

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 321**

51 Int. Cl.:

C07K 16/22 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 27/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

C07K 14/475 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.12.2012 PCT/EP2012/074195**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2013 WO13079713**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.12.2012 E 12797862 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.03.2017 EP 2785739**

54 Título: **Mejora del resultado de una trabeculectomía**

30 Prioridad:

01.12.2011 US 201161565676 P

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

02.08.2017

73 Titular/es:

**THROMBOGENICS N.V. (100.0%)
Gaston Geenslaan 1
3001 Heverlee, BE**

72 Inventor/es:

**JONCKX, BART;
VAN BERGEN, TINE y
STALMANS, INGEBORG**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 628 321 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

Mejora del resultado de una trabeculectomía

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la mejora de la cirugía de trabeculectomía. La mejora reside más específicamente en una vida útil prolongada del canal de drenaje esclero-corneal creado por la cirugía de trabeculectomía. La mejora se obtiene mediante la administración de un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, unión al factor de crecimiento placentario (P1GF) e inhibición de la actividad de P1GF.

Antecedentes de la invención

15 El glaucoma es una enfermedad neurodegenerativa multifactorial y la segunda causa más importante de ceguera irreversible (Quigley, 1996, Br J Ophthalmol 80, 389-393). Esta enfermedad se caracteriza por apoptosis progresiva de las células ganglionares de la retina, lo que da como resultado una pérdida del campo visual. El tratamiento actual de esta enfermedad se dirige hacia la reducción de la presión intraocular (PIO), que es el principal factor de riesgo para el glaucoma (Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group, 1998, Am J Ophthalmol 126, 487-497).

20 De todos los tratamientos utilizados actualmente para disminuir la PIO, la cirugía de filtración del glaucoma (trabeculectomía), o cirugía de filtración a corto plazo, ha demostrado ser la más efectiva (Burr et al., 2005, Cochrane Database Syst Rev 18(2):CD004399; Hitchings, 1998, Arch Ophthalmol 116, 241-242). Una trabeculectomía crea una fuga "controlada" de líquido (humor acuoso) del ojo, que se infiltra bajo la conjuntiva. Durante la operación se elimina una pieza de malla trabecular en el ángulo de drenaje del ojo, creando una abertura. La abertura está parcialmente cubierta con un colgajo de tejido de la esclerótica y la conjuntiva. Una pequeña "ampolla" conjuntival aparece en la unión de la córnea y la esclerótica (limbo) donde se crea esta válvula producida quirúrgicamente.

