dexametasona, metilprednisolona, fluprednisolona, clocortolona, clobetasona, alclometasona, flumetasona, fluoprednido, fluorandrenolonam betametasona, beclometasona, fluocortolona, mometasona, fluticasona, halometasona, fluocinolona, diflorasona, desoximetasona, fluocinónida, amcinónida, halcinónida, diflucortolona, clobetasol, parametasona;
- (b) un mineralocorticoide, como por ejemplo, aldosterona, desoxicorticosterona y fludrocortisona; o
- (c) un andrógeno, como por ejemplo, dehidroepiandrosterona (DHEA) y estrógenos;
- o una sal, un éster o un profármaco de los anteriores.
- 45 8. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 1, 3, 5, 6 o 7, en donde el corticoesteroide se encuentra en una concentración de 1 a 80 mg/dosis en la composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide.
9. Composición farmacéutica para su uso, o kit según una de las reivindicaciones 3, 4, 6, 7 u 8, en donde los exosomas son autólogos o alogénicos en relación con el paciente que tratar.
- 50 10. Composición farmacéutica o kit según una de las reivindicaciones 1 o 5 a 9 para su uso en el tratamiento de enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartilago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral y/o los dolores articulares.
11. Composición farmacéutica o kit para su uso según una de las reivindicaciones 2 a 4 o 6 a 10, en donde la artrosis es una artrosis activa o una artrosis inflamatoria.

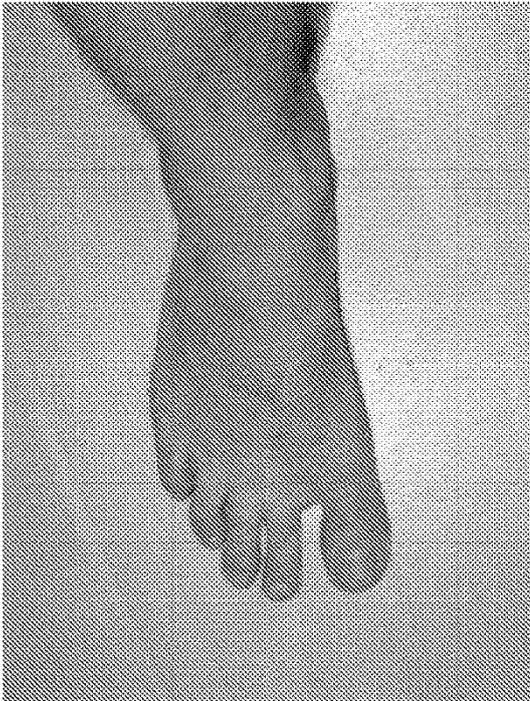
12. Composición farmacéutica o kit para su uso según una de las reivindicaciones 2 a 4 o 6 a 10, en donde la artritis es una artritis infecciosa, como una artritis bacteriana, o una artritis no infecciosa.
13. Composición farmacéutica o kit para su uso según una de las reivindicaciones 2 a 4 o 6 a 10, en donde la enfermedad degenerativa de la columna vertebral es una hernia discal.
- 5 14. Composición farmacéutica o kit según una de las reivindicaciones 1 o 5 a 9 para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmune.
15. Composición farmacéutica o kit para su uso según una de las reivindicaciones 2 a 4, 6 a 9 o 14, en donde la enfermedad autoinmune es una neurodermitis o una alopecia areata.
- 10 16. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 1 a 15, en donde la o las composiciones farmacéuticas son adecuadas para una administración local.
17. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según la reivindicación 16, en donde la administración local se selecciona del grupo formado por la inyección en la zona del cuerpo afectada, particularmente, en la articulación afectada, en la raíz nerviosa afectada o en el disco intervertebral afectado, o en el entorno local de los mismos; y administración tópica.
- 15 18. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 1 a 17, en donde la o las composiciones farmacéuticas también contienen un vehículo y/o un excipiente.
- 20 19. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 1 a 18, en donde está presente un antagonista de citocina y el antagonista de citocina se selecciona del grupo formado por antagonistas de interleucina, particularmente, los antagonistas de IL-1, como IL-1Ra, antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF), particularmente, un antagonista del TNF- α , como un anticuerpo anti-TNF- α , antagonistas de interferón y antagonistas de quimiocina.
20. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según la reivindicación 19, en donde el antagonista de citocina es una proteína IL-1 Ra existente de forma natural o recombinante, particularmente suero autólogo Orthokine o anakinra.
- 25 21. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 19 o 20, en donde el antagonista de citocina está en una concentración de 0,5 a 150 mg/dosis en la composición farmacéutica que contiene antagonista de citocina.
- 30 22. Composición farmacéutica, composición farmacéutica para su uso o kit según una de las reivindicaciones 1 a 21, en donde está presente un factor de crecimiento y el factor de crecimiento se selecciona del grupo formado por TGF- β , IGF, BMP, HGF y VEGF.
- 35 23. Uso de exosomas en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para producir una composición farmacéutica para su uso en una terapia combinada junto con un corticoesteroide en el tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartilago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se pueden producir mediante un método que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas y, preferentemente, concentrar los exosomas.
- 40 24. Utilización de un corticoesteroide en presencia o en ausencia de un antagonista de citocina y/o de un factor de crecimiento para producir una composición farmacéutica para su uso en una terapia combinada junto con exosomas en el tratamiento de una afección seleccionada del grupo formado por enfermedades articulares, como la artrosis, la artritis, la inflamación articular y la pérdida de cartilago inflamatoria, las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, los dolores articulares y las enfermedades autoinmunes, en donde la afección es distinta de la artritis reumatoide y los exosomas se han obtenido de una muestra de sangre.
- 45 25. Método para producir una composición farmacéutica que contiene un corticoesteroide y exosomas que comprende las etapas de: preparar una muestra de sangre que contenga exosomas; preferentemente, concentrar los exosomas y mezclar con un corticoesteroide.

Fig. 1

A



B



C

