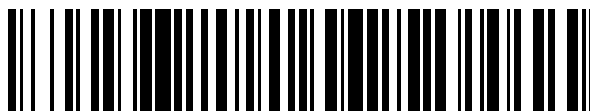


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 494**

51 Int. Cl.:

A61K 31/21 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.05.2012 E 12004187 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 2668947**

54 Título: **Inducción de arteriogénesis con un donador de óxido nítrico tal como nitroglicerina**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.06.2017

73 Titular/es:

**G. POHL-BOSKAMP GMBH & CO. KG (100.0%)
Kieler Strasse 11
25551 Hohenlockstedt, DE**

72 Inventor/es:

GORATH, MICHAELA

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 617 494 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

Inducción de arteriogénesis con un donador de óxido nítrico tal como nitroglicerina

5 La presente invención se refiere a nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso en un método de tratamiento o prevención de una insuficiencia arterial, en donde la nitroglicerina se administra lingualmente, sublingualmente, por inhalación, bucalmente, por vía transmucosa o por vía uromucosa de una manera intermitente en una cantidad efectiva para inducción de arteriogénesis, caracterizado porque la nitroglicerina se administra al menos una vez al día y al menos un día a la semana durante al menos dos semanas.

10 Las enfermedades cardiovasculares, así como otras enfermedades que implican una enfermedad cardiovascular y, más específicamente, la Insuficiencia arterial tienen una enorme importancia económica. En Alemania, por ejemplo, aproximadamente 280.000 pacientes sufren un infarto cardíaco al año, mientras que alrededor de 65.000 pacientes mueren. Una razón importante para una enfermedad cardiovascular es la oclusión parcial o completa de los vasos arteriales que resulta en un suministro reducido de oxígeno y nutrientes del tejido alimentado por el vaso arterial.

15 La angina pectoris, el dolor de pecho, es un síndrome clínico que refleja una insuficiencia de suministro de oxígeno para las demandas metabólicas del miocardio con isquemia resultante y es causada generalmente por obstrucción (estenosis) o espasmo de las arterias coronaria.

20 La arteriogénesis es un proceso en donde pueden desarrollarse arteriolas colaterales pequeñas ya preexistentes hasta arterias con conductancia funcional completa que eluden el sitio de una oclusión arterial y/o compensan el flujo sanguíneo a los territorios isquémicos generados por la insuficiencia de la arteria. En consecuencia, la arteriogénesis es un mecanismo endógeno muy efectivo para el mantenimiento y regeneración del flujo sanguíneo después de un evento oclusivo agudo o crónico en un vaso arterial. En este caso las colaterales pueden funcionar como desviaciones naturales.

25 La arteriogénesis es un proceso distinto de la angiogénesis o neovascularización, donde ocurre una formación de novo de vasos arteriales (Buschmann y Schaper, Journal of Pathology 2000, 190: 338-342).

30 La nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se utiliza desde décadas como agente vasodilatador en enfermedades cardiovasculares como enfermedad arterial coronaria (CAD, también enfermedad cardíaca isquémica o enfermedad coronaria), que es causa de muerte y discapacidad en todo el mundo.

35 La nitroglicerina se ha utilizado únicamente para tratar los síntomas de estas enfermedades, por ejemplo angina pectoris estable debido a su efecto vasodilatador sobre las venas y las arterias, lo que se traduce en una reducción de la carga de trabajo y del consumo energético del corazón (por disminución de la precarga y la poscarga), así como un aumento de la oferta de oxígeno miocárdico (por dilatación de las arterias coronarias). Estos síntomas incluyen dolor en el pecho, presión, malestar o disnea. No obstante, la nitroglicerina no se ha utilizado para curar la enfermedad subyacente o mejorar su pronóstico.

40 Por consiguiente, la nitroglicerina ha sido y se utiliza principalmente para el alivio agudo o la profilaxis de la angina pectoris, el síntoma más común de CAD.

45 En la técnica, se ha descrito que la nitroglicerina no es capaz de inducir la angiogénesis (neovascularización) o arteriogénesis en un entorno en donde esta sustancia se ha administrado continuamente (Hopkins et al., Journal of Vascular Surgery 27: 886 - 894 (1998); Troidl et al. Journal of Cardiovascular Pharmacology 55: 153 - 160 (2010)).

50 Existe una necesidad de proporcionar agentes para promover la circulación colateral.

El documento DE 10 2008 005 484 A1 (Schaper et al., 2009) se refiere a una administración continua de NONOatos donadores de NO, en particular a la administración de DETA-NONOato.

55 Cui et al. (2009) describe el papel de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) y el donador de óxido nítrico (NO) DETA-NONOato en la arteriogénesis después de un accidente cerebrovascular en ratones.

60 Kumar et al. (2008) se refiere a la inducción de la angiogénesis y la arteriogénesis en el contexto de la enfermedad de las arterias periféricas y divulga que la terapia crónica con nitrato de sodio aumenta la arteriogénesis y cambios suaves en el flujo sanguíneo del tejido isquémico

65 En un primer aspecto, la presente invención se refiere a nitroglicerina para uso en un método de tratamiento o prevención de una insuficiencia arterial, en donde se administra nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) de una manera intermitente a una manera efectiva para la inducción de la arteriogénesis, en donde la nitroglicerina se administra lingualmente, sublingualmente, por inhalación, bucalmente, por vía transmucosa u por vía uromucosa de una manera intermitente en una cantidad efectiva para la inducción de arteriogénesis, caracterizado porque la nitroglicerina se administra al menos una vez al día y al menos un día a la semana durante al menos dos semanas.

- En el contexto de la presente invención, se ha encontrado sorprendentemente que los donadores de NO son eficaces en la inducción de la arteriogénesis, incluso si no se administran constantemente, sino de una manera en donde los niveles plasmáticos solo son elevados durante un breve período de tiempo (véase la sección de ejemplo).
- 5 En consecuencia, la presente invención proporciona agentes efectivos para la promoción de la circulación colateral. Basándose en la conclusión de que los donadores de NO son capaces de inducir la arteriogénesis, la presente invención proporciona ahora una herramienta efectiva para prevenir y tratar una insuficiencia arterial.
- De acuerdo con la presente invención, el término "tratamiento" o "prevención" significa que no solo se alivian los síntomas de la enfermedad sino que también la enfermedad en sí misma es tratada o prevenida. En una realización preferida, el término "tratamiento" significa mejorar el pronóstico de dicha enfermedad.
- 10 De acuerdo con la invención, el término "insuficiencia arterial" se refiere a cualquier insuficiencia de suministro de sangre o de oxígeno o cualquier otro suministro insuficiente de un tejido que es proporcionado por una arteria. Esta insuficiencia de suministro puede sobrellevar métodos y usos de la presente invención en los que se usa nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para aumentar el suministro de un tejido dado. La insuficiencia arterial puede ocurrir tanto durante el reposo físico como durante un ejercicio.
- 15 En una realización preferida de la presente invención, la insuficiencia arterial se debe a insuficiencia de oxígeno o suministro de sangre de un tejido provisto por la arteria o una desviación o derivación durante el reposo físico o el ejercicio.
- De acuerdo con una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial se debe a un aumento de la demanda de oxígeno o el flujo sanguíneo de un tejido suministrado por la arteria o una desviación o derivación.
- 25 Este aumento de la demanda de oxígeno o flujo sanguíneo puede tener varias razones incluyendo, pero no limitándose a, un aumento en deporte o actividad física, y aumento de la actividad mental o una enfermedad que requiere una mayor demanda de oxígeno o flujo de sangre.
- 30 De acuerdo con una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial se caracteriza por una insuficiencia parcial (estenosis) o la oclusión completa de un vaso arterial. En el contexto de la presente invención, el término "oclusión parcial" es equivalente a una estenosis.
- La oclusión parcial o completa de un vaso arterial es un fenómeno bien conocido. Puede tener varias razones incluyendo pero no limitándose a deposición de material en los vasos sanguíneos (incluyendo estenosis no revascularizables), compresión a partir de tejido externo o fluido junto al vaso o una disfunción del endotelio del vaso que da lugar a una vasoconstricción paradójica durante el ejercicio.
- 35 En una realización preferida, la insuficiencia arterial se debe a la deposición de material en los vasos sanguíneos.
- La deposición de materiales en los vasos sanguíneos es un fenómeno bien conocido que resulta, por ejemplo en la aterosclerosis.
- 40 En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial se debe a una compresión externa o interna de una arteria.
- 45 Una compresión interna de una arteria puede ser debida a un edema, pero también a un tumor que presiona la arteria. Además, esto incluye una constricción vasoespástica de la arteria como por ejemplo en la angina de Prinzmetal. Además, esto también incluye la vasoconstricción paradójica que, por ejemplo a veces ocurre en una disfunción endotelial.
- 50 Una compresión externa puede ser debida a un accidente o a cualquier fuerza externa que pueda ejercer presión sobre una arteria.
- 55 En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial es una enfermedad vascular.
- De acuerdo con otra realización preferida, la insuficiencia arterial es una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en aterosclerosis, una enfermedad isquémica y un enfermedad arterial crónica adicional.
- 60 En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial coronaria.
- En una realización preferida, la insuficiencia coronaria es una insuficiencia arterial coronaria aterosclerótica, en particular una enfermedad coronaria (cardiopatía coronaria o cardiopatía isquémica), angina pectoris estable, angina pectoris inestable, isquemia miocárdica o isquemia miocárdica crónica, síndrome coronario agudo, o infarto de miocardio (ataque al corazón o infarto de miocardio isquémico).
- 65

En otra realización preferida, la insuficiencia coronaria es una enfermedad no aterosclerótica, en particular una enfermedad coronaria microvascular o de vasos pequeños, angina de Prinzmetal y síndrome cardiaco X.

En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial cerebral.

5 En una realización preferida, la insuficiencia arterial cerebral es una insuficiencia arterial cerebral aterosclerótica, en particular isquemia cerebral, preaccidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio (miniapoplejía), accidente cerebrovascular, demencia vascular, enfermedad isquémica cerebral o enfermedad cerebrovascular isquémica.

10 La insuficiencia arterial cerebral también puede ser enfermedad cerebral microvascular isquémica, demencia vascular de vasos pequeños, encefalopatía arteriosclerótica subcortical (enfermedad de Binswanger), enfermedad de Alzheimer o enfermedad de Parkinson.

En una realización preferida, la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial periférica.

15 En una realización preferida, la insuficiencia arterial periférica es una insuficiencia arterial periférica aterosclerótica, en particular una enfermedad vascular periférica (enfermedad arterial periférica (PAD) o enfermedad oclusiva de la arteria periférica (PAOD)).

20 En una realización preferida, la insuficiencia arterial periférica es una insuficiencia arterial periférica no aterosclerótica, en particular el síndrome de Raynaud (vasoespásmico), la trombangitis obliterans, la endangitis obliterans o la enfermedad de Buerger (inflamación progresiva recurrente y trombosis (coagulación) de pequeñas y medianas arterias y venas de manos y pies), enfermedad vascular inflamatoria (vasculitis), isquemia diabética, neuropatía diabética y síndromes compartimentales.

25 En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial puede ser una insuficiencia arterial intestinal, en particular una insuficiencia arterial intestinal aterosclerótica, en particular enfermedad isquémica intestinal, isquemia mesentérica o infarto mesentérico.

30 En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial puede ser una insuficiencia arterial urogenital, en particular una insuficiencia arterial urogenital aterosclerótica, en particular disfunción eréctil, enfermedad de la arteria renal, isquemia renal o infarto renal.

35 En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial puede ser una insuficiencia arterial nerviosa, en particular tinnitus.

Además, la insuficiencia arterial puede estar en el contexto de la esclerodermia (esclerosis sistémica).

40 En una realización preferida, la insuficiencia arterial es una insuficiencia central de la arteria retinal, en particular una insuficiencia arterial aterosclerótica central de la retina, en particular la insuficiencia arterial ocular.

En una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial se caracteriza por la ausencia de una disfunción endotelial.

45 La disfunción endotelial es un estado patológico sistémico bien conocido del endotelio y puede definirse ampliamente como un desequilibrio entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras producidas por o que actúan sobre el endotelio.

50 En otra realización preferida, la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial crónica. En el contexto de la presente invención, el término "insuficiencia arterial crónica" significa que el curso de la insuficiencia arterial es crónico y a menudo progrediente.

55 Según una realización preferida adicional, la insuficiencia arterial crónica incluye disfunción endotelial, aterosclerosis, enfermedad coronaria (enfermedad coronaria o cardiopatía isquémica), angina pectoris estable, enfermedad coronaria microvascular o enfermedad de vasos pequeños, angina de Prinzmetal y síndrome cardiaco X, demencia vascular, enfermedad isquémica del cerebro o enfermedad cerebrovascular isquémica, enfermedad cerebrovascular microvascular isquémica, demencia vascular de vasos pequeños, encefalopatía aterosclerótica subcortical (enfermedad de Binswanger), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad vascular periférica (enfermedad arterial periférica (PAD) enfermedad oclusiva arterial periférica (PAOD), thrombangiitis obliterans, endangitis obliterans o enfermedad de Buerger, enfermedad inflamatoria vascular (vasculitis), isquemia diabética, neuropatía diabética, enfermedad intestinal isquémica, disfunción eréctil, enfermedad arterial renal, tinnitus, y esclerodermia (esclerosis sistémica)).

65 El término "donador de NO se refiere tanto al propio óxido nítrico como a cualquier molécula que es capaz de liberar NO después de haber sido administrada a un sujeto.

El donador de NO puede ser óxido nítrico, nitroprusiato de sodio, nitroglicerina (trinitrato de glicerilo), mononitrato de isosorbida, dinitrato de isosorbida, tetranitrato de pentaeritritol (PETN), molsidomin, nitrito de amilo o nicorandilo.

Además, los donadores de NO se pueden seleccionar entre los siguientes:

- 5
- Inorgánico:
- 10 óxido nítrico
nitrito
nitrato
- Nitratos orgánicos:
- 15 GTN (trinitrato de glicerilo, nitroglicerina)
PETN (tetranitrato de pentaeritritol)
ISDN (dinitrato de isosorbida)
ISMN (mononitrato de isosorbida)
Nicorandilo
- 20 Nitritos orgánicos:
- IAN (nitrito de isoamilo, nitrito de amilo)
IBN (nitrito de isobutilo)
- 25 Compuestos N-nitroso:
- N-Nitrosaminas:
Defostatina
NDMA
- 30 Derivados de N-metil-N-nitrosourea
- N-Hidroxi-Nitrosaminas:
- 35 Dopastina
Cupferrón
Alanosina
N-nitrosiminas
- N-Diazeniodiolatos (NONOato):
- 40 Espermina NONOato
DEA-NONOato
DETA-NONOato
- 45 S-Nitrosotioles:
- S-nitroso-N-acetilpenicilamina (SNAP)
S-nitrosoglutatona
- 50 Complejos metal-NO:
- Complejos de hierro:
- 55 Nitroprusiato (nitroprusiato de sodio)
Complejos de dinitrosil-hierro
Cloruro de hierro-azufre Nitrosilos (como por ejemplo la sal roja de Roussin, la sal negra de Roussin, el éster rojo de Roussin)
- 60 Complejos de rutenio
- heterociclos liberadores de NO:
- N-óxidos heterocíclicos:
Furoxanos
- 65 Heterociclos mesoiónicos:

Sidnoniminas (como, por ejemplo, molsidomina, linsidomina (SIN-1), ciclosidomina, pirsidomina, marsidomina)
Oxatriazoles mesoiónicos

Guanidinas y N-hidroxi guanidinas:

L-arginina
L-homoarginina
N-hidroxi-L-arginina
N-hidroxi-L-homoarginina

Otros:

Compuestos alquil-C-nitrosos
Compuestos aril C-nitrosos
Oximas
N-hidroxiureas

El donador de NO puede ser un nitrato orgánico con un esqueleto de glicerol.

El donador de NO se puede seleccionar del grupo que consiste en nitroglicerina (trinitrato de glicerilo), 1,2-dinitrato de glicerol (1,2-GDN), y 1,3-dinitrato de glicerol (1,3-GDN), 1-nitrato de glicerol (1-GMN) y 2-nitrato de glicerol (2-GMN).

En el contexto de la presente invención, el donador de NO es nitroglicerina (trinitrato de glicerilo).

Preferiblemente, el donador de NO es un donador de NO de acción corta. El término "donador de NO de acción corta" se refiere tanto al propio NO o a un donador de NO que libera NO en breve tiempo, con un tiempo de vida media corto menor que por ejemplo 45, 30 o preferiblemente 15 minutos, después de haber sido administrado a un sujeto. Ejemplos de donadores de NO de acción corta son nitroglicerina (trinitrato de glicerilo), nitrito de amilo y nitroprusiato de sodio. La nitroglicerina es un ejemplo especialmente preferido de dicho donador de NO de acción corta.

De acuerdo con la invención, el donador de NO en forma de nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra en una cantidad capaz de inducir la arteriogénesis. El experto en la técnica apreciará que esta cantidad dependerá del sujeto al que se administre nitroglicerina (trinitrato de glicerilo). Generalmente, la cantidad que se va a administrar puede estar entre 0,1 y 8 mg por día, pero esto puede variar debido al peso del sujeto, a su respuesta hemodinámica a la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) y/o a la gravedad de la enfermedad.

En una realización preferida, se aplica nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) en una dosificación de 0,2 hasta 0,8 mg (0,2, 0,3, 0,4, 0,6, 0,8) durante al menos 1 hasta 4 veces al día máximo, dando como resultado una dosis diaria máxima de 3,2 mg. Estos números se aplican especialmente en los casos en que el donador de NO es nitroglicerina. De acuerdo con la invención, el término "administración de un donador de NO" significa que se administra una dosis dada del donador de NO. Dependiendo de la forma de administración, el experto en la materia apreciará que la administración puede tomar algún tiempo. En una realización preferida, la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra en forma de pulverización, cápsula masticable, gas inhalable, aerosol o polvo inhalable, gránulos, polvo o un comprimido, lo que significa que la administración puede completarse en segundos. Sin embargo, la administración del donador de NO puede también tomar más tiempo, por ejemplo si el donador de NO se administra al paciente por medio de infusión o por ungüento o parche. Modos de administración del donador de NO se discuten más adelante a continuación.

Además, de acuerdo con la invención, la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra de una manera capaz de inducir arteriogénesis.

Como se muestra en los ejemplos, los inventores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) es capaz de inducir la arteriogénesis cuando se administra de una manera intermitente.

El término "modo intermitente" significa que el donador de NO se administra de una manera que sus niveles plasmáticos solo se elevan a corto plazo después de la administración del donador de NO pero luego disminuyen nuevamente. Esto puede conseguirse, por ejemplo, si el donador de NO es un donador de NO de acción corta como se ha definido anteriormente y la administración del donador de NO de acción corta es seguida durante un periodo de tiempo sin administración y, a continuación, el donador de NO se administra de nuevo al sujeto. Además, este modo de administración evita que el sujeto desarrolle tolerancias contra el efecto de NO. Sin embargo, es igualmente posible que el donador de NO sea un donador de NO de acción prolongada. En este caso, sin embargo, para conseguir la disminución de los niveles plasmáticos, se debe tener cuidado de que la administración del donador de NO de acción prolongada sea solo en breve y de que los niveles plasmáticos obtenidos no sean demasiado elevados.

En una realización preferida, los niveles plasmáticos del donador de NO se elevan durante no más de 180, 120 o 60 minutos, o durante no más de 50, 40, 30, 15, 10 o 5 minutos.

Además, esto también implica que el donador de NO se puede administrar de manera crónica, es decir, sin tener en cuenta la evolución de la enfermedad que implica un tratamiento agudo con el donador de NO. Además, también implica que puede establecerse un plan terapéutico sin tener en cuenta la evolución de la enfermedad lo que implica un tratamiento agudo con el donador de NO.

En el contexto de la presente invención, el donador de NO en forma de nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra inter alia para inducir la arteriogénesis. Esto implica que el donador de NO también se puede administrar en momentos o períodos de tiempo en los que no hay necesidad de vasodilatación y un alivio de los síntomas tal como alivio del dolor.

Esto contrasta con las aplicaciones pasadas en las que el donador de NO, por ejemplo nitroglicerina, se ha utilizado para conseguir un alivio o una prevención aguda (es decir, inmediata) de los síntomas de una enfermedad correspondiente. Estos síntomas, por ejemplo, incluyen dolor y/o disnea en el caso de una enfermedad cardiovascular, y el alivio o prevención aguda de los síntomas se consiguió por vasodilatación y consiguientemente dolor y/o alivio de la disnea. Sin embargo, el propósito de la administración del donador de NO no fue, como se discutió anteriormente, el tratamiento de la enfermedad subyacente, porque era bien sabido que las enfermedades no pueden ser tratadas por vasodilatación o alivio del dolor.

La identificación de un donador de NO como agente proarteriogénico, por lo tanto, también hace posible que el donador de NO se administre en puntos temporales o períodos de tiempo en los que no hay necesidad de tal alivio de síntomas como alivio del dolor. El donador de NO también puede administrarse en casos en los que no haya síntomas correspondientes como disnea o dolor o en los casos en que tales síntomas no son de esperar.

En el contexto de la presente invención, el término "intermitentemente" también significa que el donador de NO en forma de nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) no se administra continuamente, por ejemplo por medio de infusión intravenosa a largo plazo o con la ayuda de un implante que entrega constantemente el donador de NO al sujeto. Más bien, este término también significa que hay un intervalo entre dos administraciones del donador de NO, y que el donador de NO se administra varias veces, por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 12 o 16 veces al día.

Como apreciará la persona experta, una administración del donador de NO puede incluir una administración en una o más formas de dosificación, por ejemplo tabletas o respiradores (inhaladores) en caso de un nebulizado.

Por ejemplo, una administración puede incluir la administración de dos tabletas o de uno a tres respiradores (inhaladores).

En cuanto al programa de administración, el experto en la materia apreciará que hay muchas maneras de conseguir esta administración intermitente. En el contexto de la presente invención, el donador de NO se administra al menos una vez al día y al menos un día a la semana durante al menos dos semanas. Sin embargo, es igualmente posible administrar el donador de NO durante solo una semana si el donador de NO se administra varias veces durante esta semana.

Preferiblemente, el donador de NO se administra una vez, dos o tres veces al día, en donde es aun más preferido el periodo de tiempo entre dos administraciones del donador de NO de al menos 4 horas, en particular 8 horas, en particular al menos 10 horas o 12 horas.