30 En el 30 % de los casos, sin embargo, el canal construido se cierra debido a la formación excesiva de tejido cicatricial, lo que da como resultado el fracaso quirúrgico (Addicks et al., 1983, Arch Ophthalmol 101, 795-798). Los 4 procesos importantes que contribuyen a la cicatrización conjuntival postoperatoria son: formación de coágulos, inflamación, angiogénesis y fibrosis (Lee et al., 1995, J Ocul Pharmacol Ther 11, 227-232; Lama y Fechtner, 2003, Surv Ophthalmol 48, 314-346). De hecho, el aumento de la infiltración conjuntival de células inflamatorias y fibroblastos Tenon (Hitchings y Grierson, 1983, Trans Ophthalmol Soc UK 103, 84-88; Skuta y Parrish, 1987, Surv Ophthalmol 32, 149-170) y los mayores niveles de vascularización de la ampolla (Jampel et al., 1988, Arch Ophthalmol 106, 89-94) están asociados con el fracaso quirúrgico. Estos procesos están mediados por varias citocinas (por ej., IL-1 e INF- α 2b) y factores de crecimiento (por ej., PDGF, FGF, TGF- β 1 y VEGF (Lama & Fechtner, 2003; Gillies y Su, 1991, Aust NZ J Ophthalmol 19, 299-304)). El papel del VEGF en estos procesos fue inicialmente poco claro (Li et al. 2006, EVER 2006 Resumen e2251), pero más tarde fue elucidado hasta cierto punto (Van Bergen et al. 2011, Exp. Eye Res. 93, 689-699), mientras que el papel de P1GF sigue siendo elusivo (Li et al. 2006, EVER 2006 Resumen e2251; Van Bergen et al. 2011, Bull Soc. Belge Ophthalmol. 317,65-66), aunque P1GF se describió como un péptido ocular hipotensivo en el documento WO 2010/097800. Los antimetabólicos peroperatorios, como la mitomicina-C y el 5-fluorouracilo pueden mejorar el resultado quirúrgico (Quigley, 1996; Katz et al., 1995, Ophthalmol 102, 1263-1269). Sin embargo, estos antimetabólitos conllevan un riesgo de complicaciones que amenazan la visión, tales como el adelgazamiento escleral y las infecciones (Lama y Fechtner, 2003, Hitchings y Grierson, 1983, Skuta y Parrish, 1987, Jampel et al., 1988, Gillies y Su, 1991; Katz et al., 1995; Greenfield et al., 1998, Arch Ophthalmol 116, 443-447). Además, el bloqueo del TGF- β parecía prometedor en modelos animales (Cordeiro et al., 2003, Gene Ther 10, 59-71), pero no fue eficiente en un estudio clínico (CAT-152 0102 Trabeculectomy Study Group, Kwah, Grehn, 2007, Ophthalmol 114, 1822-1830). El número de intervenciones post-trabeculectomía referidas, expresadas como la incidencia de "manipulaciones de la ampolla" post-cirugía fue de hasta el 78 % (King et al., 2007, Br J Ophthalmol 91, 873-877). Por lo tanto, todavía hay una necesidad de estrategias alternativas para prevenir un fallo de la filtración y, por tanto, para reducir la incidencia de manipulaciones de la ampolla.

55 La microplasma es una proteína recombinante que disuelve coágulos de sangre degradando la fibrina. Recientemente, la microplasma ha demostrado ser eficiente, bien tolerada y segura para el uso intraocular (WO 2004/052228) y fue aprobada por la FDA en octubre de 2012 para el tratamiento de la adhesión vitreomacular (JETREA[®], nombre no patentado: ocriplasma). Los resultados de los ensayos clínicos de fase III que condujeron a esta aprobación fueron publicados por Stalmans et al. (2012, N Engl J Med 367, 606 - 615). Previamente se había demostrado que la plasma era capaz de inducir (desprendimiento del vítreo posterior) también (por ej., en la patente US-5.304.118). El mecanismo mediante el cual se induce PVD por la plasma o la microplasma no se entiende actualmente completamente. Sin apoyo de ningún dato experimental o de datos experimentales concluyentes, los documentos WO 2009/073457 y WO 2009/067407 proponen la inyección de plasma subconjuntival para rescatar las ampollas de filtración y el uso de proteasas activadoras de las metaloproteinasas de

la matriz para reducir la PIO, respectivamente. El documento WO 2011/023805 proporciona la evidencia de que la inyección en la cámara anterior de microplasma era eficaz para prolongar la supervivencia de la ampolla, es decir, el modo de administración de la microplasma en esta indicación es determinante del éxito.

5 Pegaptanib es un aptámero anti-VEGF pegilado (VEGF = factor de crecimiento endotelial vascular), una única
cadena de ácido nucleico (50 kDa). Se une específicamente a la isoforma VEGF₁₆₅, evitando así la unión al dominio
de unión a la heparina. Van Bergen et al. 2011 (Exp Eye Res 93, 689-699) demostraron que la inyección única o
repetida de pegaptanib después de la cirugía de filtración del glaucoma (en un modelo de conejo) tenía un efecto
mínimo sobre la supervivencia de la zona de la ampolla y la supervivencia de la ampolla. Bevacizumab es un
10 anticuerpo que inhibe todas las formas de VEGF- A. Li et al. 2009 (Invest Ophthalmol Vis Sci 50, 5217-5225)
describió el efecto de bevacizumab sobre la cirugía de filtración del glaucoma (en un modelo de conejo) que fue, a
juzgar por el efecto referido sobre el área de la ampolla, limitado.