Aunque es posible, no es necesario que los períodos de tiempo entre dos administraciones del donador de NO sean los mismos. Más bien, se prefiere que estos períodos de tiempo difieran, dependiendo del programa de administración individual.

El donador de NO se puede administrar al menos un día a la semana. Sin embargo, el donador de NO también puede administrarse 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días a la semana. En una realización especialmente preferida, el donador de NO se administra al menos 3 o 4 días a la semana.

De acuerdo con la invención, es posible administrar el donador de NO durante un período de varias semanas o meses. Esto es particularmente preferido para inducir eficazmente la arteriogénesis, aunque también es posible una administración más corta de una de dos semanas.

El donador de NO se puede administrar durante 2 a 8 semanas. Igualmente se prefiere administrar el donador de NO durante 3 a 6, 3 a 8, 3 a 10 o 4 a 8, 4 a 10 o 4 a 12 semanas. Estos números son solo ejemplos y pueden variar dependiendo del horario individual del sujeto.

El donador de NO puede tomarse al menos una vez a la semana durante al menos 8 semanas, en particular durante al menos 12 semanas.

El donador de NO se toma durante no más de 6, 8 o 12 meses. Sin embargo, también es posible tomar el donador

de NO durante 2, 3 o incluso más años. Además, también es posible que el donador de NO se administre durante décadas o incluso durante toda la vida del sujeto.

5 En el contexto de tales administraciones a largo plazo, se prefiere que el donador de NO se administre una o dos veces por semana o al menos una o dos veces por semana.

10 Se ha descrito previamente que una estimulación exógena de las fuerzas de cizallamiento pulsátil en un individuo puede dar como resultado una arteriogénesis. Además, se ha descrito cómo se pueden medir las fuerzas de cizallamiento pulsátiles (WO2010/072416).

15 Por consiguiente, el donador de NO se puede administrar conjuntamente con una estimulación exógena de las fuerzas de cizallamiento pulsátil en la arteria.

20 Con respecto a dicha realización de la invención, el donador de NO debe administrarse de una manera que sea activo en el cuerpo del sujeto cuando se aplica la estimulación exógena. En este contexto, activo significa que la liberación de NO no se ha terminado todavía o el NO liberado del donador de NO está todavía presente y activo. Dependiendo del donador específico de NO que se va a utilizar, de su vida media fisiológica en el sujeto y de su formulación, el experto será capaz de determinar cuándo el donador de NO tiene que ser administrado al sujeto con el fin de asegurar que es activo sobre el estímulo exógeno.

25 En el caso de la nitroglicerina, la vida media y su persistencia en el cuerpo del sujeto se han estudiado intensivamente; véase por ejemplo Armstrong et al. Circulation 59: 585 - 588 (1979) o Armstrong et al. Circulation 62: 160 - 166 (1980).

30 En general, la vida media de la nitroglicerina es de 2 a 5 minutos.

El donador de NO se puede administrar en el periodo de tiempo de 30 minutos antes del comienzo de la estimulación exógena hasta 30 minutos después de la terminación de la estimulación exógena.

35 El donador de NO se puede administrar en el periodo de tiempo de 15 minutos, preferiblemente 5 minutos, más preferiblemente 2 minutos antes de la estimulación exógena hasta 30, preferiblemente 15, más preferiblemente 5 minutos después del inicio de la estimulación exógena.

40 El donador de NO se puede administrar una vez al día, cinco veces a la semana durante 6 semanas de 2 a 5 minutos antes de la estimulación exógena.

45 La estimulación exógena de las fuerzas de cizallamiento pulsátil puede conseguirse por cualquier procedimiento conocido. Esto incluye estimulación con la ayuda de medicamentos tales como medicamentos que aumentan la presión arterial.

50 En una realización preferida, dicha estimulación se consigue mediante el ejercicio físico o la aplicación de una fuerza endógena al vaso arterial.

55 De acuerdo con la invención, el término "ejercicio físico" significa cualquier entrenamiento del sujeto, incluyendo, pero no limitándose a, entrenamiento en salas de ejercicios, correr, caminar, caminata nórdica, nadar, bailar, andar en bicicleta y montañismo. El experto en la técnica apreciará que cualquier ejercicio será útil en el contexto de la invención, siempre que se realice conjuntamente con la administración del donador de NO. Preferiblemente, el término "ejercicio físico" no incluye movimientos de rutina no supervisados y no prescritos, como caminar ocasionalmente o trabajar en casa.

60 Como se ha discutido anteriormente, se ha encontrado en el contexto de la presente invención que la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) es capaz de inducir la arteriogénesis. Esto permite no solo el tratamiento de una enfermedad ya existente. Más bien, en el contexto de la presente invención, también es posible prevenir la enfermedad. Por consiguiente, en una realización preferida de la presente invención, el método apunta a la prevención de dicha insuficiencia arterial.

65 Como se muestra en la sección de ejemplo, en el contexto de la presente invención, se ha podido reducir el tamaño del infarto en el caso de una oclusión ya existente. Además, ha sido posible reducir las arritmias en los sujetos. Por consiguiente, en una realización preferida de la presente invención, el método da como resultado una reducción del tamaño del infarto, arritmias reducidas o una elevación del segmento ST disminuida.

El donador de NO se puede administrar de cualquier manera adecuada para que pueda ser incorporado en el sujeto. Esto incluye una administración oral, parenteral o intravenosa, así como la inyección del donador de NO en el cuerpo del sujeto, pero también una administración a una membrana mucosa del sujeto.

Por consiguiente, en el contexto de la presente invención, la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra

lingualmente, sublingualmente, por inhalación, bucalmente, por vía transmucosa u por vía uromucosa.

En el caso de una administración lingual, sublingual u uromucosa, se prefiere que la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administre con ayuda de una pulverización, una cápsula masticable o en forma de comprimido, polvo o gránulos o incluso por un dispositivo inhalador, del cual la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) puede ser fácilmente inhalada y adsorbida. Igualmente se prefiere que la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administre en forma de un gas, aerosol o polvo inhalable.

La administración del donador de NO puede ser una administración no tópica, es decir, que el donador de NO no se administre a la piel del sujeto. En el contexto de la presente invención, el término "piel" excluye las membranas mucosas del sujeto.

El donador de NO se puede formular de cualquier manera adecuada para los modos de administración mencionados anteriormente. Dichas formulaciones son conocidas por el experto en la técnica e incluyen la formulación en amortiguadores adecuados, en un gas, aerosol, en forma de comprimidos, polvo o gránulos.

En una realización preferida, el donador de NO se formula de una manera que permite una liberación rápida del donador de NO de la formulación. Esto incluye, por ejemplo formulaciones que no retienen el donador de NO durante un período de tiempo más largo, pero que liberan el donador de NO dentro de, por ejemplo, 45, 30 o 15, 10, 5 minutos o 1 minuto.

A través de la invención, se prefiere que el sujeto al que se aplica la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) sea un sujeto humano.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere también a nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso en un método para la prevención o tratamiento de una insuficiencia arterial, en donde la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra en una cantidad y manera efectiva para la inducción de la arteriogénesis.

Todas las características y realizaciones preferidas discutidas anteriormente para el método de tratamiento o prevención de una insuficiencia arterial también se aplican a la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para su uso de acuerdo con este aspecto de la invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere también a un método de supresión de efectos negativos asociado con cualquier tratamiento de una insuficiencia arterial que es arteriogénesis antiarteriogénica o inhibidora, que comprende administrar a un sujeto sometido a dicho tratamiento nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) en una cantidad y manera efectiva para la inducción de la arteriogénesis.

En una realización preferida, dicho tratamiento es un ácido acetilsalicílico (ASA), antagonistas de la glicoproteína IIb IIIa, o un tratamiento con etanercept (receptor soluble del factor de necrosis tumoral).

Se sabe en la técnica que el ASA es un inhibidor de la arteriogénesis (Singer et al., Vasa 2006, 35: 174-177). En consecuencia, el tratamiento con ASA de las enfermedades cardiovasculares, aunque sea una terapia estándar, tiene efectos secundarios y desventajas significativos. En el contexto de la presente invención, se ha encontrado que la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) es capaz de superar los efectos genitivos asociados con un tratamiento con ASA (véase la sección de ejemplos). Basándose en estos hallazgos, los inventores concluyen que también los efectos secundarios negativos asociados con otros medicamentos como el antagonista de la glicoproteína IIb IIIa o el tratamiento con etanercept también pueden ser disminuidos.

Además, la presente invención se refiere también a nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso en un método de supresión de efectos negativos asociado con cualquier tratamiento de una insuficiencia arterial que es antiarteriogénico o inhibidor arteriogénico, en donde la nitroglicerina se administra a un sujeto sometido a dicho tratamiento en una cantidad y forma efectiva para la inducción de la arteriogénesis.

En una realización preferida, dicho tratamiento es un ácido acetilsalicílico (ASA), antagonistas de la glicoproteína IIb IIIa, o un tratamiento con etanercept (receptor soluble del factor de necrosis tumoral).

Todas las características y realizaciones preferidas discutidas anteriormente para el método de tratamiento o prevención de una insuficiencia arterial se aplican también al método para la supresión de efectos negativos de acuerdo con este aspecto de la invención o a nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso de acuerdo con este aspecto de la invención.

La presente invención también describe un método para la prevención o el tratamiento de una arritmia cardiaca, en donde se administra un donador de NO a un sujeto en una cantidad y manera efectiva para el tratamiento de dicha arritmia cardiaca. Además, la presente invención también describe un donador de NO para su uso en un método para la prevención o el tratamiento de una arritmia cardiaca, en donde el donador de NO se administra a un sujeto en una cantidad y manera efectiva para el tratamiento de dicha arritmia cardiaca.

En el contexto de la presente invención, los inventores han encontrado que los donadores de NO son capaces de prevenir y tratar arritmias (véase la sección de ejemplo).

- 5 Todas las características y realizaciones definidas anteriormente con respecto al donador de NO y su formulación y administración se aplican también a este método o NO o donador para uso de acuerdo con la invención.

10 La presente invención también describe un método para promover la circulación colateral que comprende la etapa de exponer a un sujeto a una cantidad terapéuticamente eficaz de un donador de NO en donde la cantidad terapéuticamente eficaz del donador de NO promueve la arteriogénesis suficiente para aumentar la circulación colateral en un sistema fisiológico o patológico.

15 El término circulación colateral describe la circulación de sangre a través de los denominados vasos colaterales. Estos vasos son pequeñas arteriolas, que forman parte de una red que interconecta los territorios de perfusión de las ramas arteriales. En el caso de que la propia arteria principal no sea capaz por sí misma de proveer suficientemente a un tejido, por ejemplo debido a una oclusión arterial, estos vasos colaterales son reclutados y pueden desarrollar arterias de conductancia grande, para eludir el sitio de una oclusión arterial y/o para compensar el flujo sanguíneo a territorios isquémicos provistos por la o arteria insuficiente. En el contexto de la presente invención, la promoción de la circulación colateral se produce a través de la arteriogénesis.

20 De acuerdo con la invención, el término "condición fisiológica" denota cualquier condición del sujeto que no esté relacionada con ninguna enfermedad.

25 De acuerdo con la invención, el término "condición patológica" denota cualquier condición del sujeto que esté relacionada con una enfermedad.

Preferiblemente, el sujeto sufre de insuficiencia arterial.

30 Todas las características y realizaciones preferidas discutidas anteriormente para el método de tratamiento o prevención de una insuficiencia arterial también se aplican al método de promoción de la circulación colateral.

35 Con respecto a los aspectos definidos anteriormente en los que la nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) se administra de una manera suficiente para inducir arteriogénesis esta manera es preferiblemente una manera intermitente como se ha definido anteriormente.

La invención se describe adicionalmente mediante las figuras y ejemplos adjuntos, que están destinados a ilustrar, pero no a limitar la invención.

40 Breve descripción de las figuras

Figura 1: Transcurso de la elevación del segmento ST por latidos después de FPO (= oclusión final para inducir el infarto) de 5 y 10 días de los grupos de control. El gráfico ECG en gris medio indica 5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $0,104 \pm 0,016$ mV; el gráfico de ECG en negro indica 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $0,134 \pm 0,034$ mV; gráfico ECG en gris claro indica 10 DÍAS RIP PBS, n = 7: $0,055 \pm 0,033$ mV; gráfico ECG en gris oscuro indica 10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 7: $0,124 \pm 0,039$ mV.

45 El ECG se registró 90 minutos después de FPO. El curso de la elevación del segmento ST por latido en los primeros 8 minutos no reveló diferencias entre los grupos de 5 y 10 días de grupo EN SIMULACIÓN y 5-días-RIP-grupo por ejemplo solo en los 10-DÍAS-RIP-grupo se observó una elevación del segmento ST inferior.

50 Figura 2: elevación del segmento ST de grupos control de 5 y 10 días. La columna 1 muestra la elevación del segmento ST del grupo de 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN; la columna 2 muestra la elevación del segmento ST del grupo de 5 DÍAS RIP PBS; la columna 3 muestra la elevación del segmento ST 10 DÍAS PBS Grupo EN SIMULACIÓN; la columna 4 muestra la elevación del segmento ST del grupo 10 DÍAS RIP PBS; la desviación estándar se indica en barras de error; El asterisco indica un valor significativo en comparación con 10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN (valor nominal p <0,025); El doble asterisco indica una comparación significativa con 10 DÍAS RIP PBS (valor nominal p <0,025).

55 El diagrama muestra la media de la elevación máxima del segmento ST por grupo. Después de 5 días no hubo diferencia significativa entre RIP y EN SIMULACIÓN. Después de 10 días en el grupo RIP, el máximo de elevación del segmento ST fue significativamente más bajo en comparación con el control EN SIMULACIÓN (*) y 5 DÍAS RIP (**) (*valor nominal p <0,025).

60 Figura 3: Recorrido de la elevación del segmento ST por golpe después de FPO (módulo 1: operación EN SIMULACIÓN sin RIP). El gráfico de ECG en negro indica 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $0,134 \pm 0,034$ mV; Gráfico ECG en gris claro indica 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG, n = 7: $0,124 \pm 0,058$ mV; Gráfico ECG en gris medio indica 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO, n = 6: $0,131 \pm 0,043$ mV.

El curso de la elevación del segmento ST por golpe después de FPO no reveló diferencias entre el control EN

SIMULACIÓN y los grupos tratados después de 5 días.

Figura 4: Elevación del segmento ST (módulo 1: operación EN SIMULACIÓN sin RIP). La columna 1 muestra 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN; la columna 2 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-Placebo; la columna 3 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG; la desviación estándar se indica mediante barras de error.

No se encontraron diferencias en el máximo de elevación del segmento ST entre el control EN SIMULACIÓN y los grupos tratados.

Figura 5: Curso de elevación del segmento ST por golpe después de FPO (módulo 2: NO intermitente (NTG)). El gráfico ECG en gris claro indica 5 DÍAS RIP PBS, $n = 8$: $0,104 \pm 0,016$ mV; El gráfico de ECG en gris medio indica 5 DÍAS NTG-PLACEBO, $n = 6$: $0,096 \pm 0,061$ mV; Gráfico de ECG en negro indica 5 DÍAS RIP NTG, $n = 7$: $0,052 \pm 0,030$ mV.

Comparado con el tratamiento de control con PBS o NTG-Placebo, se detectó un curso de elevación del segmento ST inferior después del tratamiento con NTG 5 días después del RIP.

En el grupo NTG ("5 DÍAS RIP NTG") elevación del segmento ST es significativamente menor en comparación con el grupo PBS. No hay valor significativo entre el PBS y el grupo NTG-PLACEBO.

Figura 6: Elevación del segmento ST (módulo 2: NO intermitente (NTG)). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS; la columna 2 muestra 5 DÍAS NTG-PLACEBO; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP NTG; la desviación estándar se indica mediante barras de error, el asterisco indica una disminución significativa de la elevación del segmento ST en comparación con el grupo PBS (valor nominal $p < 0,017$).

Después del tratamiento con NTG, el máximo de elevación del segmento ST disminuyó significativamente en comparación con el tratamiento con PBS y NTG-Placebo 5 días después del RIP (valor nominal $p < 0,017$).

Figura 7: Recorrido de la elevación del segmento ST por golpe después de FPO (módulo 3: NO continuo (ISD Retardo)). ECG Gráfico en gris claro indica 5 DÍAS RIP PBS, $n = 8$: $0,104 \pm 0,016$ mV; el gráfico ECG en gris medio indica 5 DÍAS ISDN - PLACEBO, $n = 7$: $0,110 \pm 0,069$ mV; el gráfico ECG en negro indica 5 DÍAS RIP ISDN, $n = 7$: $0,062 \pm 0,027$ mV.

En comparación con el tratamiento de control con PBS o ISDN-Placebo un curso de elevación del segmento ST inferior se detectó después RDSI 5 días después del RIP.

La elevación del segmento ST en el grupo ISDN ("5 DÍAS RIP ISDN") disminuye en comparación con el grupo PBS pero no tiene importancia, así como entre el PBS y el grupo ISDN-PLACEBO.

Figura 8: Elevación del segmento ST (módulo 3: NO continuo (ISD Retardo)). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP ISDN-PLACEBO; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP ISDN; la desviación estándar se indica mediante barras de error.

Después del tratamiento con ISDN, el máximo de elevación del segmento ST no disminuyó significativamente en comparación con el PBS y el tratamiento con ISDN-placebo 5 días después del RIP (valor nominal $p < 0,017$).

Figura 9: Curso de la elevación del segmento ST por golpe después de FPO (módulo 4: NO intermitente más ASA). Gráfico ECG en gris claro indica 5 DÍAS RIP PBS, $n = 8$: $0,104 \pm 0,016$ mV; El gráfico de ECG en gris medio indica 5 DÍAS RIP ASA + PBS, $n = 7$: $0,138 \pm 0,098$ mV; Gráfico ECG en gris oscuro indica 5 DÍAS RIP ASA + NTG-PLACEBO, $n = 6$: $0,144 \pm 0,091$ mV; Gráfico ECG en negro indica 5 DÍAS RIP NTG + ASA, $n = 7$: $0,088 \pm 0,071$ mV. El tratamiento con NTG + ASA se comparó con PBS + ASA, NTG-Placebo + ASA y PBS. En general, todas las curvas se superponen al mismo rango.

La elevación del segmento ST en el grupo tratado con PBS y ASA es mayor en comparación con el grupo control de PBS, pero no hay valor significativo, así como entre el grupo ASA + NTG-PLACEBO. En el grupo ASA + NTG, la elevación del segmento ST disminuye en comparación con el grupo tratado con ASA y PBS.

Figura 10: Elevación del segmento ST (módulo 4: NO intermitente más ASA). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP PBS + ASS; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO; la columna 4 muestra 5 DÍAS RIP NTGPLACEBO + ASS; la columna 5 muestra 5 DÍAS RIP NTG; la columna 6 muestra 5 DÍAS RIP NTG + ASS; Desviación estándar se indica mediante barras de error.

El tratamiento con NTG + ASA se comparó con PBS + ASA, NTG-Placebo + ASA y PBS. Además, se compararon todos los grupos ASA (PBS + ASA, NTG-Placebo + ASA, NTG + ASA) con sus controles (PBS, NTG-Placebo, NTG). No se detectaron diferencias significativas.

Figura 11: Arritmias durante FPO (módulo 1: EN SIMULACIÓN Operación (sin el RIP)). Los números de columnas se dan en orden consecutivo de las columnas del grupo IVb. La columna 1 muestra 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN; la columna 2 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO; la columna 3 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG.

De acuerdo con la clasificación de Lown, todos los grupos EN SIMULACIÓN fueron predominantemente escalados en el grado IVa.

En el grupo "5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN" el 87,5% de las ratas tienen arritmias de clase IVb y 12,5% de clase IVa. En el grupo "5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO" el 83,3% tiene arritmias IVb y el 16,7% IVa y en el grupo "5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG" el 85,7% tiene arritmias IVb y el 14,3% arritmias clase IIIa.

Figura 12: Arritmias durante FPO (módulo 2: NO intermitente (NTG)). Los números de columnas se dan en orden consecutivo de las columnas del grupo IVb. La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP NTG.

5 Mientras que las arritmias en ambos grupos de control, PBS y NTG-Placebo, se escalaron predominantemente en el grado IVa, el grupo tratado con NTG fue más a menudo escalado en el grado 0. En el grupo "5 DÍAS RIP PBS", el 75,0% de las ratas tienen arritmias de clase IVb, 12,5% de IVa y 12,5% de clase 0. En cuanto al grupo "5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO", el 66,7% de las ratas presentaron arritmias de clase IVb, 16,7% de IVa y 16,7% de clase IIIb. Curiosamente, el grupo "5 DÍAS RIP NTG" muestra 42,9% de arritmias de clase IVb y 10 57,1% de arritmias de clase 0.

Figura 13: Arritmias durante FPO (módulo 3: NO continuo (ISD Retardo)). Los números de columnas se dan en orden consecutivo de las columnas del grupo IVb. La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP ISDN-PLACEBO; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP ISDN.

15 En todos los grupos, las arritmias también fueron escaladas con mayor frecuencia en el grado IVa. En el grupo "5 DÍAS ISDN-PLACEBO", el 57,1% de las ratas tienen arritmias de clase IVb, 14,3% de clase IVa y 28,6% de clase IIIb. El grupo "5 DÍAS RIP ISDN" muestra arritmias menos graves con 57,1% de clase IVb, 28,6% de clase IVa y 14,3% de arritmias clase 0.

Figura 14: Arritmias durante FPO (módulo 4: NO intermitente más ASA). Los números de columnas se dan en orden consecutivo de las columnas del grupo IVb. La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP ASS + PBS; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP ASS + NTG-PLACEBO; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP ASS + NTG.

20 Las arritmias fueron escaladas de manera similar más en el grado IVa en todos los grupos. En el grupo "5 DÍAS RIP ASS + PBS", en el grupo tratado con ASS + NTG-PLACEBO y en el grupo de "5 DÍAS RIP ASS + NTG" el 83,3% de las ratas poseen arritmias de clase IVb y 16,7% de clase IIIa.

Figura 15: Puntaje VPB. La columna 1 muestra PBS EN SIMULACIÓN; la columna 2 muestra EN SIMULACIÓN NTG-Placebo; la columna 3 muestra EN SIMULACIÓN NTG; la columna 4 muestra RIP PBS; la columna 5 muestra RIP NTG-Placebo; la columna 6 muestra ± muestra RIP NTG; la columna 7 muestra RIP PBS; la columna 8 muestra RIP ISDN - CC; la columna 9 muestra RIP ISDN; la columna 10 muestra RIP PBS + ASS; la columna 11 muestra RIP NTG - CC + ASS; la columna 12 muestra RIP NTG + ASS.

30 La puntuación VBP muestra el porcentaje de cada grado Lown de cada grupo. Los grupos EN SIMULACIÓN tienen mayores puntuaciones VBP.

35 En comparación con el grupo con un protocolo isquémico (grupo control, tratado con PBS), más ratas muestran arritmias graves. El tratamiento con NTG divulga arritmias reducidas y, en consecuencia, una puntuación VPB menor. El VPBscore en grupos tratados con ASA sola o NTG + ASA es mayor en comparación con los controles (tratados con PBS).

40 Con respecto al porcentaje de cada grado de Lown de cada grupo, se puede determinar una puntuación de VBP. Cuantos más animales muestren un grado más alto, mayor es la puntuación VBP

Figura 16: Tamaño del infarto de los grupos control de 5 días y 10 días. La columna 1 muestra 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $13,36 \pm 5,22\%$; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $11,05 \pm 5,12\%$; la columna 3 muestra 10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 7: $13,71 \pm 6,06\%$; la columna 4 muestra 10 DÍAS RIP PBS, n = 6: $6,57 \pm 3,26\%$; la desviación estándar está indicada por barras de error; El asterisco indica que es significativo en comparación con 10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN (valor nominal p <0,013).

45 Después de un protocolo isquémico de 5 días, no hay un tamaño de infarto significativamente más pequeño medible, pero después de un RIP de 10 días el área infartada disminuye significativamente (p <0,013).

50 Después de 90 minutos de oclusión de LAD y 20 minutos de perfusión, se analizó el tamaño del infarto. El grupo "10 DÍAS RIP PBS" tiene un área de infarto significativamente menor en comparación con el grupo "10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN". No hay valor significativo entre ambos grupos de 5 DÍAS.

Figura 17: Tamaño del infarto (módulo 1: Funcionamiento EN SIMULACIÓN (sin el RIP)). La columna 1 muestra 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $13,36 \pm 5,22$ mV; la columna 2 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO, n = 6: $14,21 \pm 5,79$ mV; la columna 3 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG, n = 7: $14,09 \pm 5,18$ mV; la desviación estándar se indica mediante barras de error.

55 El tamaño del infarto no muestra diferencias entre los grupos EN SIMULACIÓN. No hay valor significativo entre los tres grupos EN SIMULACIÓN.

Figura 18: Tamaño del infarto (módulo 2: NO intermitente (NTG)). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $11,05 \pm 5,12\%$; la columna 2 muestra 5 DÍAS NTG-PLACEBO: n = 6: $9,80 \pm 6,79$ mV; la columna 3 muestra 5 días de RIP NTG, n = 7: $3,61 \pm 2,08\%$; la desviación estándar está indicada por barras de error, el asterisco indica significativo en comparación con 5 DÍAS RIP PBS (valor nominal p <0,017).

60 El tamaño del infarto es significativamente menor después del tratamiento con NTG en comparación con los controles (tratados con PBS) (valor p nominal <0,017).

65 Comparado con el "5 DÍAS RIP PBS", se observa un área de infarto significativamente menor en el grupo "5 DÍAS RIP NTG".

No hay valor significativo entre el PBS y el grupo NTG-PLACEBO.

Figura 19: Tamaño del infarto (módulo 3: NO continuo (ISD Retardo)). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $11,05 \pm 5,12\%$; la columna 2 muestra 5 DÍAS ISDN-PLACEBO, n = 6: $9,97 \pm 3,65\%$; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP ISDN, n = 7: $7,59 \pm 4,38\%$; la desviación estándar se indica mediante barras de error.

El tamaño del infarto después del tratamiento con ISDN es menor comparado con los controles (tratados con PBS o RNIS-Placebo), pero no hay valor significativo.

El tamaño del infarto en el grupo ISDN ("5 DÍAS RIP ISDN") es menor en comparación con el grupo PBS, así como el grupo ISDN-PLACEBO.

Figura 20: Tamaño del infarto (módulo 4: NO intermitente más ASS). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $11,05 \pm 5,12\%$; la columna 2 muestra 5 días de RIP ASS + PBS, n = 6: $12,51 \pm 3,05\%$; la columna 3 muestra 5 DÍAS NTG-PLACEBO: n = 6; $9,80 \pm 6,79\%$; la columna 4 muestra 5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO + ASS, n = 6: $13,92 \pm 1,71\%$; la columna 5 muestra 5 DÍAS RIP NTG, n = 7: $11,05 \pm 5,12\%$; la columna 6 muestra 5 DÍAS RIP NTG + ASS, n = 6: $13,00 \pm 3,82\%$, la desviación estándar está indicada por barras de error, el asterisco indica significativo en comparación con 5 DÍAS RIP NTG (valor p nominal $<0,017$).

El tamaño del infarto después del tratamiento con NTG más ASS es significativamente mayor en comparación con el tratamiento con NTG solo (valor p nominal $<0,017$).

El tamaño del infarto en el grupo tratado con ASA ("5 DÍAS ASS + PBS") se incrementa mínimamente en comparación con el grupo de control PBS, así como el grupo ASS + NTG-PLACEBO. No hay diferencia entre el grupo de AS + NTG y el grupo tratado con ASS y PBS. Sin embargo, el área de infarto en el grupo NTG es significativamente menor en comparación con el grupo ASA + NTG.

Figura 21: tinción con TTC. Las imágenes muestran cortes de tres niveles. El tejido infartado tiñe de un blanco pálido ya que carecen de las enzimas con las que reacciona la TTC. Así, las áreas de necrosis son claramente discernibles y cuantificables.

Figura 22: Diámetros colaterales del ROI (módulo 1: EN SIMULACIÓN Operación (sin el RIP)). La columna 1 muestra 5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 3: $82,7 \pm 3,7 \mu\text{m}$; la columna 2 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO, n = 3: $89,6 \mu\text{m} \pm 10,6 \mu\text{m}$;

La columna 3 muestra 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG, n = 3: $86,8 \pm 9,0 \mu\text{m}$; la desviación estándar se indica mediante barras de error.

No hay crecimiento de colaterales y no hay diferencias mensurables entre los grupos EN SIMULACIÓN.

No hay valor significativo entre los tres grupos EN SIMULACIÓN.

Figura 23: Diámetros colaterales del ROI (módulo 2: NO intermitente (NTG)). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 3: $129,8 \pm 6,9 \mu\text{m}$; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO: n = 3; $127,0 \pm 12,1 \mu\text{m}$; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP NTG, n = 3: $158,4 \pm 9,2 \mu\text{m}$; la desviación estándar está indicada por barras de error, el asterisco indica significativo en comparación con 5 DÍAS RIP NTG (valor nominal p $<0,033$).

Los diámetros de los colaterales se incrementan significativamente mediante el tratamiento con NTG en comparación con los controles (tratados con PBS o NTG-Placebo) (valor p nominal $<0,033$).

Comparado con el "5 DÍAS RIP PBS", los diámetros de los colaterales en el ROI en el grupo "5 DÍAS RIP NTG" se incrementan significativamente. No hay diferencia entre el grupo PBS y el grupo NTG-PLACEBO.

Figura 24: Diámetros colaterales del ROI (módulo 3: NO continuo (ISD Retardo)). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 3: $129,8 \pm 6,9 \mu\text{m}$; la columna 2 muestra 5 DÍAS ISDN-PLACEBO, n = 3: $133,0 \pm 11,5 \mu\text{m}$; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP ISDN, n = 3: $148,2 \pm 11,3 \mu\text{m}$; la desviación estándar se indica mediante barras de error.

No se pueden medir diferencias en el diámetro de los colaterales después del tratamiento con ISDN o ISDN-Placebo.

Los diámetros de las garantías en el grupo ISDN ("5 DÍAS RIP ISDN") se mejoran en comparación con el grupo PBS, así como en comparación con el grupo ISDN-PLACEBO.

Figura 25: Diámetro colateral del ROI (módulo 4: NO intermitente más ASA). La columna 1 muestra 5 DÍAS RIP PBS, n = 3; $129,8 \pm 6,9 \mu\text{m}$; la columna 2 muestra 5 DÍAS RIP PBS + ASS, n = 3: $102,5 \pm 8,0 \mu\text{m}$; la columna 3 muestra 5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO: n = 3; $127,0 \pm 12,1 \mu\text{m}$; la columna 4 muestra 5 DIAS NTG-PLACEBO + ASS, n = 3: $97,1 \pm 8,61 \mu\text{m}$; la columna 5 muestra 5 DÍAS RIP NTG, n = 3: $158,4 \pm 9,2 \mu\text{m}$; la columna 6 muestra 5 DIAS RIP ASS + NTG, n = 3: $124,4 \pm 5,6 \mu\text{m}$; desviación estándar se indica mediante barras de error, un asterisco indica significativo comparada con los 5 DÍAS RIP PBS (nominal valor de p $<0,039$); El doble asterisco indica una comparación significativa con 5 DÍAS RIP ASS + NTG (valor nominal p $<0,039$).

Los diámetros de colaterales son significativamente más pequeños después del tratamiento con ASA en comparación con los controles (tratados con PBS).

Un tratamiento adicional con NTG abolió el efecto inhibitor de ASS. El tratamiento con NTG solo muestra un diámetro significativamente mayor en comparación con los testigos (tratados con PBS) (valor p nominal $<0,039$).

Los diámetros en el grupo tratado con PBS y ASS son significativamente más pequeños en comparación con el grupo de control PBS, así como el ASS + NTG-grupo de placebo, pero no hay valor significativo.

En el grupo ASA + NTG el diámetro está aumentado en comparación con el grupo tratado con PBS y ASA.

Figura 26: Imagen MicroCT del "ROI": (A) "5DÍAS PBS EN SIMULACIÓN"; (B) "5DÍAS EN SIMULACIÓN NTG"; (C) "5DÍAS RIP ISDN"; (D) "5DÍAS RIP PBS"; (E) "5DÍAS RIP NTG"; (F) "5DÍAS RIP ASS + PBS"; (G) "5DÍAS RIP ASS + NTG".

5 Las imágenes muestran el crecimiento del diámetro colateral en la región de interés por el protocolo isquémico tratado con PBS (D), NTG (E) o ISDN (C) comparado con EN SIMULACIÓN tratado con PBS (A) o NTG (B). La inhibición del crecimiento colateral por tratamiento con ASA (F) se elimina parcialmente mediante tratamiento adicional con NTG (G).

10 Figura 27: Diagrama de flujo del estudio. La duración del período basal se estima en aproximadamente 2 semanas. La duración del período de intervención será de seis semanas. El período de seguimiento incluirá una investigación inmediata (un día hasta un máximo de tres días después del período de intervención) y una investigación de seguimiento a largo plazo (1 mes después del período de intervención).

15 **Ejemplo 1**

Estudio Preclínico

20 1. Introducción

Un mecanismo importante de la arteriogénesis es la inducción de la tensión de cizallamiento a través de las arterias colaterales reclutadas.

25 El NO desempeña un papel fundamental en este escenario, ya que regula la capacidad vasodilatadora de la arteria así como los aspectos de proliferación terapéutica en las células del músculo liso de las arterias colaterales.

Aquí se evaluaron los efectos de Nitrolingual akut® Spray (G. Pohl-Boskamp GmbH & Co.KG, Hohenlockstedt, Alemania, marca estadounidense Nitrolingual® Pumpspray) en un modelo único de arteriogénesis de infarto no miocárdico.

30 El crecimiento colateral en este modelo se induce mediante oclusión repetitiva de la arteria coronaria descendente anterior izquierda (LAD).

El tamaño del infarto en estos animales se midió como el punto final al final del experimento. Por lo tanto, ninguna interferencia entre el infarto de miocardio y la arteriogénesis ha debilitado el experimento. Además, se evaluó el efecto del ácido acetilsalicílico (ASA) en este modelo de oclusión coronaria repetitiva como posible inhibidor de la arteriogénesis. Evaluamos si una aplicación concomitante de NO (uso intermitente de nitroglicerina) puede compensar este efecto negativo de ASA.

35 2. Materiales y métodos

40 1.1 Preparación de los animales

Se usan ratas macho Sprague-Dawley (300 g de peso corporal al inicio del estudio, n = 182) para los experimentos. Para la cirugía (día 0), las ratas son premedicadas (ketamina 50 mg/ml más xilazina 4 mg/ml intraperitoneal) e intubadas. La intubación oral (tubo de polietileno I4-G) se realiza bajo observación directa de las cuerdas vocales con un otoscopio. Se introduce la anestesia general y se mantiene por inhalación de isoflurano (1,0% a 2,0%, con 100% de oxígeno). La temperatura corporal se controla a 37°C mediante una mesa de calefacción eléctrica. La cirugía se realiza mediante técnica aséptica. El animal se coloca inicialmente en su lado dorsal y se fijan los clips cutáneos. Con un amplificador diferencial BioAmp acoplado a un sistema de adquisición de datos PowerLab (AD Instruments) se monitorizan y registran los parámetros ECG (frecuencia cardíaca) durante la cirugía. El corazón es expuesto por toracotomía izquierda. Un implante ocular mini-neumático (véase la sección Oclisor de trampa minineumático, para más detalles) se implanta alrededor de la arteria coronaria descendente anterior izquierda (LAD) media a proximal. La confirmación de que el oclisor es funcional, es decir, produce isquemia miocárdica, se determina inicialmente por observación de blanqueo e hipoquinesia del ventrículo izquierdo (VE) y por observación del electrocardiograma (elevación del ST) durante la inflación. Las ratas se dividen al azar en 4 módulos terapéuticos:

Módulo 1: Operación EN SIMULACIÓN

Módulo 2: NO intermitente (nitroglicerina)

Módulo 3: NO continuo (preparación retardada del dinitrato de isosorbida)

60 Módulo 4: NO intermitente más ASA

Después de la instrumentación y las mediciones, el tórax se cierra bajo una presión positiva al final de la espiración, y de la cavidad torácica se evacua del aire. Los oclisores son tunelizados subcutáneamente y exteriorizados entre las escápulas. Estos catéteres están protegidos por una bobina de resorte de acero inoxidable conectada a un anillo que está asegurado subcutáneamente entre las escápulas. Después de la cirugía, se administran analgésicos (buprenorfina 0,05 mg/kg SC) y antibióticos (enrofloxacin 10 mg/kg SC). Las ratas se observan en una jaula de

recuperación durante 2 horas y luego se transfieren a la instalación de cuidado de animales donde son supervisados continuamente por técnicos. Durante 3 días después de la cirugía, se toma buprenorfina (0,5 mg/kg de SC) para el dolor. El tercer día después de la cirugía (día 3), se inicia el protocolo isquémico. Después de 5, respectivamente 10 días (solo en los módulos 1A y 2B) del protocolo experimental (día 8 o día 13), se anestesian las ratas y se abre el pecho mediante toracotomía media. En el grupo de micro-CT, los corazones son inmediatamente escindidos. Para la detección final del tamaño del infarto, la LAD será ocluida permanentemente (oclusión permanente final, FPO) y el tamaño del infarto se medirá mediante tinción TTC.

1.2. Minioclusor neumático de trampa para corazón de rata

Se utiliza un minioclusor neumático de trampa que consiste en un minibalón, tubo de vaina, sutura y catéter. El globo (7 mm de largo) está hecho de membrana de látex blanda y es suficientemente flexible para dar una fuerza física negativa en los vasos coronarios durante la deflación del balón. El globo se monta dentro de una vaina en paraguas (3,2 o 4,8 mm de diámetro, 12 mm de longitud; protege el globo de la infiltración fibrosa). Se hace pasar proleno (5-0) alrededor de la LAD y se fija a la vaina, asegurando el ocluidor al corazón, de modo que la isquemia miocárdica se produce por inflado con balón. El volumen de inflación es pequeño (0,2 a 0,25 ml de aire), pero la oclusión se produce mediante 2 acciones físicas: "engarzamiento" de la LAD hacia arriba/hacia afuera y compresión de la LAD por el globo/vaina inflados. El globo está conectado a un catéter (PE-50) que se exterioriza. El inflado y la deflación del balón se controlan desde fuera de la jaula de ratas.

1.3. Mediciones de los parámetros de ECG

En los cuatro módulos (1-4), al comienzo (día 3) y al final (día 8 o día 13) del protocolo experimental (RIP) se ejecutará la oclusión coronaria durante 40 segundos (equivalente a una oclusión en el RIP, véase página 6) y medirán los parámetros del ECG para examinar la frecuencia cardíaca y la elevación del ST.

1.4. Imágenes Microvasculares Coronarias Con Micro-CT

Además, se propone utilizar Micro-CT como un punto final adicional para generar imágenes de colaterales. Se prepara un grupo de ratas (3 ratas de cada grupo en cada módulo, un total de 36 ratas) para la visualización vascular coronaria a través de micro-TC. La circulación coronaria se llena con medio de contraste (microfil amarillo) mediante la modificación de la metodología para el estudio de micro-CT en las ratas. La viscosidad del medio de contraste permite llenar hasta el nivel arteriolar coronario sin o con llenado mínimo de los capilares. El corazón extirpado es inmediatamente canulado con una cánula aórtica, y la circulación coronaria es perfundida de forma retrogradable a 85 mm Hg. Se utiliza un perfundido (solución salina de 25°C a 27°C con procaina al 2%) para evitar la contracción metabólica miocárdica y maximizar la dilatación de la vasculatura coronaria. Se inserta un tubo de polietileno en el LV a través de un anexo izquierdo a través de la válvula mitral para descargar el LV. Se inyecta medio de contraste calentado (42°C) a una presión de 85 mm Hg durante 3 minutos mientras se controla la presión de perfusión. El corazón se enfría por inmersión en solución salina fría (0°C a 4°C) hasta que solidifique (microfil amarillo). A continuación, se retira el corazón y se fija en solución de paraformaldehído al 4% (4°C) durante la noche. Se utilizan corazones enteros para la obtención de imágenes por micro CT del crecimiento colateral coronario. La vasculatura coronaria se visualiza con micro-CT. En resumen, todo el corazón se escanea en incrementos de 1° aproximadamente 360° alrededor de su eje longitudinal de vértice a base. La resolución espacial seleccionada en el presente estudio tiene un tamaño de $18 * 18 * 18 \text{ m}^3$ de vóxel para enfocarse en el tamaño de los vasos colaterales y minimizar las señales de los vasos más pequeños. Finalmente, los datos de CT se reconstruyen como imágenes 3D. El objetivo principal de estas imágenes es establecer la presencia o ausencia de conexiones anastomóticas arterioarteriales. Los vasos colaterales, es decir, las conexiones anastomóticas arteriales-arteriales, son contadas por observadores independientes para los grupos.

1.5. Protocolo experimental

El protocolo de isquemia repetitiva (RIP) es introducido por inflación automatizada del ocluidor usando el siguiente protocolo: 40 segundos de oclusión cada 20 minutos durante 2 horas 20 minutos, seguido por un período de "descanso" (deflación) durante 5 horas 40 minutos. Este conjunto de 8 horas se repite 3 veces al día durante 5, respectivamente 10 días (solo en los módulos 1A y 2A). La LAD se ocluye automáticamente por inflado o deflación a distancia a través del catéter. En ratas EN SIMULACIÓN (véase el módulo 1), se implanta el globo, pero no se aplica RIP. Las ratas bajo protocolo RI se dividen aleatoriamente en los tres módulos 2, 3 y 4.

1.6. Detección de tamaño de infarto

El tamaño del infarto será detectado por tinción con TTC después de la oclusión permanente final. Después de 5, respectivamente 10 días (solo en los módulos 1A y 2A) del protocolo experimental, el ocluidor se infla permanentemente durante 90 minutos. El tamaño del infarto se medirá mediante tinción con TTC ($n = 10/\text{grupo}$). Por lo tanto, las ratas son anestesiadas y se someten nuevamente al registro de ECG para confirmar la oclusión (elevación de ST) y para calcular los parámetros de ECG y el número de arritmias. En animales sin colaterales, la oclusión coronaria causa deterioro de la hemodinámica sistémica y arritmias, incluyendo contracciones ventriculares

prematuras, taquicardia ventricular y fibrilación ventricular; en animales con colaterales bien desarrollados, no se observan tales efectos adversos.

5 El pecho se abre mediante toracotomía media. El corazón se corta inmediatamente y se secciona desde el ápex hasta la base en cortes transversales de 2 mm de espesor paralelos a la ranura atrioventricular. Las secciones se incuban con amortiguador de fosfato sódico 0,09 mol/L que contiene 1,0% de cloruro de trifetil tetrazolio (TTC) y 8% de dextrano durante 20 min. A 37 ° C. Las secciones se fijan en formaldehído al 10% y luego se fotografían con una cámara digital montada en un estereomicroscopio. El tamaño infartado se cuantifica utilizando un programa planimétrico computarizado (Adobe Photoshop). El área infartada se identifica como el tejido TTC-negativo y se expresa como un porcentaje del área del ventrículo izquierdo (LV).

1.7. Detalles sobre los compuestos de prueba

ASA	Productos químicos Merck
NO intermitente	Solución de nitroglicerina, Nitrolingual akut® Spray, G. Pohl-Boskamp GmbH & Co. KG, Hohenlockstedt, Alemania
NO continuo (ISDN Retardo)	Píldora con retardo de isosorbida dinitrato; Nitrosorbon® retardo; G. Pohl-Boskamp GmbH & Co. KG, Hohenlockstedt, Alemania
Compuesto portador para NO intermitente (NTG-Placebo)	Solución de placebo de Nitrolingual akut® Spray, G. Pohl-Boskamp GmbH & Co. KG, Hohenlockstedt, Alemania
Compuesto portador para NO continuo (ISDN-Placebo)	Píldoras neutrales de Nitrosorbon® retardo, G. Pohl-Boskamp GmbH & Co. KG, Hohenlockstedt, Alemania
Amortiguador de control	PBS (solución salina regulada con fosfato)

15 1.8. Ruta, tiempo y concentración de administración a los animales

Todos los fármacos (ASA y NTG y ISD Retardo) se administran directamente en un tiempo siguiente de oclusión del dispositivo. El amortiguador de control (PBS) se da de la misma manera antes de las dos primeras oclusiones.