Sumario de la invención

15 La invención se refiere a un anticuerpo anti-PIGF neutralizante (factor de crecimiento placentario) o a un fragmento
de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso en el tratamiento de un fallo de la filtración después de la
cirugía de trabeculectomía (o cirugía de filtración del glaucoma) de un ojo, o para su uso en la prevención, reducción
o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo.

20 El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante como se ha descrito
anteriormente puede estar en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse a un ojo. En
particular, dicha formulación farmacéuticamente aceptable es compatible con la administración en la cámara anterior
de un ojo o con la administración en la ampolla, en el que la ampolla se crea mediante la cirugía de trabeculectomía

25 En cualquiera de los anteriores, dicho tratamiento de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía
de un ojo, o dicha prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de
trabeculectomía de un ojo con un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF
neutralizante en particular, es el resultado de la administración a dicho ojo de al menos una dosis única o, como
30 alternativa, de dosis múltiples, de una cantidad eficaz de dicho anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de
anticuerpo anti-PIGF neutralizante. Cuando se administran dosis múltiples a un ojo, éstas se pueden administrar con
al menos 6 horas de intervalo de tiempo. Dicho ojo puede ponerse en contacto adicionalmente con uno o más
agentes elegidos entre un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente
antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimetabólico, un agente antihistamínico, un
35 anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía. Dicho contacto adicional puede
producirse antes, simultáneamente con, o después de la administración del anticuerpo anti-PIGF neutralizante o el
fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante.

40 El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante como se ha descrito
anteriormente puede estar en una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende además uno o más de
un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente
antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimetabólico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para
inducir midriasis y un agente para inducir cicloplejía.

45 En particular, el agente antimetabólico en lo descrito anteriormente puede ser mitomicina C o 5-fluorouracilo.

Leyendas de las figuras

50 FIGURA 1. La Figura 1A muestra el resultado de la medición de la presión intraocular (PIO) en dos grupos
(tamaño del grupo n = 10) que habían sido sometidos a cirugía de filtración del glaucoma (GFS). Un grupo se
trató con 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante (4,8 mg/ml) y el otro grupo se trató con DC101, un
anticuerpo anti-VEGF-R2 murino (6,2 mg/ml). Las PIO se midieron con un Tonolab (Technop[®]). Los resultados
se representan como media ± EEM. No se encontró que la PIO fuera significativamente diferente en los 2 grupos
(p>0,05). La Fig. 1B muestra de manera similar el resultado de la medición en dos grupos (tamaño del grupo n =
55 10) que habían sido sometidos a GFS. Un grupo se trató con 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante (4,8
mg/ml) y el otro grupo se trató con 5D11D4, un anticuerpo anti-PIGF murino (5,2 mg/ml). No se encontró que la
PIO fuera significativamente diferente en los 2 grupos (p> 0,05).

60 FIGURA 2. La Figura 2A muestra las mediciones del área de la ampolla en dos grupos (tamaño del grupo n = 10)
que se habían sometido a GFS. Un grupo se trató con 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante (4,8 mg/ml) y
el otro grupo se trató con DC101, un anticuerpo anti-VEGF-R2 murino (6,2 mg/ml). Los resultados se representan
como media ± EEM. DC101 mejoró significativamente el área de la ampolla en comparación con 1C8 (p = 0,05).
La Fig. 2B es similar a la Fig. 2A excepto que ambos grupos eran de mayor tamaño (n = 20) y se siguieron
durante un período de tiempo más largo. La Fig. 2C muestra resultados similares a los de la Fig. 2A y 2B,
65 excepto que los anticuerpos se inyectaron repetidamente en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía

FIGURA 3. La Figura 3A muestra la supervivencia de la ampolla en dos grupos (tamaño del grupo n = 10) que habían sido sometidos a GFS. Un grupo se trató con 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante (4,8 mg/ml) y el otro grupo se trató con DC101, un anticuerpo anti-VEGF-R2 murino (6,2 mg/ml). La supervivencia de la ampolla no fue significativamente diferente en los 2 grupos (p = 0,23). Después de un seguimiento más largo de dos grupos más grandes (n = 20, Figura 3B), se observó un aumento significativo de la supervivencia de la burbuja en el grupo tratado con DC101 frente al grupo tratado con 1C8 (p = 0,06). La inyección repetida de DC101 (tamaño del grupo n = 10) en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía aumentó aún más la supervivencia de la ampolla en comparación con las inyecciones individuales (Fig. 3C).