20 NO intermitente (NTG)

Se prepara una nueva solución de ensayo cada mañana a las ocho en punto. La solución se toma de los viales a través de jeringas. Se administra NO intermitente (NTG) dos veces al día con un intervalo de tiempo de 8 horas. Debido a la instrumentación crónica de las ratas y para evitar un mayor estrés, se administra NTG mediante aplicación bucal. En los módulos 1, 2 y 4 se administran 50 µl de la solución de ensayo preparada diariamente, que contiene 13,3 µg de nitroglicerina (equivalente a una dosis humana de 0,8 mg) por aplicación bucal. El punto de aplicación es directamente al comienzo de la inflación con balón a las 9 y 5 pm, con efectos máximos sobre las arterias colaterales reclutadas. Esta concentración se toma de los viales de reacción antes mencionados antes de la administración.

30 La solución de compuesto portador se sirve como una solución madre para la preparación de la solución de ensayo.

Compuesto portador para NO intermitente (NTG-Placebo)

El compuesto portador se administra de una manera idéntica a NO intermitente.

35

NO continuo (ISD Retardo)

El medicamento para el suministro prolongado de NO (retardar la preparación de dinitrato de isosorbida = ISDN de nitrato de acción prolongada) se suministra como gránulos retardados 1x por día.

40

Para la RDSI de preparación de retardo se elige una dosificación de 2,6 mg de ISDN/rata. Por lo tanto, se suspenden 13 mg de pellas en 0,5 ml de agua potable y se aplican por sonda a las 9 a.m. cada mañana (equivalente a una dosis humana de 2 mg/kg/peso corporal).

45 NO Compuesto portador continuo (ISDN-Placebo)

El compuesto portador se administra de una manera idéntica a NO continuo.

NO intermitente más ASA (ácido acetilsalicílico)

50

Cada mañana, a las 9.30 a.m. se dan 2,22 mg de ASA por rata, disueltos en 0,5 ml de agua potable por ingestión

directamente en el estómago. La concentración de ASA de 2,22 mg ASA por rata (6,34 mg/kg) se correlaciona con la dosificación humana de 100 mg/día.

1.9. Animales y grupos

- 5 10 ratas por grupos (FPO = oclusión permanente final para inducir infartos)
- Grupo d: 3 animales adicionales son tratados con los mismos medicamentos y esquema de ligación como los grupos correspondientes a, b y c, pero sin FPO. Estos 9 animales por módulo se utilizan para imágenes de micro-CT /
- 10 Módulo 1: Operación EN SIMULACIÓN (sin el RIP):
- A. Regulador de control (PBS con solución salina regulada con fosfato) con FPO funcional para la detección del tamaño del infarto n = 20
- 15 1. n=10: "5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN"
2. n=10 "10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN"
- B. Compuesto portador sin NO más FPO funcional para la detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO"
- 20 C. NTG con FPO funcional para la detección del tamaño del infarto
n = 10: "5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG"
D. A1.) n=3 A2.) n=3 B) n=3 C) n=3 para las imágenes de micro CT
- 25 n=12
- total: n=52
- Módulo 2: NO intermitente:
- 30 A. Regulador de control intermitente con FPO funcional para la detección del tamaño del infarto n = 20
1. n=10: "5 DÍAS RIP PBS"
2. n=10: "10 DÍAS RIP PBS"
- 35 B. Compuesto portador intermitente más FPO funcional para detección de tamaño de infarto n = 10: "5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO"
C. NTG intermitente con FPO funcional para la detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS RIP NTG"
D. A1.) n=3 A2.) N = 3 B) n = 3 C) n = 3 para las imágenes de micro TC
- 40 n=12
- total: n=52
- Módulo 3: NO continuo:
- 45 A. Regulador de control continuo (agua potable) con FPO funcional para la detección del tamaño del infarto (n = 10): "5 DÍAS RIP DW"
B. Compuesto portador continuo más FPO funcional para la detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS RIP ISDN-PLACEBO"
- 50 C. FPO sin FPO continua para la detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS RIP ISDN"
D. A.) n = 3 B.) n = 3 C.) n = 3 para las imágenes de micro TC
n=9
- total: n=(39)
- 55 Modulo 4: NO intermitente más ASA
- A. Amortiguador de control intermitente más ASA con FPO funcional para la detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS RIP PBS + AS°A"
- 60 B. Compuestos portadores de NO intermitentes más ASA más FPO funcional para detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO + ASA"
C. NTG intermitente más FPO funcional ASA para la detección del tamaño del infarto n = 10: "5 DÍAS RIP NTG + ASA"
D. A.) n = 3 B.) n = 3 C.) n = 3 para las imágenes de micro TC
- 65 n=9

total: n=39

3. Resultados

5 3.1 Oclusión permanente final

La oclusión de LAD permitió un estudio prospectivo de la función de los vasos colaterales. Tales vasos pueden proteger el tejido miocárdico con riesgo de isquemia después de la oclusión coronaria.

10 Al final del protocolo RMI se realizó la oclusión permanente de LAD en un subgrupo de todos los grupos y se midieron los parámetros del ECG para examinar la elevación del segmento ST y las arritmias ventriculares. Después de 90 minutos de oclusión permanente se determinó el área infartada.

15 3.2 Análisis de ECG

Las manifestaciones electrocardiográficas de la isquemia iniciadas por la oclusión de la LAD son menos pronunciadas cuando están presentes vasos colaterales.

20 3.3. Elevación del segmento ST

Durante la oclusión de LAD existe una correlación inversa entre la magnitud de la elevación del segmento ST y la extensión del suministro colateral. La función colateral es un determinante importante de la dirección de la respuesta del segmento ST a la isquemia durante la oclusión coronaria aguda. La elevación reversible del segmento ST durante la oclusión aguda de LAD se relaciona con la insuficiente función arterial colateral. En pacientes con depresión reversible del segmento ST, la función colateral coronaria parece ser mejor y, como consecuencia, muestra menos resultados de isquemia.

30 Durante una oclusión de 90 minutos, la elevación del segmento ST en el "10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN" es significativamente mayor en comparación con el grupo "10 DÍAS RIP PBS" (10 DÍAS EN SIMULACIÓN, n = 7: $0,124 \pm 0,039$ mV; 10 DÍAS RIP, N = 7: $0,055 \pm 0,033$ mV). Por el contrario, la elevación del segmento ST en el "5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN" es similar al grupo de "5 DÍAS RIP PBS" (5 DÍAS EN SIMULACIÓN, n = 8: $0,134 \pm 0,034$ mV, 5 DÍAS RIP, n = 8: $0,104 \pm 0,016$ mV) (Figuras 1 y 2).

35 Módulo 1: Operación EN SIMULACIÓN (sin el RIP)

No hay valor significativo entre los tres grupos EN SIMULACIÓN (5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $0,134 \pm 0,034$ mV, 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO, n = 6: $0,131 \pm 0,043$ mV, 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG, n = 7: $0,124 \pm 0,058$ mV) (Figuras 3 y 4).

40 Módulo 2: NO intermitente (NTG)

En el grupo NTG ("5 DÍAS RIP NTG") la elevación del ST está significativamente disminuida en comparación con el grupo PBS (5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $0,104 \pm 0,016$ mV, 5 DÍAS RIP NTG, n = 7: $0,052 \pm 0,030$ mV). No hay valor significativo entre el grupo PBS y NTG-PLACEBO (5 DÍAS NTG-PLACEBO: n = 6; $0,096 \pm 0,061$ mV) (Figuras 5 y 6).

45 Módulo 3: NO continuo (RDSI Retardo)

La elevación del segmento ST en el grupo ISDN ("5 DÍAS RIP ISDN") está disminuida en comparación con el grupo PBS (5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $0,104 \pm 0,016$ mV, 5 DÍAS RIP ISDN, n = 7: $0,062 \pm 0,027$ mV), pero no hay valor significativo, así como entre el PBS y el grupo ISDN-PLACEBO (5 DÍAS ISDN-PLACEBO, n = 7: $0,110 \pm 0,069$ mV) (Figuras 7 y 8).

Módulo 4: NO intermitente más ASA

55 La elevación del segmento ST en el grupo tratado con PBS y ASA es mayor en comparación con el grupo control de PBS (5 DÍAS RIP ASA + PBS, n = 7: $0,138 \pm 0,098$ mV, 5 DÍAS RIP PBS, n = 8; $0,104 \pm 0,016$ mV), pero no hay valor significativo, así como entre el grupo ASA + NTG-PLACEBO (5 DÍAS RIP ASA + NTG-PLACEBO, n = 6: $0,144 \pm 0,091$ mV). En el grupo ASA + NTG, la elevación del ST disminuye en comparación con el grupo tratado con ASA y PBS (5 DÍAS RIP NTG + ASA, n = 7: $0,088 \pm 0,071$ mV) (Figuras 9 y 10).

60 3.4. Arritmias Ventriculares

La importancia de los latidos ventriculares prematuros (VPBs) es el resultado de su posible asociación con un mayor riesgo de muerte súbita cardíaca. Los VPB fueron estratificados según la clasificación de Lown. Se ha demostrado que un grado alto de Lown predice la mortalidad después del infarto agudo de miocardio.

65

Grado 0: ausencia de latidos ectópicos ventriculares
 Grado I: VPB ocasionales y aislados
 Grado II: VPB frecuente (> 1/min o 30/h)
 Grado III: VPB multiforme

5
 (a) VPB
 (b) Bigémico

Grado IV: VPB repetitivo

10
 (a) Cupletes
 (b) Salvos

Grado V: VPB temprano

15
 Módulo 1: Operación EN SIMULACIÓN (sin el RIP)

20 En el grupo "5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN" el 87,5% de las ratas tienen arritmias de clase IVb y 12,5% de clase IVa. En el grupo "5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO" el 83,3% tiene arritmias IVb y el 16,7% IVa y en el grupo "5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG" el 85,7% tiene arritmias IVb y el 14,3% arritmias clase IIIa (Figura 11).

Módulo 2: NO intermitente (NTG)

25 En el grupo de "5 DÍAS RIP PBS", el 75,0% de las ratas tienen arritmias de clase IVb, 12,5% de IVa y 12,5% de clase 0. En cuanto al grupo "5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO", el 66,7% de las ratas presentaron arritmias de clase IVb, 16,7% de IVa y 16,7% de clase IIIb. Curiosamente, el grupo "5 DÍAS RIP NTG" muestra 42,9% de arritmias de clase IVb y 57,1% de arritmias de clase 0 (Fig. 12).

Módulo 3: NO continuo (RDSI Retardo)

30 En el grupo "5 DÍAS ISDN-PLACEBO", el 57,1% de las ratas tienen arritmias de clase IVb, 14,3% de clase IVa y 28,6% de clase IIIb. El grupo "5 DÍAS RIP ISDN" muestra arritmias menos severas con 57,1% de clase IVb, 28,6% de clase IVa y 14,3% de arritmias de clase 0 (Fig. 13).

35 Módulo 4: NO intermitente más ASA

En el grupo "5 DÍAS RIP ASA + PBS", en el grupo tratado con ASS + NTG-PLACEBO y en el grupo de "5 DÍAS RIP ASS + NTG" el 83,3% de las ratas poseen arritmias de clase IVb y 16,7% de clase IIIa.

40 Con respecto al porcentaje de cada grado de Lown de cada grupo, se puede determinar una puntuación de VBP. Cuantos más animales muestren un grado más alto, mayor es la puntuación VBP (Fig. 15).

Figura 15: Puntaje VPB

45 Tabla 1: puntaje VPB

grupo	Puntaje VPB
Modulo 1	
PBS EN SIMULACIÓN	5,88
EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO	5,83
EN SIMULACIÓN NTG	5,77
Modulo 2	
RIP PBS	5,10
RIP NTG-PLACEBO	4,84
RIP NTG	3,60
Modulo 3	
RIP PBS	5,10
RIP ISDN-PLACEBO	5,29
RIP ISDN	4,57
Modulo 4	
RIP ASA + PBS	5,50

RIP ASA + NTG-PLACEBO	5,50
RIP ASA + NTG	5,50

3.5. Tamaño del infarto

Después de 90 minutos de oclusión de LAD y 20 minutos de reperfusión, se analizó el tamaño del infarto.

5 El grupo "10 DÍAS RIP PBS" tiene un área de infarto significativamente menor en comparación con el grupo "10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN" (10 DÍAS RIP PBS, n = 6: $6,57 \pm 3,26\%$, 10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 7 : $13,71 \pm 6,06\%$). No hay valor significativo entre los dos grupos de 5 DÍAS (5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $13,36 \pm 5,22\%$, 5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $11,05 \pm 5,12\%$) (Fig. 16).

10 Módulo 1: Operación EN SIMULACIÓN (sin el RIP)

15 No hay valor significativo entre los tres grupos EN SIMULACIÓN (5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 8: $13,36 \pm 5,22$ mV, 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO, n = 6: $14,21 \pm 5,79$ mV, 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG, n = 7: $14,09 \pm 5,18$ mV) (figura 17).

Módulo 2: NO intermitente (NTG)

20 En comparación con el "5 DÍAS RIP PBS", se observa un área de infarto significativamente menor en el grupo de "5 DÍAS RIP NTG" (5 DÍAS RIP PBS, n = 8: $11,05 \pm 5,12\%$, 5 DÍAS RIP NTG, n = 7: $3,61 \pm 2,08\%$). No hay valor significativo entre el grupo PBS y NTG-PLACEBO (5 DÍAS NTG-PLACEBO: n = 6, $9,80 \pm 6,79$ mV) (Figura 18).

Módulo 3: NO continuo (RDSI Retardo)

25 El tamaño de infarto en el grupo ISDN ("5 DÍAS RIP ISDN") es más pequeño comparado con el grupo PBS (5 DÍAS RIP PBS, n = 8, $11,05 \pm 5,12\%$, 5 DÍAS RIP ISDN, n = 7: $7,59 \pm 4,38\%$), así como el grupo ISDN-PLACEBO (5 DÍAS ISDN-PLACEBO, n = 6: $9,97 \pm 3,65\%$) (Figura 19).

Módulo 4: NO intermitente más ASA

30 El tamaño del infarto en el grupo tratado con ASA ("5 DÍAS ASA + PBS") se aumenta mínimamente en comparación con el grupo control de PBS (5 DÍAS RIP ASA + PBS, n = 6: $12,51 \pm 3,05\%$; 5 DÍAS RIP PBS, n = 8, $11,05 \pm 5,12\%$), así como el grupo ASA + NTG - PLACEBO (5 DÍAS RIP ASA + NTG - PLACEBO, n = 6: $13,92 \pm 1,71\%$). No hay diferencia entre el grupo ASA + NTG y el grupo tratado con ASA y PBS (Figura 20).

35 Sin embargo, el área de infarto en el grupo NTG es significativamente menor en comparación con el grupo ASA + NTG (5 DÍAS RIP NTG, n = 7: $11,05 \pm 5,12\%$, 5 DÍAS RIP NTG + ASS, n = 6: $13,00 \pm 3,82\%$).

40 3.6. Imágenes Microvasculares Coronarias Con Micro-CT

45 Las arterias colaterales son vasos preexistentes que discurren paralelos a una arteria principal. En caso de que la arteria principal esté ocluida, incluso durante un corto período de tiempo (40 segundos durante este RIP), los colaterales asumen el suministro de sangre. Como resultado, las arterias colaterales en esta área (ROI, región de interés) comienzan a crecer en longitud (claramente visible por el patrón de sacacorchos) y más notablemente en su diámetro. Así que medimos el diámetro de los colaterales en el ROI.

Módulo 1: Operación EN SIMULACIÓN (sin el RIP)

50 No hay valor significativo entre los tres grupos EN SIMULACIÓN (5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN, n = 3: $82,7 \pm 3,7$ μm , 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG-PLACEBO, n = 3: $89,6 \mu\text{m} \pm 10,6 \mu\text{m}$, 5 DÍAS EN SIMULACIÓN NTG, N = 3: $86,8 \pm 9,0 \mu\text{m}$) (Figuras 22 y 26).

Módulo 2: NO intermitente (NTG)

55 En comparación con el "5 DÍAS RIP PBS", los diámetros de los colaterales en el ROI en el grupo "5 DÍAS RIP NTG" se incrementan significativamente (5 DÍAS RIP PBS, n = 3: $129,8 \pm 6,9 \mu\text{m}$, 5 DÍAS RIP NTG, n = 3: $158,4 \pm 9,2 \mu\text{m}$). No hay diferencia entre el grupo PBS y NTG-PLACEBO (5 DÍAS NTG-PLACEBO: n = 3; $127,0 \pm 12,1 \mu\text{m}$) (Figuras 23 y 26).

60 Módulo 3: NO contin * s (ISD Retardo) *

El diámetro de las colaterales en el grupo ISDN ("5 DÍAS RIP ISDN") se mejora en comparación con el grupo PBS (5 DÍAS RIP PBS, n = 3: $129,8 \pm 6,9 \mu\text{m}$; 5 DÍAS RIP ISDN, n = 3 : $148,2 \pm 11,3 \mu\text{m}$), así como en comparación con el grupo ISDN-PLACEBO (5 DÍAS ISDN-PLACEBO, n = 3: $133,0 \pm 11,5 \mu\text{m}$) (Figuras 24 y 26).

Módulo 4: NO intermitente más ASA

5 El diámetro en el grupo tratado con PBS y ASA es menor en comparación con el grupo de control de PBS (5 DÍAS RIP PBS + ASA, n = 3: $102,5 \pm 8,0 \mu\text{m}$, 5 DÍAS RIP PBS, n = 3: $129,8 \pm 6,9 \mu\text{m}$), pero no hay valor significativo, así como el grupo ASA + NTG-PLACEBO (5 DÍAS NTG-PLACEBO + ASA, n = 3: $97,1 \pm 8,61 \mu\text{m}$). En el grupo ASA + NTG el diámetro está aumentado en comparación con el grupo tratado con PBS y ASA (5 DÍAS RIP ASA + NTG, n = 3: $124,4 \pm 5,6 \mu\text{m}$) (Figuras 25 y 26).

10 4. Conclusión

15 Se examinaron los grupos "10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN" y "5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN", cada uno sin un RIP (protocolo isquémico repetitivo) y los grupos "10 DÍAS RIP PBS" y "5 DÍAS RIP PBS", cada uno con un RIP de cinco y diez días. La medición del volumen del infarto después de una oclusión permanente de LAD de 90 minutos (FPO, oclusión permanente final) reveló áreas infartadas significativamente más pequeñas en el grupo RIP de 10 DÍAS que en el grupo "10 DÍAS EN SIMULACIÓN". En contraste, después de un RIP de cinco días, no se observaron diferencias en el grupo EN SIMULACIÓN y RIP.

20 Por otra parte, se utilizaron parámetros de ECG para los exámenes y la evaluación por primera vez. Se ha encontrado que la elevación máxima ST después de FPO de la LAD no mostró diferencias cruciales entre "5 DÍAS RIP PBS" y grupos EN SIMULACIÓN, sin embargo. Sin embargo, después de 10 días las elevaciones del ST disminuyeron significativamente en el grupo RIP.

Aparte de la medición de la elevación del ST durante FPO, pudimos analizar y evaluar las arritmias de manera diferenciada.

25 Con base en estos nuevos conocimientos sobre la caracterización del modelo RMI de ratas, decidimos utilizar un RIP de 5 días en el caso de una estimulación esperada de la arteriogénesis. Sin embargo, el grado de aumento de elevación de ST y el volumen de infarto después de un RIP de 10 días se pueden obtener con sustancias proarteriogénicas dentro de un RIP de 5 días.

30 Esto proporciona parámetros adicionales que pueden aprobar nuestros resultados de medición de volumen de infarto.

35 La aplicación intermitente de la solución de NTG (dos veces al día en la mucosa bucal) disminuyó las arritmias graves del corazón de la rata durante FPO en comparación con el grupo de control. Además, el volumen de infarto se reduce en más del 50% después de 90 minutos de FPO en comparación con el grupo de control. Esta reducción en el tamaño del infarto ni siquiera se puede obtener con los controles establecidos a un RIP de 10 días. Además, un tratamiento con solución de NTG atenuó significativamente la elevación del ST durante FPO. Sobre la base de los análisis de μCT , fueron medibles las arterias colaterales significativamente ampliadas.

40 El tratamiento de las ratas con ISDN Retardo (una vez al día vía intragástrica) también condujo a disminuciones en la elevación del ST durante FPO, menos arritmias y volúmenes de infarto reducidos. Sin embargo, estas mejoras de los parámetros del infarto son menos distintas en comparación con el tratamiento con NTG. Además, no mostraron ningún significado. En comparación con los controles, el tratamiento con ASA mostró un deterioro de los parámetros de ECG y un aumento de los volúmenes de infartación debido al deterioro del crecimiento colateral. Estos efectos negativos de ASA sobre la arteriogénesis ya son conocidos. Curiosamente, pueden ser parcialmente eliminados mediante un tratamiento adicional con NTG (dos veces al día en la mucosa bucal). Así, los diámetros colaterales se agrandaron en el ROI y se mejoraron los parámetros de ECG. Sin embargo, los volúmenes de infarto después de FPO no mostraron reducción. Los grupos EN SIMULACIÓN no difirieron entre sí. Más adelante, no hubo diferencias medidas entre los grupos de placebo y sus correspondientes grupos de control.

50 En conclusión, los resultados presentados indican que un tratamiento intermitente con solución de NTG disminuye el tamaño de un infarto de miocardio inducido experimentalmente. Además, los efectos sobre el ritmo cardiaco pueden mejorar. Estas ideas son de gran relevancia para los aspectos clínicos.

Ejemplo 2

55 Estudio Clínico

Este estudio pretende investigar los efectos de un programa de ejercicio estandarizado supervisado y controlado por un médico para el tratamiento sintomático, la mejora funcional y un aumento de la capacidad arteriogénica en pacientes con CAD estable crónica.

60

1 Diseño del estudio

1.1 Hipótesis y secciones de estudio

65 1.1.1 Hipótesis

I El entrenamiento físico activo controlado por el médico con aplicación intermitente de GTN es superior al entrenamiento físico controlado por un médico activo sin GTN.

(A+) > (A-)

5 II El entrenamiento pasivo con ejercicios controlados por el médico (CardioAccel®) con aplicación intermitente de GTN es superior al entrenamiento físico pasivo controlado por un médico sin GTN.

(P+) > (P-)

10 III La terapia CAD conservadora con aplicación intermitente de GTN es superior a la terapia conservadora de CAD sin GTN.

1.1.2 Secciones de estudio

15 A + Entrenamiento activo de ejercicios controlados por el médico con aplicación intermitente de GTN

A- Entrenamiento activo controlado por un médico

P + Entrenamiento físico pasivo controlado por el médico (CardioAccel®) con aplicación intermitente de GTN

20 P- Entrenamiento pasivo controlado por el médico (CardioAccel®)

C + Tratamiento CAD conservador con aplicación intermitente de GTN

25 C- Terapia conservadora CAD

Los pacientes pueden usar GTN en caso de angina pectoris, sin embargo se les suministrará un GTN de estudio adicional para el uso del estudio.

30 Ejercicio activo controlado por un médico con aplicación intermitente de GTN. Mejor terapia médica y atención habitual según se detalla en las guías actuales (AHA, ESC) para el cuidado de pacientes con angina estable crónica. Intervalos de ejercicio físico diario (de lunes a viernes) de 30 min (≥ 1 W/kg de peso corporal, siguiendo la estratificación del riesgo y el cálculo y ajuste individual de la intensidad del entrenamiento según se detalla en las directrices actuales de la EACPR por un total de seis semanas. Se permite el uso para el tratamiento de episodios de angina. Además, se administran GTN 0,4 mg 2-5 min antes del comienzo del ejercicio.

35 Ejercicio activo controlado por un médico. Mejor terapia médica y atención habitual según se detalla en las guías actuales (AHA, ESC) para el cuidado de pacientes con angina estable crónica. Diariamente (de lunes a viernes) intervalos de ejercicio físico (caminadora) de 30 min (≥ 1 W/kg de peso corporal), siguiendo la estratificación del riesgo y el cálculo individual y ajuste de la intensidad del entrenamiento como se detalla en las guías EACPR actuales por un total de seis semanas. Se permite el uso de GTN para el tratamiento de episodios de angina pectoris.

45 Ejercicio pasivo controlado por un médico (CardioAccel®) con aplicación intermitente de GTN. Mejor terapia médica y atención habitual según se detalla en las guías actuales (AHA, ESC) para el cuidado de pacientes con angina estable crónica. Los intervalos diarios de tratamiento CardioAccel® de una hora por día durante un total de seis semanas, según lo detallado (Arora RR, Chou TM, Jain D, Fleishman B, Crawford L, McKiernan T, Nesto RW. La contrapulsación externa mejorada (MUST-EECP): efecto de la EECP sobre la isquemia miocárdica inducida por el ejercicio y los episodios de angina pectoris J Am Coll Cardiol, 1999 Jun; 33 (7): 1833-40). Se permite el uso de GTN para el tratamiento de episodios de angina pectoris. Además, se administran 0,4 mg de GTN 2-5 minutos antes del inicio del ejercicio. Se permite el uso de GTN para el tratamiento de episodios de angina pectoris.

50 Ejercicio pasivo controlado por un médico (CardioAccel®). Mejor terapia médica y atención habitual según se detalla en las guías actuales (AHA, ESC) para el cuidado de pacientes con angina estable crónica. Los intervalos de tratamiento CardioAccel® diarios (de lunes a viernes) de una hora por día durante un total de seis semanas, según se detalla (Arora et al., Supra). Se permite el uso de GTN para el tratamiento de episodios de angina. Terapia conservadora de CAD con aplicación intermitente de GTN.

Terapia conservadora de CAD con aplicación intermitente de GTN

60 Mejor terapia médica y atención habitual según se detalla en las guías actuales (AHA, ESC) para el cuidado de los pacientes con angina crónica estable. Se permite el uso de GTN para el tratamiento de episodios de angina pectoris. Además, se administra una vez al día 0.4 mg de GTN, preferiblemente antes del comienzo de una actividad voluntaria de la vida diaria.

65 Terapia conservadora de CAD. Mejor terapia médica y atención habitual según se detalla en las guías actuales (AHA, ESC) para el cuidado de pacientes con angina estable crónica. Se permite el uso de GTN para el tratamiento

de episodios de angina pectoris.

1.2 Diseño de ensayos clínicos

5 1.2.1 Diseño de ensayos clínicos - general

El estudio está diseñado como un

- 10 • prospectivo
- aleatorizado
- multicentro (sitio alemán, sitio estadounidense)

ensayo clínico para evaluar los efectos del trinitrato de glicerilo (Nitrolingual®) sobre la capacidad de ejercicio, siendo el mecanismo patofisiológico propuesto la inducción de efectos proarteriogénicos.

15 Puntos finales del estudio

Primario

20 Cambios en la capacidad de ejercicio funcional, medidos en la visita 3 por el volumen máximo de absorción de oxígeno (VO₂ máx.) y la absorción máxima de oxígeno en el umbral anaeróbico (VO₂ máx. AT) desde una línea base en una prueba de cinta rodante en un ejercicio estandarizado (sETT)

Secundario

25 Los cambios en

(1) El tiempo hasta la isquemia inducida por el ejercicio, medida por el tiempo hasta una depresión del segmento ST de > 1 mm en una prueba ergométrica estandarizada (sETT)

30 (2) las respuestas hemodinámicas al sETT, cuantificadas por el producto de presión de velocidad (RPP)¹, que se define como la presión arterial sistólica (mm Hg) multiplicada por la frecuencia cardíaca (bpm). La frecuencia cardíaca, la presión arterial y las tendencias del segmento ST se miden electrónicamente en el punto J + 60 ms,

35 (3) el número de episodios de angina por día,

(4) duración del ejercicio en sETT,

(5) índice relativo de pendiente de pico (RPSI),

40 (4) Aceleración sistólica máxima derivada del Doppler [ACCmax],

(5) estado funcional de CCS y NYHA,

45 (6) Puntuación² en cinta Duke,

¹ El producto de presión por velocidad (RPP) es un índice sensible del consumo de oxígeno miocárdico (mVO₂). Los pacientes se clasifican por el producto de presión por velocidad (RPP) que existía en el momento de máxima depresión ST. En ausencia de depresión ST, se registra el máximo RPP

50 ² La puntuación en la cinta Duke calcula el riesgo; es igual al tiempo de ejercicio en minutos menos (5 veces la desviación del segmento ST, durante o después del ejercicio, en milímetros) menos (4 veces el índice de angina, que tiene un valor de "0" si no hay angina, "1" si se produce angina, y "2" si la angina es la razón para detener la prueba). Entre los pacientes ambulatorios con sospecha de CAD, los dos tercios de los pacientes con

55 (7) Incidencia de eventos cardiovasculares durante la fase de tratamiento y

(8) igual que el criterio de valoración primario, pero un mes después del período de intervención.

1.2.3 Pacientes

60 Los pacientes elegibles deben ser clínicamente estables, recibiendo antes de la inscripción una terapia antianginosa y CAD que esté en plena conformidad con las actuales directrices ESC/AHA para el tratamiento de la CAD crónica estable.

Medicamento prohibido

- 65 • nitratos de acción prolongada

- Sildenafil, etc.
- Compuestos antiinflamatorios (distintos de la aspirina) como esteroides o etanercept, etc.

Criterios de inclusión:

5 Edad > 18 años
Evidencia documentada de enfermedad arterial coronaria estable por pruebas de esfuerzo con ejercicios nucleares positivos, estenosis coronaria documentada angiográficamente o antecedentes de elevación ST documentada o puntajes de infarto de miocardio indicando un bajo riesgo, tuvieron una tasa de supervivencia de 99% (tasa de mortalidad promedio anual 0,25%), y el 4% que tenía puntajes que indicaban alto riesgo tenía una tasa de supervivencia a los cuatro años del 79% (tasa de mortalidad anual promedio del 5%). La puntuación funciona bien tanto para pacientes hospitalizados como para pacientes ambulatorios, y los datos preliminares sugieren que la puntuación funciona igual de bien para hombres y mujeres [Gibbons et al., 2003 AHA/ACC Guideline]

15 Criterios de exclusión:

Intolerancia a los nitratos o intolerancia a cualquier componente de la medicación del estudio. Medicación que plantea un riesgo de interacción farmacológica con GTN.

20 Síndrome coronario agudo o angina inestable ≤ 6 semanas antes.

Estenosis principal izquierda de ≥ 50%.

PCI o CABG ≤ 3 meses antes.

25 Angiografía coronaria ≤ 3 semanas antes.

Insuficiencia cardíaca congestiva/EF de ≤ 30%.

30 Enfermedad valvular del corazón o miocarditis.

Hipertensión no controlada con valores de presión sanguínea ≥ 180/100 mmHg

35 PAD sintomático grave, varicosis, trombosis venosa profunda (actual o en historial médico documentado), flebitis o úlcera.

Trastorno de coagulación o anticoagulación terapéutica.

Arritmias cardíacas que interfieren con el desencadenamiento de ECP

40 Características del ECG que invalidarán la monitorización del segmento ST: depresión del segmento ST basal, ritmos dependientes de marcapasos, duración QRS > 0,12 s, arritmias distintas de la arritmia sinusal.

FEV1 < 1.51.

45 Participación actual en un programa de rehabilitación con ejercicios cardíacos.

Aleatorización

50 Los pacientes inscritos se aleatorizan en una proporción de 1:1:1 para recibir o someterse a entrenamiento activo, terapia CardioAccel® o atención habitual, es decir, una continuación del tratamiento basal de acuerdo con las directrices actuales. Dentro de estos grupos, los pacientes son asignados al azar en una ración de 1:1 a un grupo "+ GTN" o un grupo "-GTN" para recibir trinitrato de glicerol, bien además de su medicación estándar, o no.

55 1.2.4 Planificación, conducción y gestión del estudio

El ensayo es planeado por Arteriogenesis Network Art.Net.

La gestión del estudio será cubierta por Arteriogenesis Network Art.Net.

60 C/o Campus Technologies Freiburg GmbH
Transferencia de Tecnología de la Universidad de Friburgo
Director General: Prof. Dr. Bernhard Arnolds
Stefan-Meier Straße 8, 79104 Freiburg (Alemania)

65 Teléfono: +49 (0) 761 203 4990
Facsímil: +49 (0) 761 203 4992

El patrocinador del ensayo es CTF.

Las estructuras de presentación de informes y los esquemas de notificación se detallarán después de que se hayan asignado los centros participantes.

5

Sitios de investigación

Centros participantes: para determinar contacto en caso de preguntas, diseminación de información contacto en caso de evento adverso, diseminación de información

10

1.2.5 Diagrama de flujo y protocolo del estudio

El diagrama de flujo del estudio se muestra en la figura 27.

15

1.2.6 Asignación de tratamiento

La aleatorización se realizará en los centros conductores a través de sobres.

20

La estratificación se realizará de acuerdo con grupos de edad, sexo y morbilidad.

Las visitas de estudio son llevadas a cabo por un investigador.

25

Los centros de estudio de antemano asignan los investigadores en ciego que no están advertidos de la asignación al azar, y que realizan los exámenes médicos y las pruebas de referencia y de primer seguimiento.

En cada visita de estudio, se indica a los pacientes que rellenen un formulario de evaluación de calidad de vida breve y estandarizado (SF-36³).

30

Los pacientes asignados a los grupos C+/C- son contactados de forma regular por el personal del estudio para ayudar a controlar los posibles efectos de sesgo, ya que estos sujetos no tienen contactos regulares con el personal del estudio como hacen el CardioAccel® o los grupos de ejercicios.

1.2.7 Visitas de estudio

35

Visita 1: Selección de elegibilidad (día 1)

- Historial médico, incluyendo intervenciones previas, examen físico
- Inscripción y/o

40

Visita 2: Visita de línea base (hasta el día 14 (+3 días))

- Historial médico y examen físico detallados, incluyendo la evaluación del número de episodios de angina por día, estado de CCS y NYHA y evaluación de la actividad física voluntaria.

45

- Prueba de cinta con respecto a un estándar, en un equipo de cinta rodante calibrado estándar con capacidad de prueba cardiopulmonar (protocolo modificado de Naughton):

50

³ http://www.rand.org/health/surveys_tools/mos/mos_core_36item.html funcional capacidad de ejercicio funcional (VO₂ máx y VO₂ máx. AT), tiempo hasta la isquemia inducida por el ejercicio, medido en el tiempo hasta una depresión del segmento ST de > 1 mm, producto de presión por velocidad (RPP), frecuencia cardíaca, presión sanguínea y segmento ST medido electrónicamente en el punto J + 60 ms, duración del ejercicio, calificación DUKE en cinta rodante,

55

control continuo de los signos vitales incl. ECG de 12 derivaciones y VO₂ con VO₂max definido como VO₂ al nivel máximo de ejercicio que el paciente individual es capaz de alcanzar (relación respiratoria > 1, umbral anaeróbico)

- Índice relativo de pendiente de pico (RPSI)
- Aceleración sistólica máxima derivada del Doppler [ACCmax]
- Aleatorización

60

Visitas interinas (no programadas)

65

Se aconseja a los pacientes que se comuniquen con el centro de estudio en cualquier momento con respecto a su condición médica. Los pacientes están programados para regresar a sus primeras visitas de seguimiento a las 6 semanas después de la aleatorización.

Visita 3: Seguimiento a corto plazo (1-3 días después del período de intervención)

• Antecedentes médicos y exámenes físicos, incluyendo la evaluación del número de episodios de angina por día, estado de CCS y NYHA y evaluación de la actividad física voluntaria.

• Prueba de la cinta en un equipo de la cinta rodante calibrado estándar con capacidad de la prueba cardiopulmonar (protocolo de Naughton modificado):

capacidad funcional del ejercicio (VO_2 máx y VO_2 máx. AT), tiempo hasta la isquemia inducida por ejercicio según el tiempo a $>$ (RPP), ritmo cardíaco, presión arterial y tendencias del segmento ST medido electrónicamente en el punto J + 60 ms, duración del ejercicio, puntuación de la banda de rodamiento DUKE,

monitorización continua de los signos vitales incl. ECG de 12 derivaciones y VO_2 , con VO_{2max} definido como VO_2 al nivel máximo de ejercicio que el paciente individual es capaz de alcanzar (relación respiratoria $>$ 1, umbral anaeróbico)

- Índice relativo de pendiente de pico (RPSI)
- Aceleración sistólica máxima derivada del Doppler [ACCmax]
- Incidencia de eventos cardiovasculares durante la fase de tratamiento

Visita 4: Seguimiento a largo plazo (1 mes después del período de intervención)

(El propósito de este estudio es evaluar el efecto a largo plazo de la medicación de estudio después del período de intervención).

• Antecedentes médicos y exámenes físicos, incluyendo la evaluación del número de episodios de angina por día, estado de CCS y NYHA y evaluación de la actividad física voluntaria.

• Prueba de la cinta en un equipo de cinta calibrado estándar con capacidad de la prueba cardiopulmonar (protocolo de Naughton modificado):

capacidad funcional del ejercicio (VO_2 máx y VO_2 máx. AT), tiempo hasta la isquemia inducida por ejercicio según el tiempo a $>$ (RPP), ritmo cardíaco, presión arterial y tendencias del segmento ST medido electrónicamente en el punto J + 60 ms, duración del ejercicio, puntuación de la banda de rodamiento DUKE,

monitorización continua de los signos vitales incl. ECG de 12 derivaciones y VO_2 , con VO_{2max} definido como VO_2 al nivel máximo de ejercicio que el paciente individual es capaz de alcanzar (relación respiratoria $>$ 1, umbral anaeróbico)

- Índice relativo de pendiente de pico (RPSI)
- Aceleración sistólica máxima derivada del Doppler [ACCmax]

1.2.8 Consideraciones estadísticas

El parámetro principal de eficacia es la capacidad de ejercicio funcional, medida por el volumen máximo de absorción de oxígeno (VO_2 máx.) y la absorción máxima de oxígeno en el umbral anaeróbico (VO_2 máx AT) en una prueba estandarizada de ejercicio ergométrico (sETT). No suponemos ninguna diferencia en la línea de base, sino valores significativamente más altos en los grupos GTN en el seguimiento.

Métodos estadísticos

Hay dos fuentes principales de varianza que deben considerarse en este ensayo: efectos del tratamiento con GTN y efectos del entrenamiento activo/entrenamiento pasivo/terapia conservadora. En consecuencia, los datos se analizarán en un ANOVA bidireccional. Cualquier efecto terapéutico no relacionado con GTN se informará de forma descriptiva sin estadística de inferencia.

Para los parámetros secundarios se aplicarán las pruebas paramétricas o no paramétricas según corresponda.

Tamaño de la muestra/poder

Para establecer el tamaño de muestra necesario para el ANOVA bidireccional propuesto, se hicieron las siguientes suposiciones (con base en la revisión bibliográfica y los datos internos): poder estadístico = 80%, desviación estándar para la medida del resultado = 15% de la media, tamaño del efecto (diferencia de grupo en el cambio entre GTN sí/no) = 5% de la media. El poder se estableció en una simulación de Monte Carlo basada en 10000 repeticiones por tamaño de muestra en un rango de n por grupo de 30 a 60 pacientes. Esta simulación estableció un

tamaño mínimo de muestra de 48 sujetos por grupo; para permitir posibles deserciones, se propone incluir 50 sujetos por grupo, resultando en un tamaño de muestra total de 300 pacientes.

1.3 Aspectos Éticos y Legales

Los investigadores planifican y llevan a cabo cualquier experimento con seres humanos, incluyendo muestras identificables tomadas de humanos y datos identificables, de acuerdo con

(a) la Declaración de Helsinki (Principios éticos para la investigación médica con seres humanos), celebrada por la Asociación Médica Mundial (AMM) en junio de 1964, en su última revisión;

(b) la Directriz Tripartita Armonizada de la ICH: Directrices sobre Buenas Prácticas Clínicas E6/Conferencia Internacional sobre la Armonización de los Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH E6, 1 de mayo de 1996), así como

(c) los reglamentos alemanes aplicables (por ejemplo, Arzneimittelgesetz) en sus formas actuales, así como los reglamentos aplicables de la FDA (por ejemplo, Guía para Patrocinadores, Investigadores, Elementos de Consentimiento Informado, 21 CFR § 50.25 (c)).

5. Lista de abreviaturas

ACC_{max}: Aceleración sistólica máxima derivada de doppler

Art.Net: Red de Subcontratistas de CTF

CAD: Enfermedad de la arteria coronaria

CardioAccel®: terapia de contrapulsación personalizada

CCS: Canadian Class Society (clasificación de la angina)

CTF: Campus Technologies Freiburg

FSS: esfuerzo de cizallamiento del fluido

GTN: trinitrato de glicerilo

IABP: bomba de balón intraaórtica

NYHA: Asociación del Corazón de Nueva York

RPSI: índice relativo de pendiente de pico

sETT: una prueba estandarizada de ejercicio en cinta

SMC: célula de músculo liso vascular

VO₂ max: volumen máximo de absorción de oxígeno

VO₂ máx AT: consumo máximo de oxígeno en el umbral anaeróbico

La invención se refiere además a los siguientes ítems:

1. Un método para tratar o prevenir una insuficiencia arterial, en donde un donador de NO se administra de una manera intermitente a un sujeto en una manera efectiva para la inducción de la arteriogénesis.

2. El método del ítem 1, en donde la insuficiencia arterial se debe a un suministro insuficiente de oxígeno o sangre de un tejido suministrado por la arteria o una desviación o derivación durante reposo físico o ejercicio.

3. El método de cualquiera de los ítems 1 o 2, en donde la insuficiencia arterial se debe a una mayor demanda de oxígeno o flujo sanguíneo de un tejido suministrado por la arteria o una desviación o derivación.

4. El método de cualquiera de los ítems 1 a 3, en donde la insuficiencia arterial se caracteriza por una oclusión parcial o completa de un vaso arterial.

5. El método de cualquiera de los ítems 1 a 4, en donde la insuficiencia arterial se debe a la deposición de material en los vasos sanguíneos.

6. El método de cualquiera de los ítems 1 a 5, en donde la insuficiencia arterial se debe a una compresión externa o interna de una arteria.

7. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una enfermedad vascular.

8. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en aterosclerosis, una enfermedad isquémica y otra enfermedad arterial crónica.

9. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial coronaria.

10. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial

cerebral.

- 5 11. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial periférica.
12. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial intestinal.
- 10 13. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial urogenital.
14. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial nerviosa.
- 15 15. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial está en el contexto de la esclerodermia.
16. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia central de la arteria retinal.
- 20 17. El método de cualquiera de los ítems 1 a 16, en donde la insuficiencia arterial se caracteriza por la ausencia de una disfunción endotelial.
- 25 18. El método de cualquiera de los ítems 1 a 17, en donde el donador de NO es óxido nítrico, nitroprusiato de sodio, nitroglicerina (trinitrato de glicerilo), mononitrato de isosorbida, dinitrato de isosorbida, tetranitrato de pentaeritritol (PETN), molsidomina, nitrito de amilo o nicorandilo.
19. El método de cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde el donador de NO es un donador de NO de acción corta.
- 30 20. El método de cualquiera de los ítems 1 a 19, en donde el donador de NO es nitroglicerina.
21. El método de cualquiera de los ítems 1 a 19, en donde el donador de NO se administra al menos una vez al día y al menos un día a la semana durante al menos dos semanas.
- 35 22. El método de cualquiera de los ítems 1 a 21, en donde el donador de NO se administra durante un período de varias semanas o meses.
23. El método de cualquiera de los ítems 1 a 22, en donde el donador de NO se administra conjuntamente con una estimulación exógena de las fuerzas de cizallamiento pulsátil en la arteria.
- 40 24. El método del ítem 23, en donde el donador de NO se administra en el periodo de tiempo de 30 minutos antes del comienzo de la estimulación exógena hasta 30 minutos después de la terminación de la estimulación exógena.
- 45 25. El método del ítem 24, en donde el donador de NO se administra en el periodo de tiempo de 15 minutos antes de la estimulación exógena hasta 30 minutos después del inicio de la estimulación exógena.
26. El método de cualquiera de los ítems 23 a 25, en donde dicha estimulación se consigue mediante ejercicio físico o la aplicación de una fuerza endógena al vaso arterial.
- 50 27. El método de cualquiera de los ítems 1 a 26, en donde el método apunta a la prevención de dicha insuficiencia arterial.
28. El método de cualquiera de los ítems 1 a 27, en donde el donador de NO se administra lingualmente, sublingualmente, por inhalación, bucalmente, por vía transmucosa o por vía uromucosa.
- 55 29. Un donador de NO para uso en un método para la prevención o tratamiento de una insuficiencia arterial, en donde el donador de NO se administra de una manera intermitente en una cantidad efectiva para la inducción de la arteriogénesis.
- 60 30. El donador de NO para el uso según el ítem 29, con las características definidas en cualquiera de los ítems 2 a 28.
- 65 31. Un método de supresión de efectos negativos asociado con cualquier tratamiento de una insuficiencia arterial que es antianteriogénica o que inhibe la arteriogénesis, que comprende administrar a un sujeto sometido a dicho tratamiento un donador de NO en una cantidad y manera efectiva para la inducción de la arteriogénesis.