FIGURA 4. La Figura 4A muestra las mediciones del área de la ampolla en dos grupos (tamaño del grupo n = 10) que habían sido sometidos a GFS. Un grupo se trató con 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante (4,8 mg/ml) y el otro grupo se trató con 5D11D4, un anticuerpo anti-PLGF murino (5,2 mg/ml). Los resultados se representan como media ± EEM. 5D11D4 mejoró significativamente el área de la ampolla en comparación con 1C8 (p = 0,01). Este efecto se extendió hasta el final de un período de seguimiento más largo de los grupos más grandes (n = 20, Figura 4B) y fue notablemente mejorado por inyecciones repetidas de 5D11D4 en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía (tamaño del grupo n = 10, Fig. 4C). Este último efecto fue significativamente más pronunciado en comparación con las inyecciones repetidas de anticuerpo anti-VEGF-R2 murino DC101 (Fig. 2C/ Fig. 6 C).

FIGURA 5. La Figura 5A muestra la supervivencia de la ampolla en dos grupos (tamaño del grupo n = 10) que habían sido sometidos a GFS. Un grupo se trató con 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante (4,8 mg/ml) y el otro grupo se trató con 5D11D4, un anticuerpo anti-PLGF murino (5,2 mg/ml). Los resultados se representan como media ± EEM. 5D11D4 mejoró significativamente la supervivencia de la ampolla en comparación con 1C8 (p = 0,04). Este efecto se prolongó hasta el final de un período de seguimiento más largo de los grupos más grandes (n = 20, Fig. 5B) que fue significativamente más pronunciado en comparación con el anticuerpo anti-VEGF-R2 murino DC101 (Fig. 3B) y que se mejoró notablemente con inyecciones repetidas de 5D11D4 en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía (tamaño del grupo n = 10, Fig. 5C).

FIGURA 6. La Figura 6A muestra las mediciones del área de la ampolla en dos grupos (tamaño del grupo n = 10) que habían sido sometidos a GFS. Un grupo se trató con DC101, un anticuerpo anti-VEGF-R2 murino (6,2 mg/ml) y el otro grupo se trató con 5D11D4, un anticuerpo anti-PLGF murino (5,2 mg/ml). Los resultados se representan como media ± EEM. 5D11D4 mejoró significativamente el área de la ampolla en comparación con 1C8 (Fig. 1). Se observó una tendencia hacia una mayor área de la ampolla después de la administración de 5D11D4 en comparación con la administración de DC101 (p = 0,07). Este último se confirmó y fortaleció al observar dos grupos (tamaño de grupo n = 20) durante un período de tiempo más largo (Fig. 6B). El efecto más fuerte de la administración de 5D11D4 sobre la administración de DC101 se obviaba claramente cuando se comparaba el efecto de múltiples administraciones (en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía, tamaño del grupo n = 10) de los anticuerpos como se representa en la Fig. 6C.

Descripción detallada de la invención

Como se sabe de la práctica clínica, cada sujeto o paciente sometido a cirugía de trabeculectomía está en riesgo significativo de desarrollar un fallo de la filtración. La presente invención se basa en el efecto de la administración de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante (anticuerpo que inhibe la actividad del factor de crecimiento placentario, PIGF) sobre el resultado clínico de la cirugía de trabeculectomía, siendo dicho efecto positivo y dando como resultado la prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración. Los efectos obtenidos con un anticuerpo anti-PIGF neutralizante son además marcadamente e inesperadamente más pronunciados que los efectos obtenidos con un inhibidor del VEGF-R2 (receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2, conocido por unirse al VEGF) u obtenido con inhibidores del VEGF₁₆₅ (pegaptanib; Van Bergen et al. 2011, Exp Eye Res 93, 689-699) o del VEGF (bevacizumab; Li et al. 2009, Invest Ophthalmol Vis Sci 50, 5217-5225).