- 5 32. Un donador de NO para su uso en un método de supresión de efectos negativos asociado con cualquier tratamiento de una insuficiencia arterial que es antianteriogénica o que inhibe la arteriogénesis, en donde el donador de NO se administra a un sujeto sometido a dicho tratamiento en una manera efectiva para la inducción de la arteriogénesis.
33. El donador de NO para el uso según el ítem 32 o el método según el ítem 32, con las características definidas en cualquiera de los ítems 2 a 28.
- 10 34. Un método para la prevención o el tratamiento de una arritmia cardíaca, en donde se administra un donador de NO a un sujeto en una cantidad y manera efectiva para el tratamiento de dicha arritmia cardíaca.
35. El método del ítem 34, con las características definidas en cualquiera de los ítems 18 a 28.
- 15 36. Un donador de NO para su uso en un método para la prevención o el tratamiento de una arritmia cardíaca, en donde el donador de NO se administra a un sujeto en una cantidad y manera efectiva para el tratamiento de dicha arritmia cardíaca.
- 20 37. El donador de NO para el uso según el ítem 36, con las características definidas en cualquiera de los ítems 18 a 28.
38. Un método para promover la circulación colateral que comprende la etapa de exponer a un sujeto a una cantidad terapéuticamente efectiva de un donador de NO en donde la cantidad terapéuticamente efectiva del donador de NO promueve la arteriogénesis suficiente para aumentar la circulación colateral en un estado fisiológico o patológico.
- 25 39. El método del ítem 38, en donde el sujeto padece una insuficiencia arterial.
40. El método del ítem 39, con las características definidas en cualquiera de los ítems 2 a 28.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso en un método para la prevención o tratamiento de una insuficiencia arterial, en la que la nitroglicerina se administra lingualmente, sublingualmente, por inhalación, bucalmente, por vía transmucosa u por vía uromucosa de una manera intermitente en una cantidad efectiva para la inducción de arteriogénesis, caracterizada porque la nitroglicerina se administra al menos una vez al día y al menos un día a la semana durante al menos dos semanas.
- 10 2. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso de la reivindicación 1, en la que la insuficiencia arterial se caracteriza por una oclusión parcial o completa de un vaso arterial.
- 15 3. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que la insuficiencia arterial se debe a la deposición de material en los vasos sanguíneos, o en donde la insuficiencia arterial se debe a una compresión externa o interna de una arteria.
- 20 4. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la insuficiencia arterial es una enfermedad vascular, o en donde la insuficiencia arterial es una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en aterosclerosis, una enfermedad isquémica y otra enfermedad arterial crónica adicional, o en donde la insuficiencia arterial es una insuficiencia arterial coronaria, una insuficiencia arterial cerebral, una insuficiencia arterial periférica, una insuficiencia arterial intestinal, una insuficiencia arterial urogenital, una insuficiencia arterial nerviosa, una esclerodermia o una insuficiencia arterial central de la retina.
- 25 5. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la nitroglicerina se administra durante un período de varias semanas o meses.
- 30 6. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la nitroglicerina se administra conjuntamente con una estimulación exógena de las fuerzas de cizallamiento pulsátil en la arteria.
- 35 7. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para el uso de la reivindicación 6, en donde la nitroglicerina se administra en el periodo de tiempo de 30 minutos antes del comienzo de la estimulación exógena hasta 30 minutos después de la terminación de la estimulación exógena.
- 40 8. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso de cualquiera de las reivindicaciones 6 o 7, en la que dicha estimulación se consigue mediante ejercicio físico o la aplicación de una fuerza endógena al vaso arterial.
- 45 9. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el método apunta a la prevención de dicha insuficiencia arterial.
- 50 10. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la nitroglicerina se administra en forma de una pulverización, cápsula masticable, gas inhalable, aerosol o polvo inhalable, gránulos, polvo o una tableta.
- 55 11. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso en un método de supresión de efectos negativos asociados con cualquier tratamiento de una insuficiencia arterial que es antiarteriogénico o inhibidor de arteriogénesis, en la que la nitroglicerina se administra a un sujeto sometido a dicho tratamiento en una cantidad y forma efectivas para la inducción de la arteriogénesis, en donde la nitroglicerina se administra lingualmente, y sublingualmente, por inhalación, bucalmente, por vía transmucosa u por vía uromucosa de una manera intermitente en una cantidad efectiva para la inducción de la arteriogénesis, caracterizada porque la nitroglicerina se administra al menos una vez a día y al menos un día a la semana durante al menos dos semanas, preferiblemente en la que la nitroglicerina se define como en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10.
12. Nitroglicerina (trinitrato de glicerilo) para uso en un método de la reivindicación 11, en el que el tratamiento de una insuficiencia arterial es un tratamiento con ácido acetilsalicílico (ASA), un antagonista de la glicoproteína IIb/IIIa, o un etanercept (receptor soluble del factor de necrosis tumoral).

Figura 1

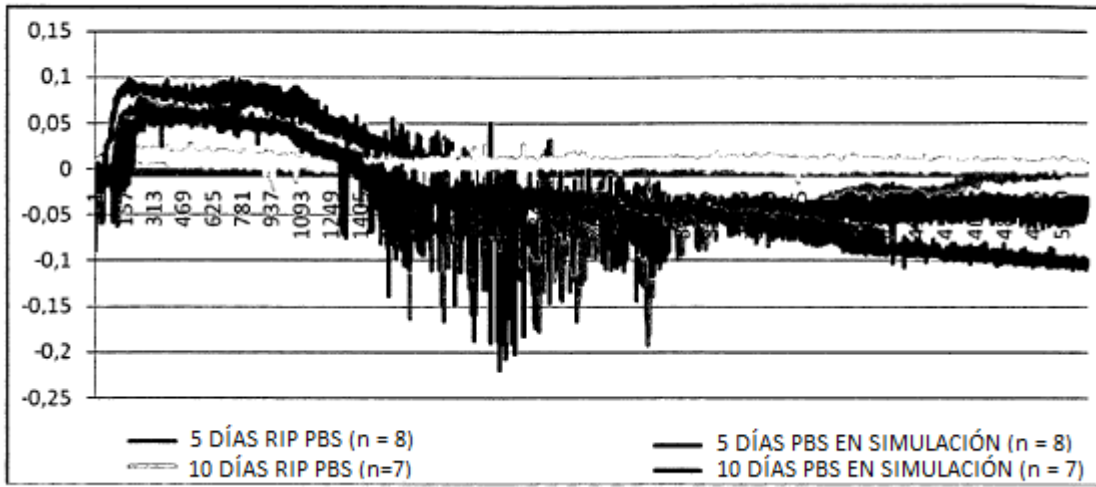


Figura 2

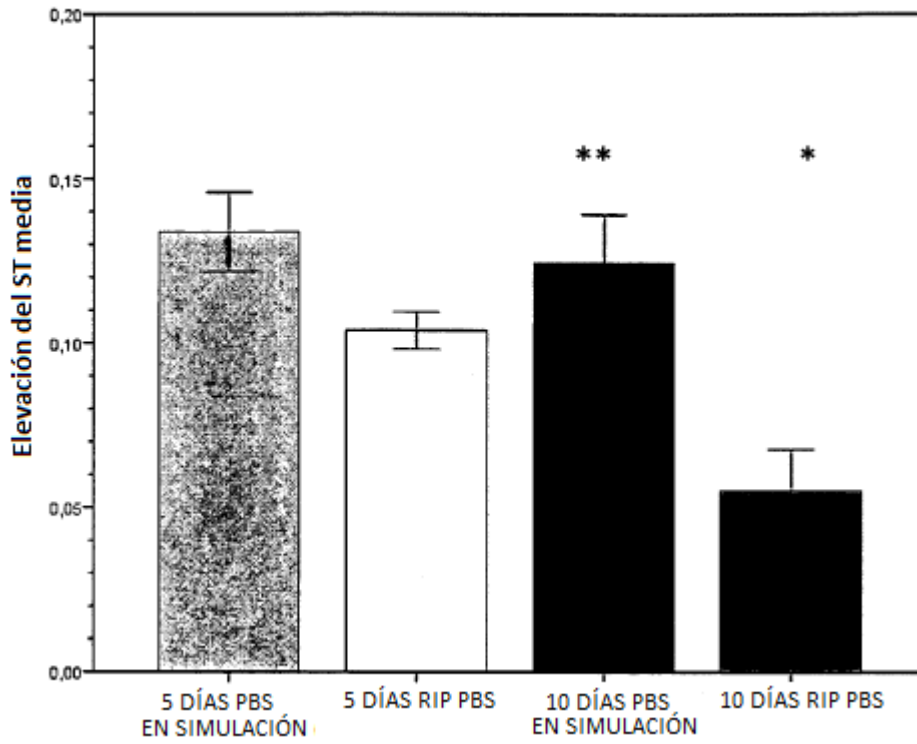


Figura 3

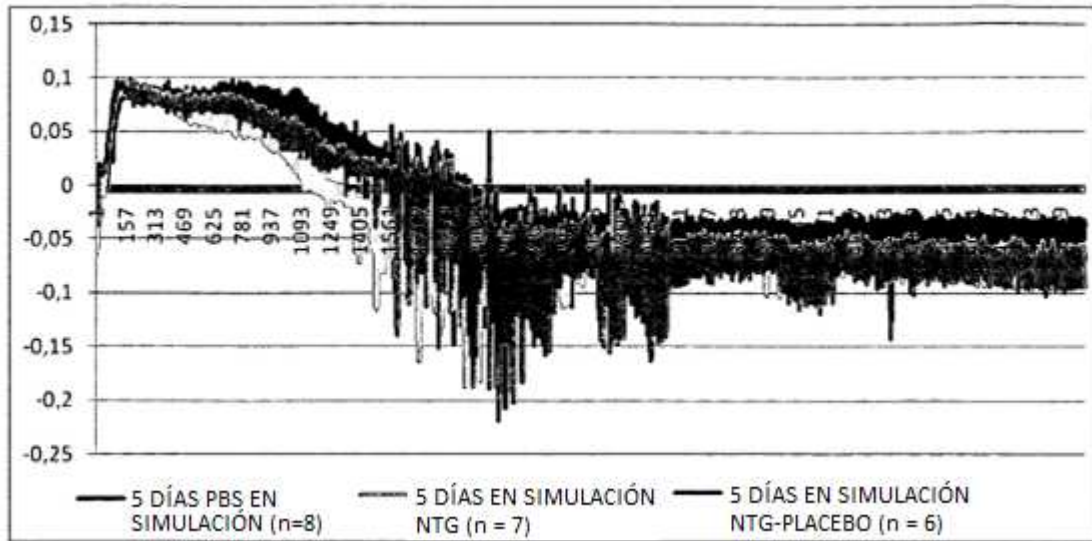


Figura 4

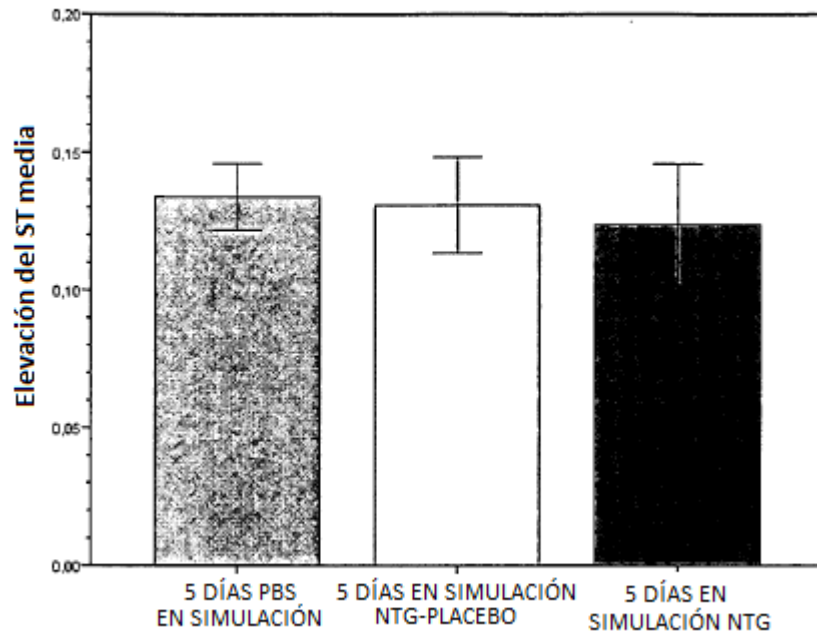


Figura 5

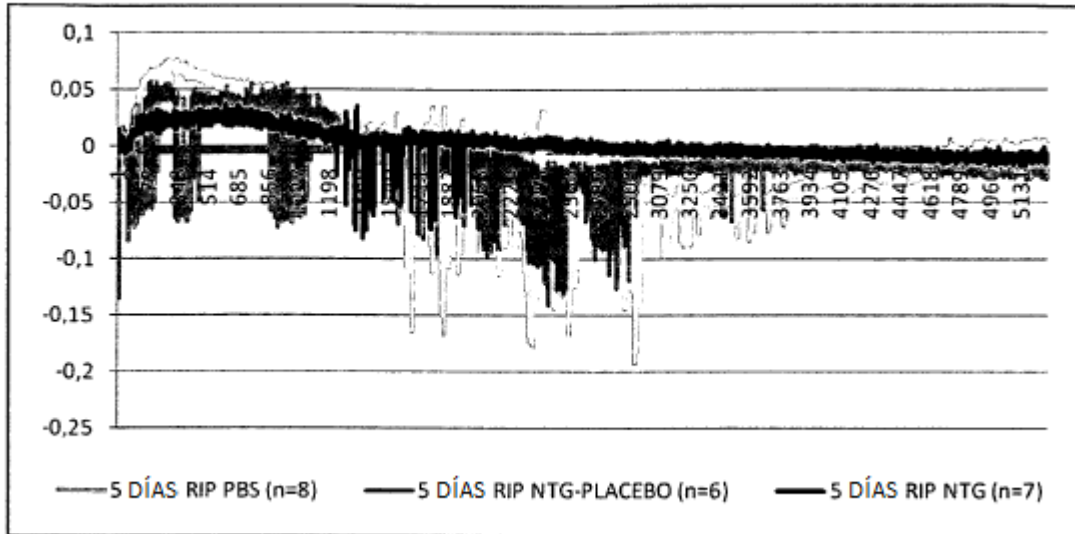


Figura 6

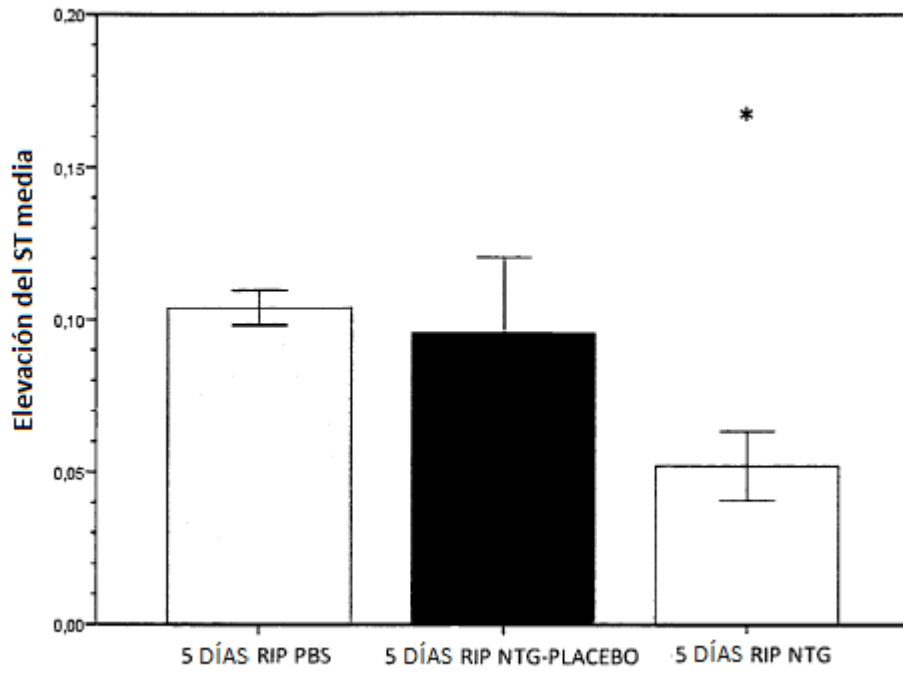


Figura 7

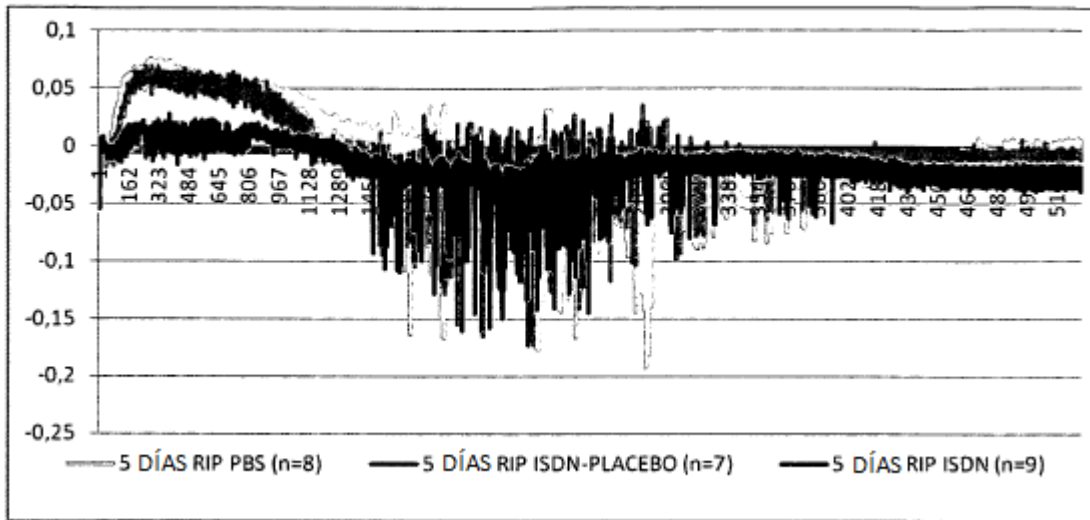


Figura 8

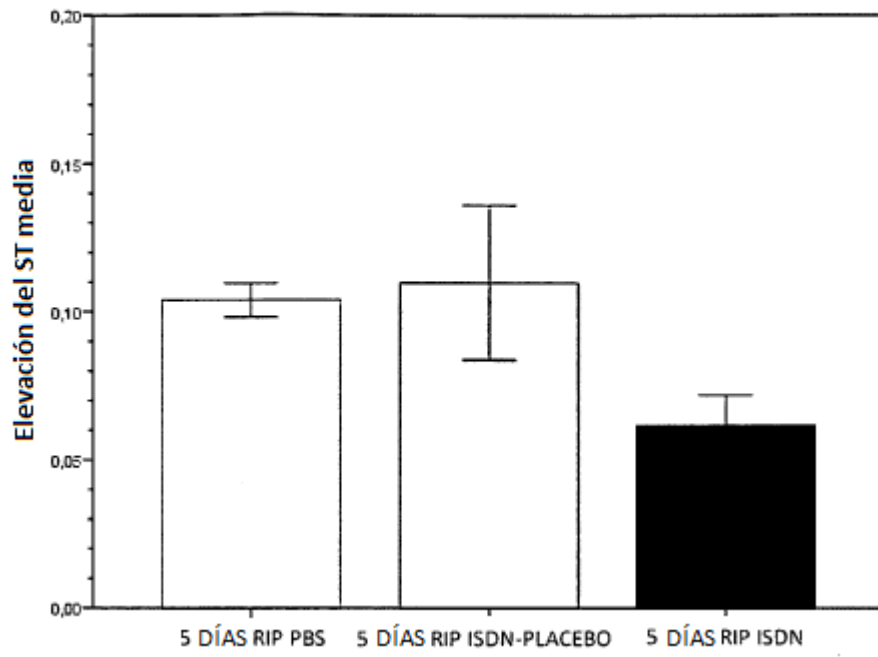


Figura 9

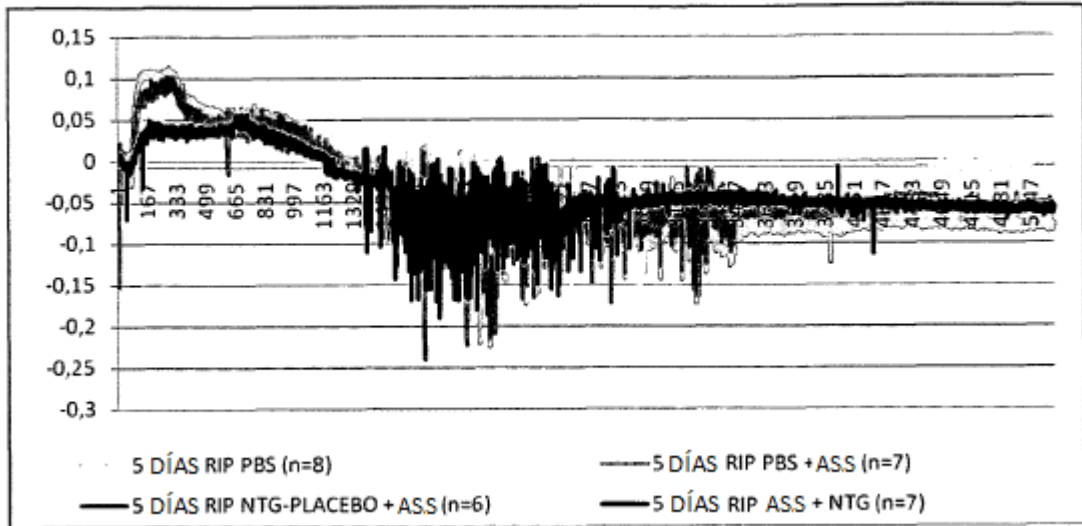


Figura 10

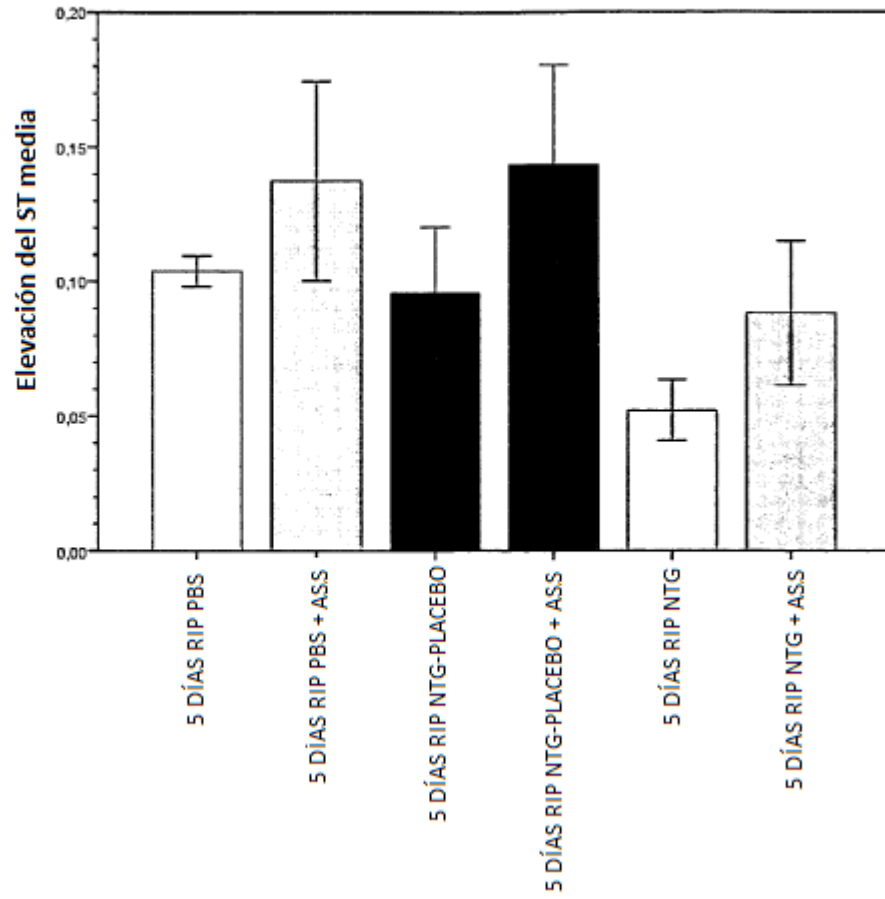


Figura 11

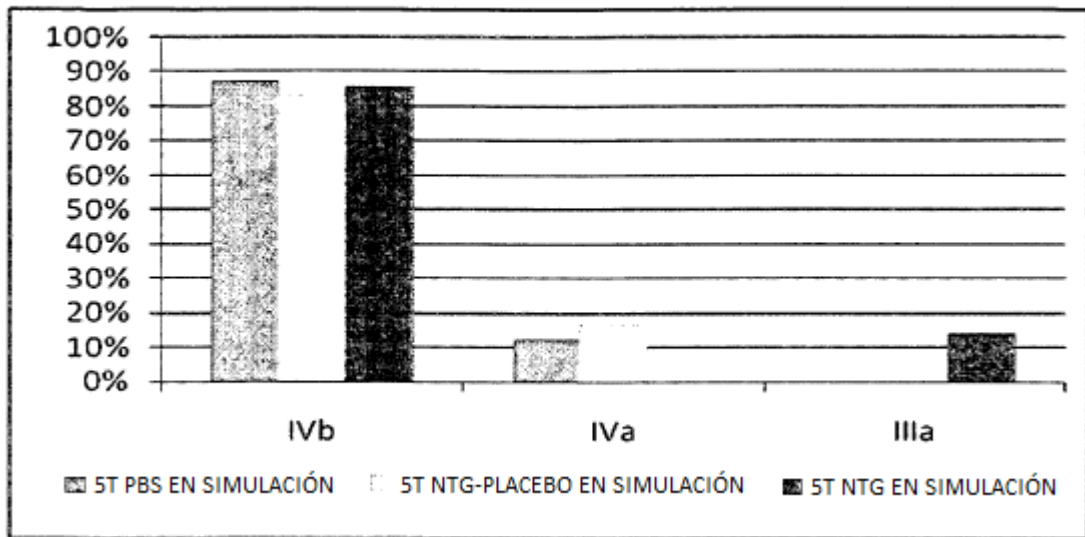


Figura 12

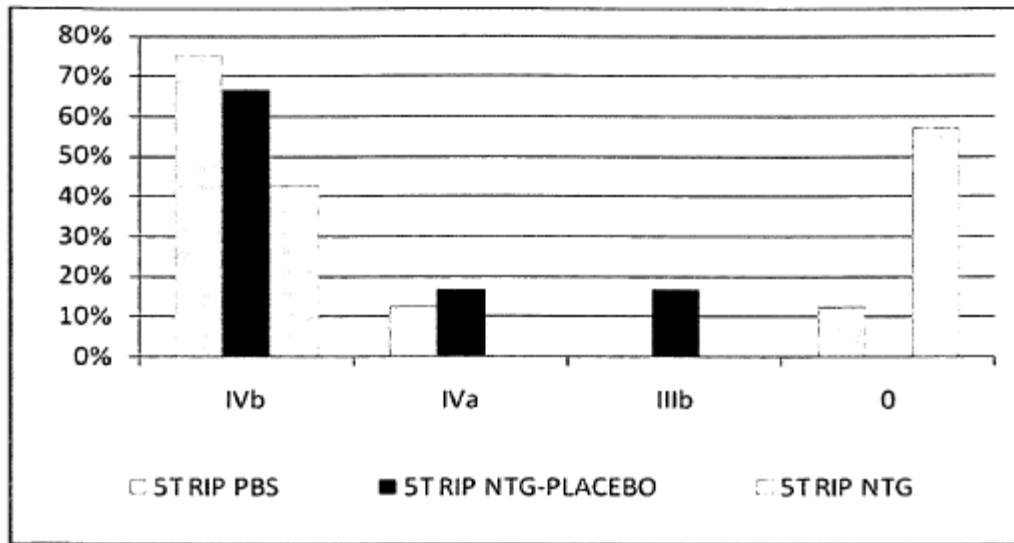


Figura 13

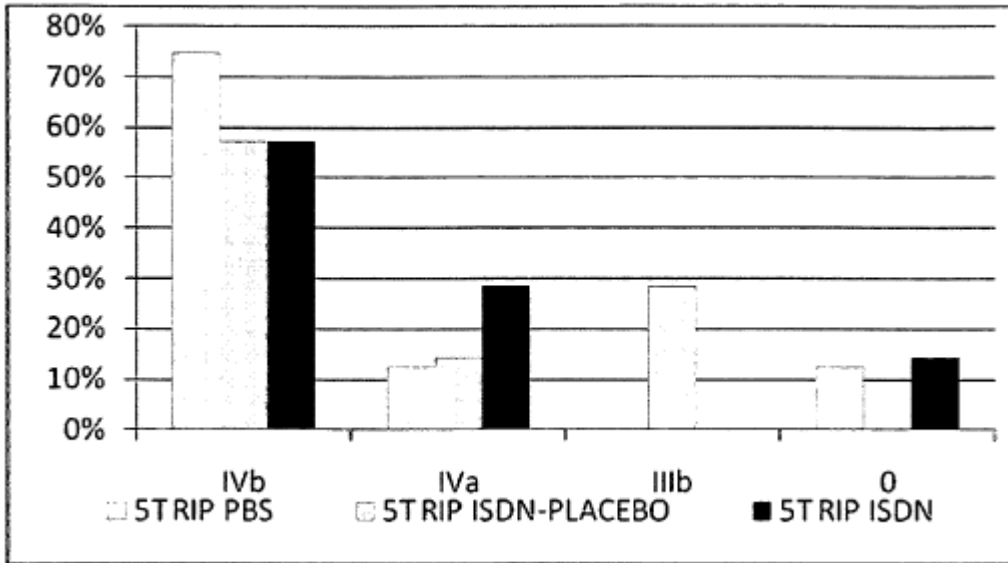


Figura 14

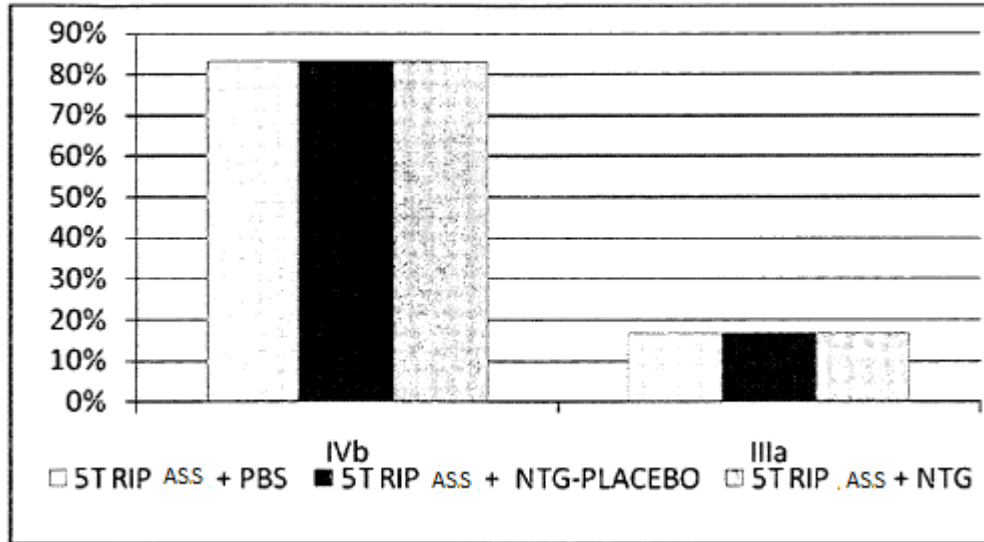


Figura 15

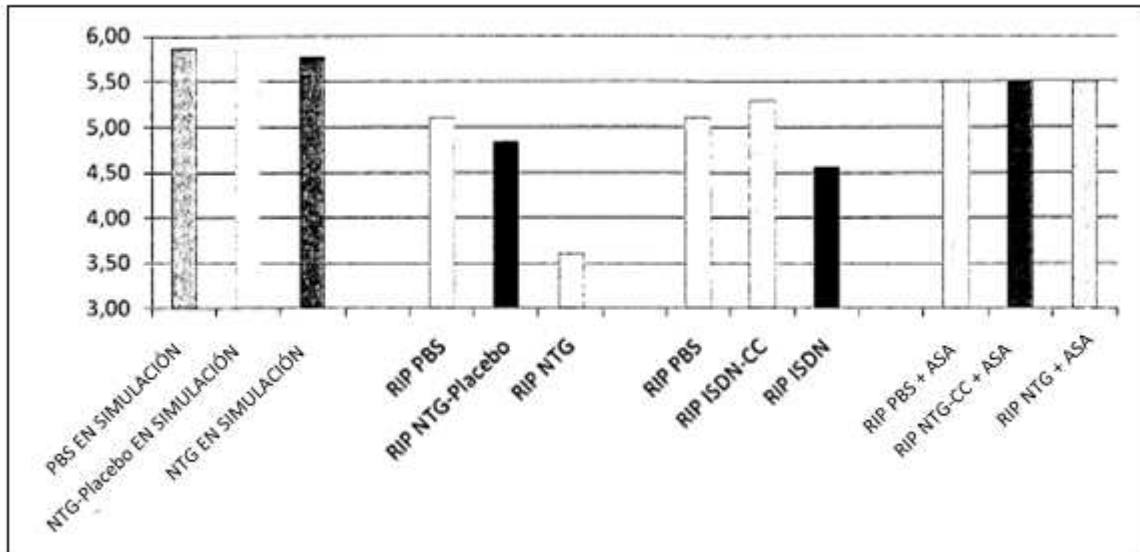


Figura 16

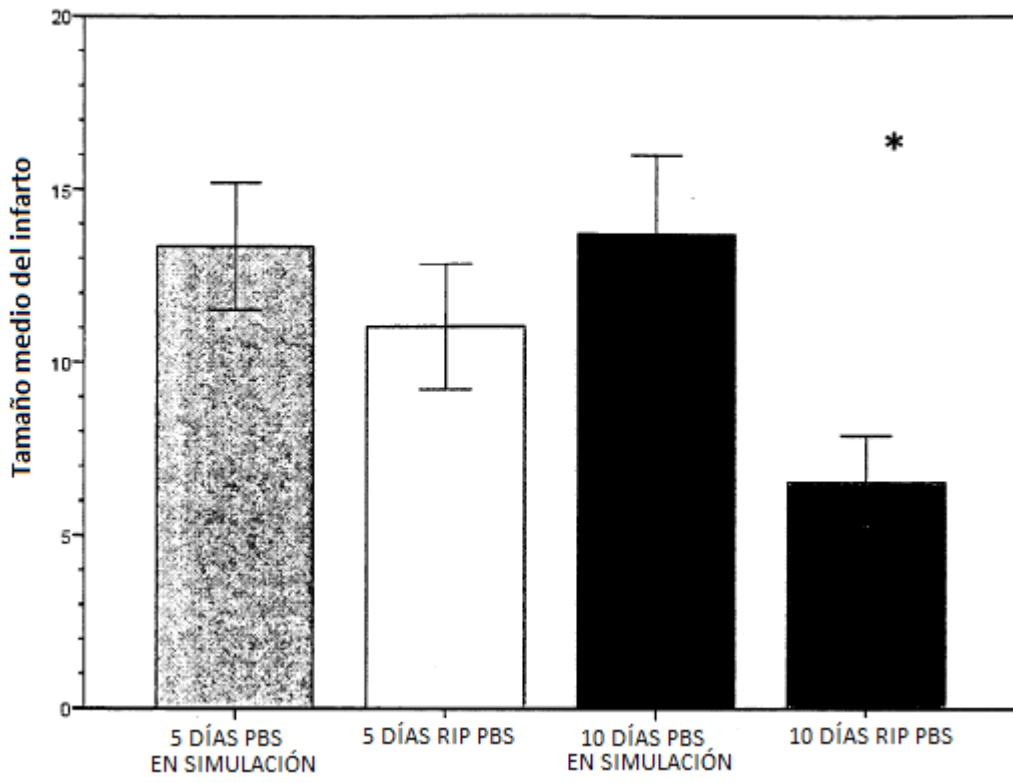


Figura 17

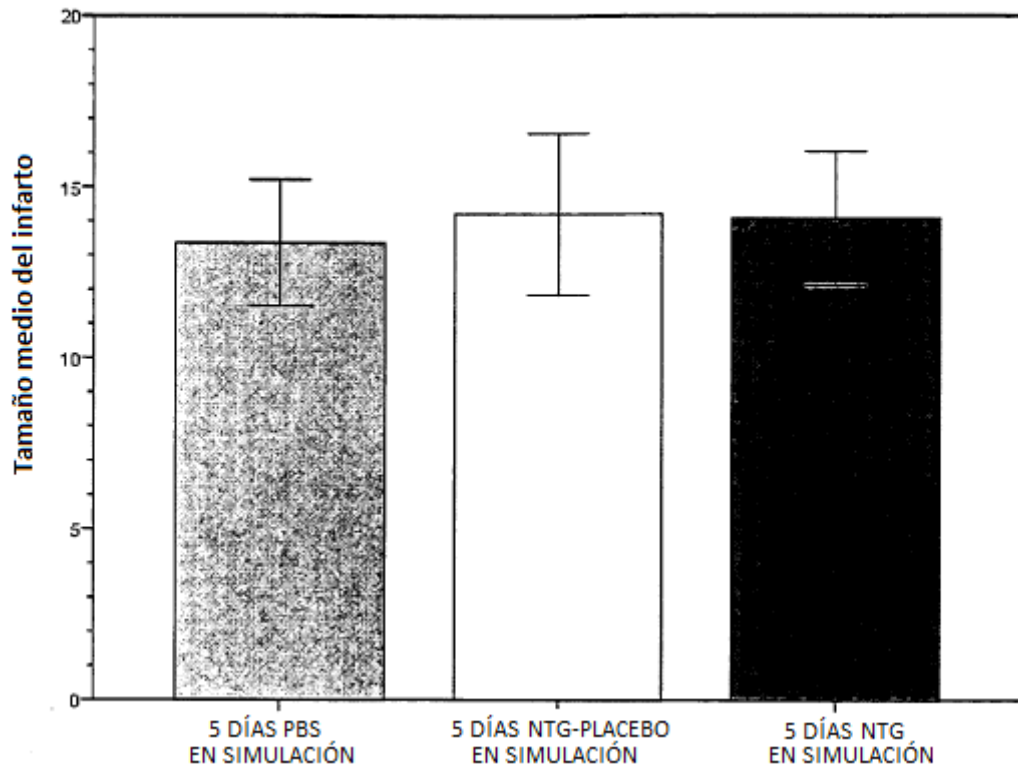


Figura 18

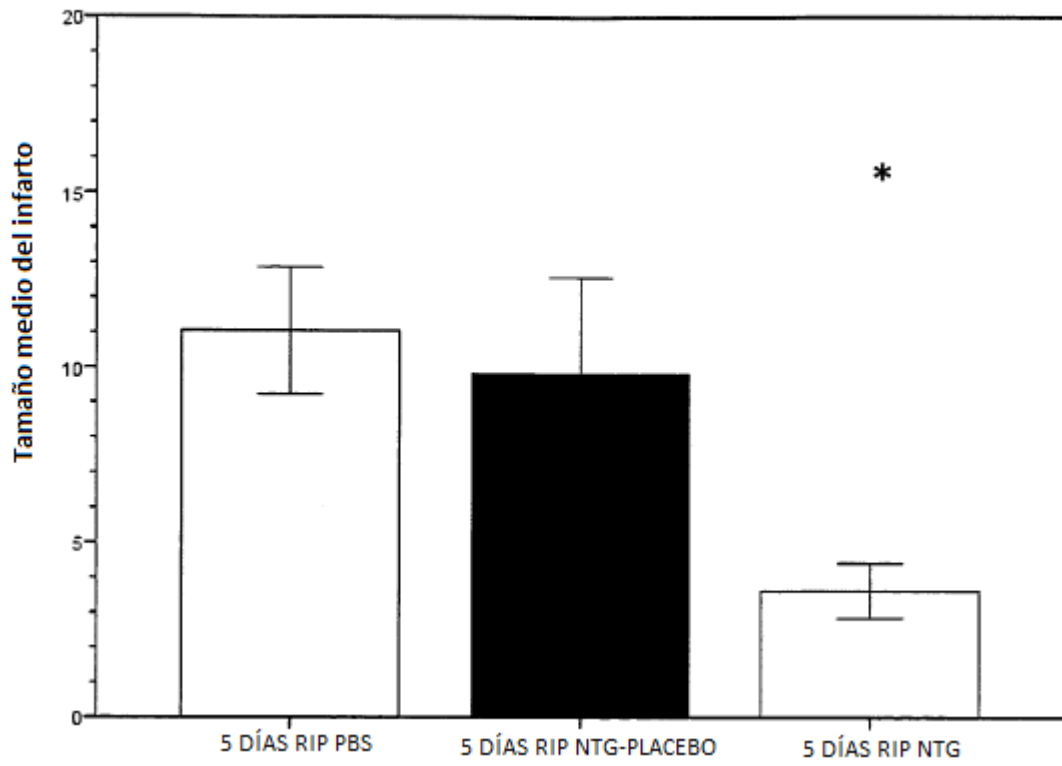


Figura 19

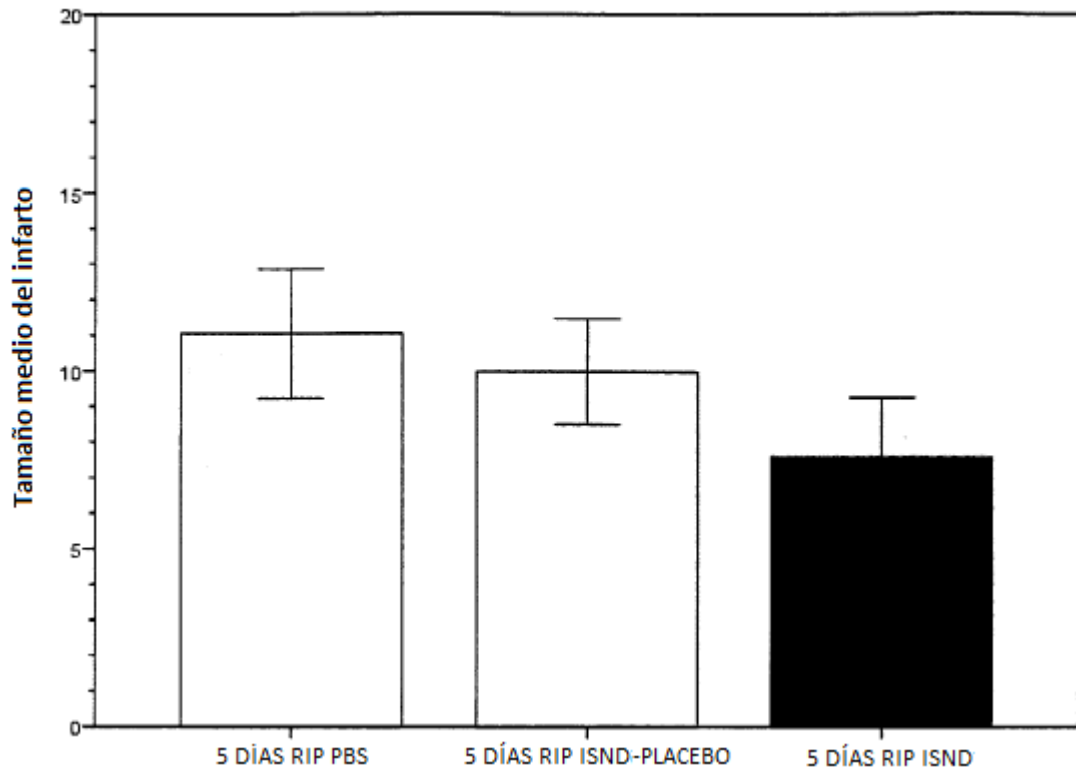


Figura 20

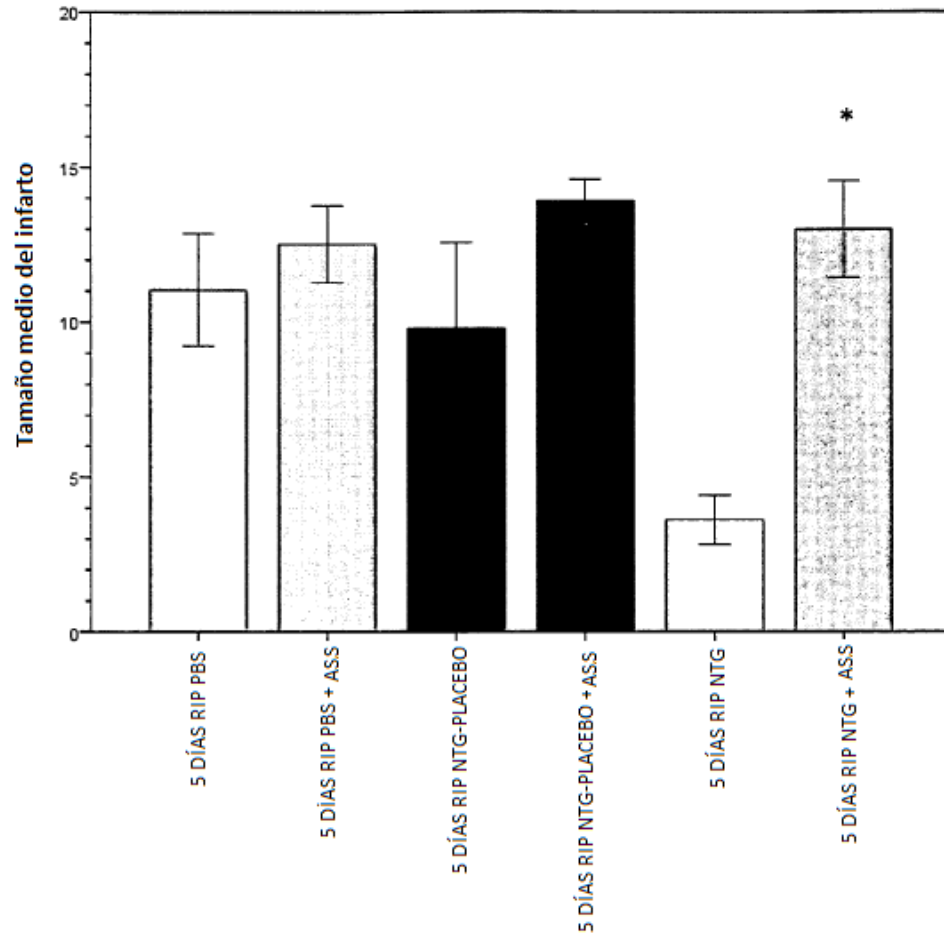
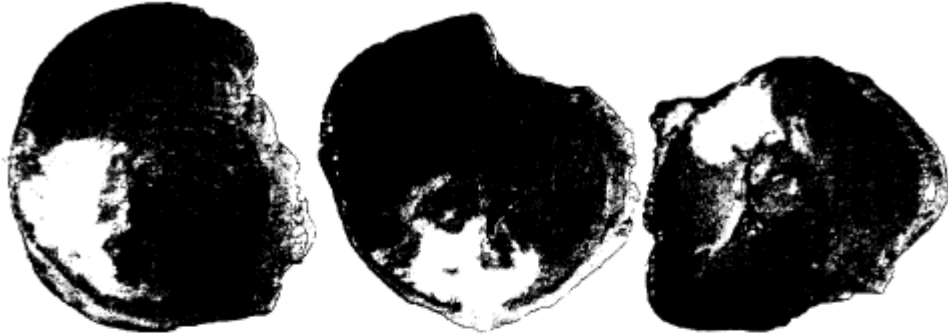


Figura 21

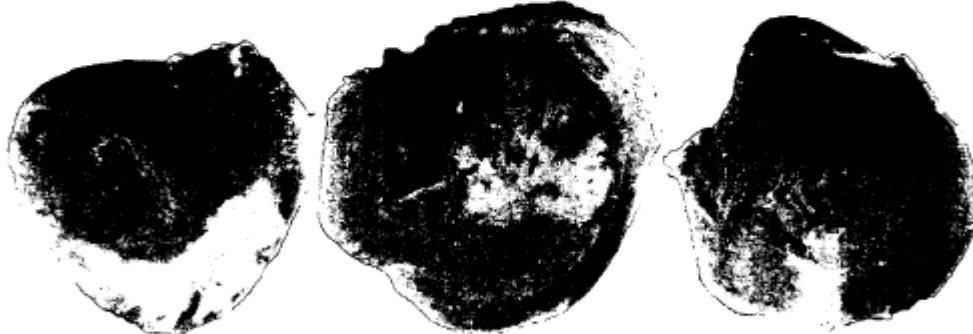
10 DÍAS RIP PBS:



10 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN:



5 DÍAS RIP PBS:



5 DÍAS PBS EN SIMULACIÓN:



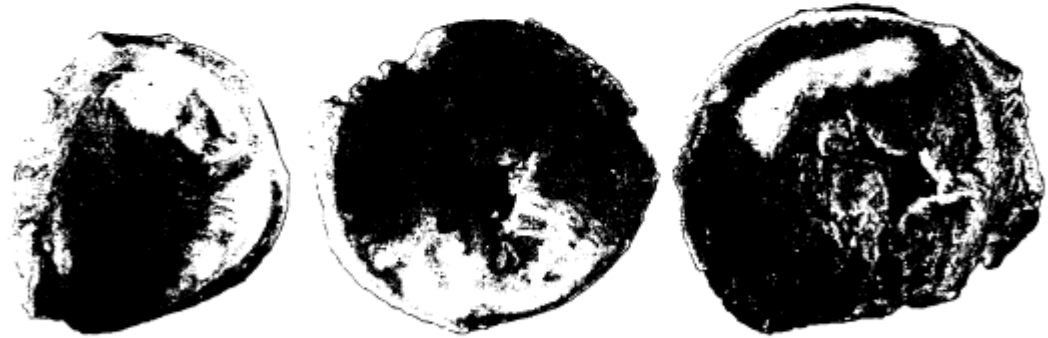
5 DÍAS NTG-PLACEBO EN SIMULACIÓN:



5 DÍAS NTG EN SIMULACIÓN:



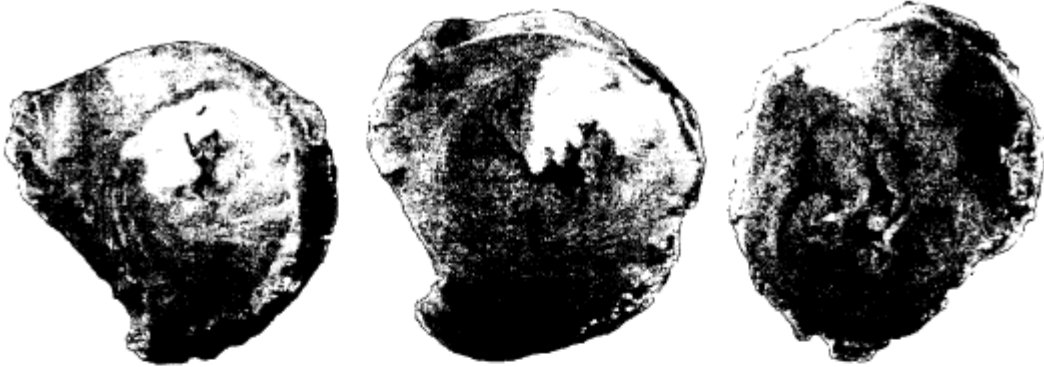
5 DÍAS RIP NTG-PLACEBO:



5 DÍAS RIP NTG:



5 DÍAS RIP ISDN-PLACEBO:



5 DÍAS RIP ISDN:



5 DÍAS RIP ASA + PBS:



5 DÍAS RIP ASA + NTG-PLACEBO:



5 DÍAS RIP ASA + NTG:



Figura 22

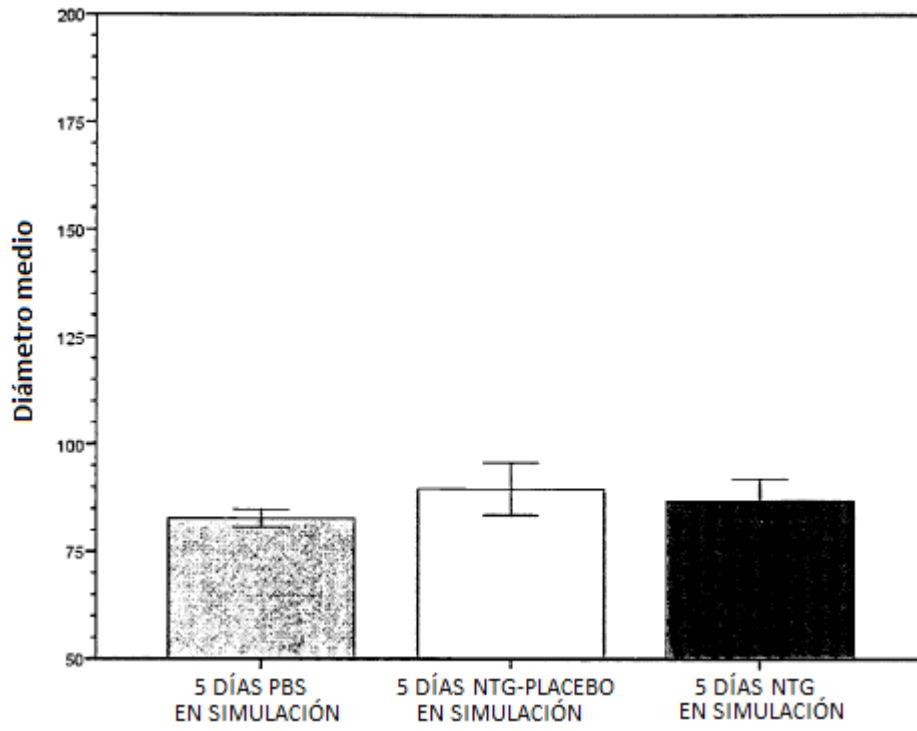


Figura 23

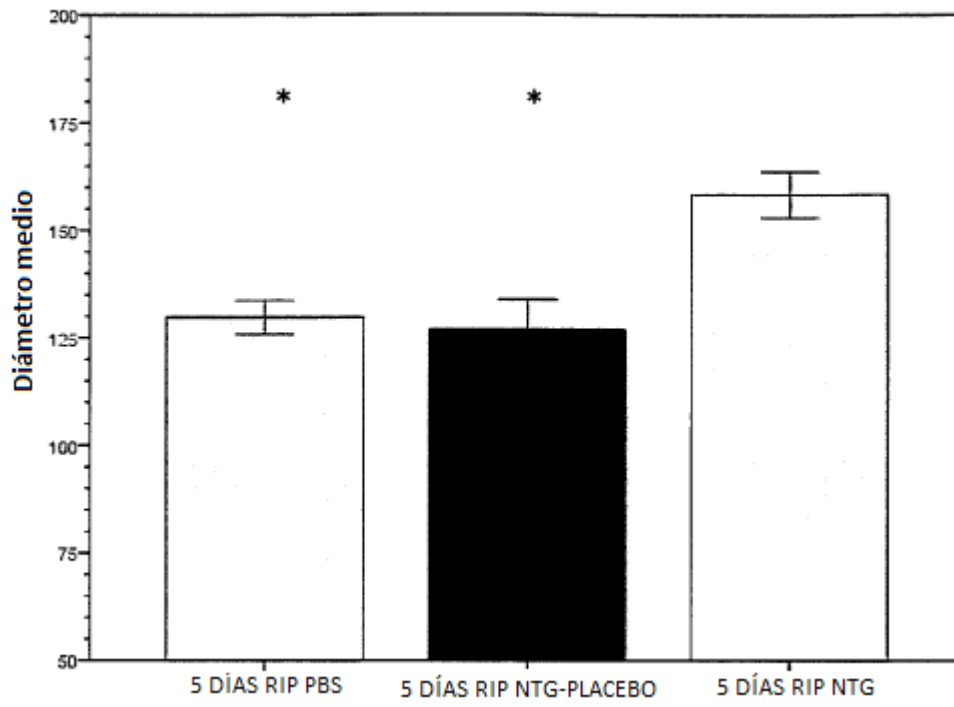


Figura 24

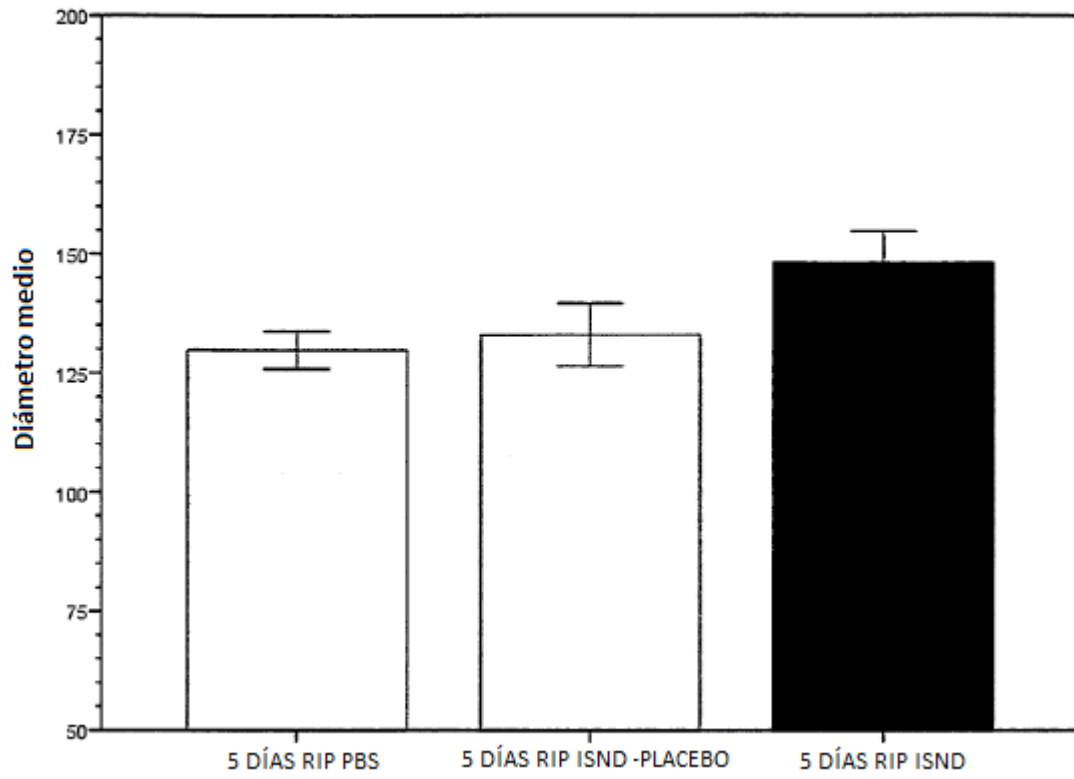


Figura 25

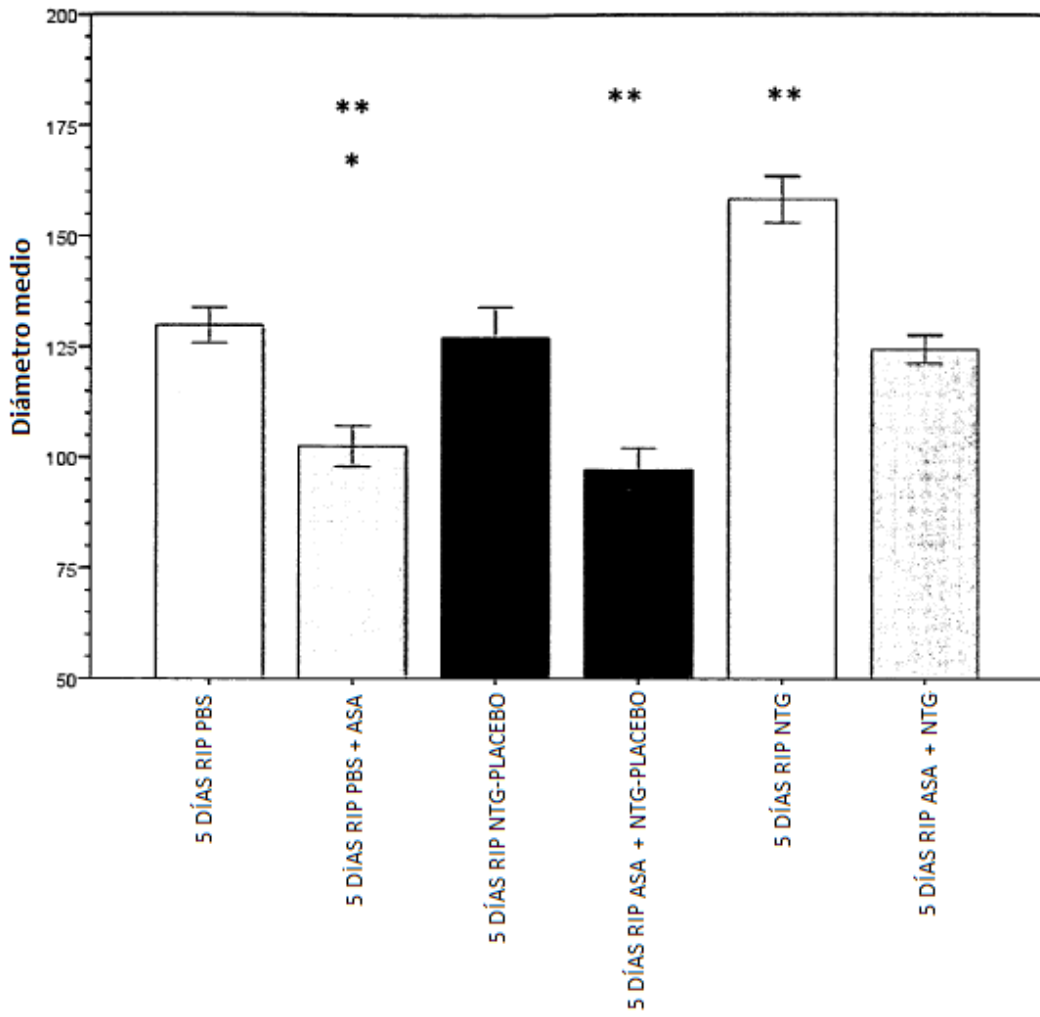


Figura 26

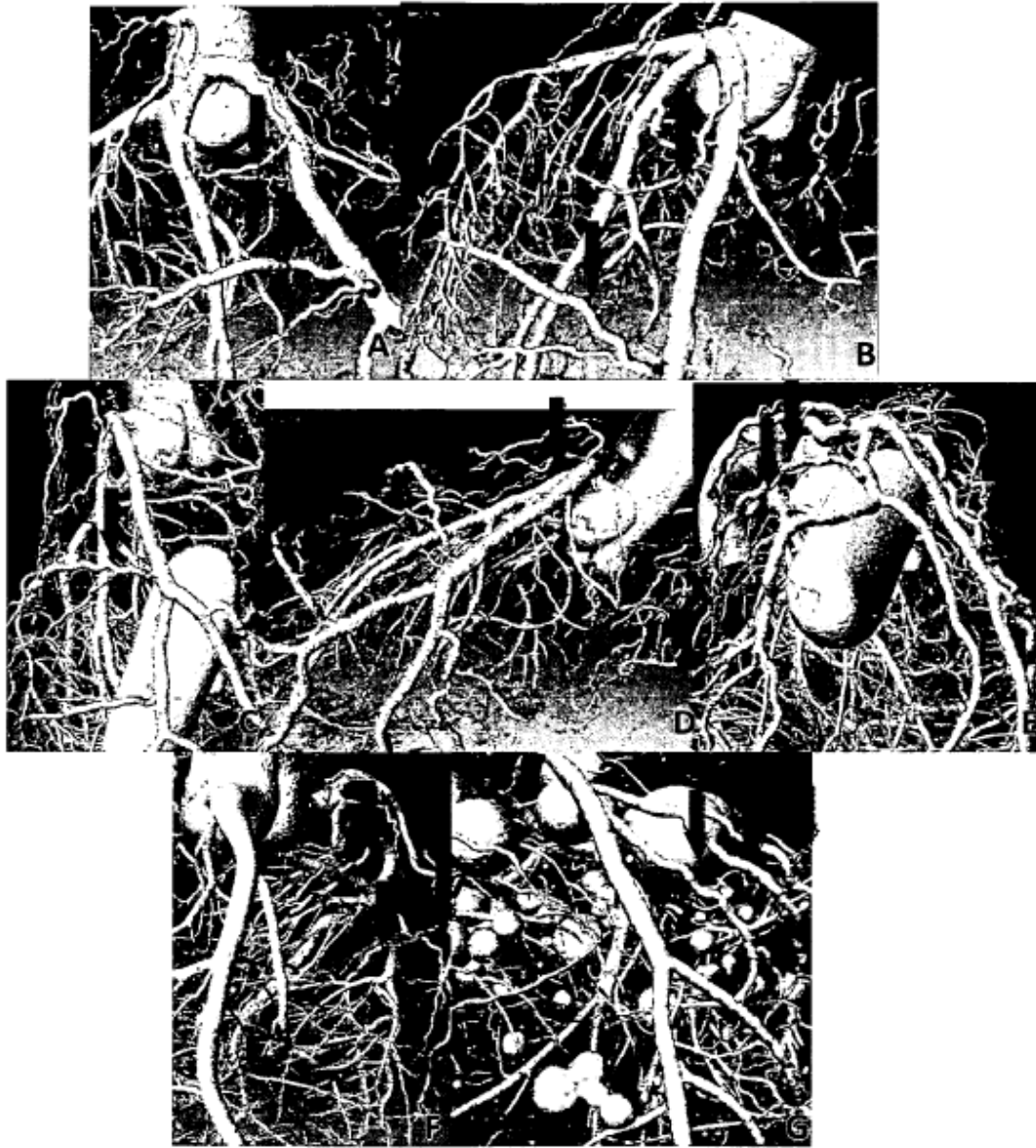


Figura 27