Por lo tanto, la invención se refiere a un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso en el tratamiento de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para su uso en la prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de cirugía de trabeculectomía de un ojo; todo evidentemente en comparación con la cirugía de trabeculectomía realizada sin usar un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante. Como alternativa, la invención se refiere al uso de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para la fabricación de un medicamento para tratar el fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retrasar la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo; todo evidentemente en comparación con la cirugía de trabeculectomía realizada sin usar un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante. Las expresiones "cirugía de filtración del glaucoma", "cirugía de filtración" y "cirugía de trabeculectomía" se usan aquí indistintamente.

La "malla trabecular (MT)" es una estructura en forma de malla dentro del ojo en la unión iris-escleral del ángulo de la cámara anterior. La MT filtra el líquido acuoso y controla su flujo en el canal de Schlemm antes de salir de la

cámara anterior. El aumento de la resistencia en la MT conduce a una disminución de la salida de líquido acuoso y, por tanto, a una mayor presión intraocular (PIO).

5 Cuando no se trata, esta PIO elevada conduce a un daño glaucomatoso en el nervio óptico y en las fibras nerviosas de la retina y conduce a la pérdida de la visión. Esta pérdida de visión se puede prevenir o detener administrando medicación, un “agente para controlar la presión intraocular”, que controla la presión intraocular. Tales medicamentos incluyen agentes bloqueadores adrenérgicos (betabloqueantes o fármacos simpato líticos como betaxolol, carteolol, levobunolol, metipanolol y timolol), agentes estimulantes adrenérgicos (fármacos simpaticomiméticos como aproclonidina, epinefrina, hidroxianfetamina, fenilefrina, nafazolina y tetrahidrozalina),
10 inhibidores de la anhidrasa carbónica como la acetazolamida sistémica y la brinzolamida y la dorzolamida tópicas), mióticos (agentes estimulantes colinérgicos, fármacos parasimpaticomiméticos tales como carbacol y pilocarpina), agentes osmóticos (tales como glicerina y manitol), prostaglandinas y análogos de las prostaglandinas (prostamidas, bimatoprost, unoprostona isopropilo, travoprost, latanoprost, prostaglandinas naturales, prostaglandina F2 α y agonistas del receptor prostanoide de FP). Cuando tales medicamentos no son eficientes (o no más), entonces la cirugía de filtración es un tratamiento viable.
15

“Trabeculectomía”, “cirugía de trabeculectomía” o “cirugía de filtración del glaucoma”, se define como un procedimiento quirúrgico en el ojo en el que se elimina parte de la malla trabecular, creando de este modo un sitio de filtración (un canal de drenaje esclero-corneal) que aumenta la salida de líquido acuoso del ojo; este tipo de procedimiento de filtración se utiliza comúnmente en el tratamiento del glaucoma y, más específicamente, para reducir la PIO en un ojo sujeto a/que presenta glaucoma.
20

El “fallo de la filtración” es una condición que invierte el efecto clínicamente deseado de la cirugía de trabeculectomía, es decir, que invierte la reducción deseada en la PIO. El tiempo post-operatorio inicial es crucial en el sentido de que las actividades de cicatrización ocular son más altas en este periodo. Este periodo de alta capacidad de cicatrización ocular depende de la especie y se extiende aproximadamente a 2 semanas para conejos y hasta 1 a 2 meses en seres humanos. Al ponerse en contacto un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante con un ojo de acuerdo con la presente invención, se reduce la frecuencia de aparición de un fallo de la filtración durante un periodo de tiempo dado. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante utilizado de acuerdo con la presente invención da como resultado la prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración, o en una mejora, incremento o aumento de la tasa de éxito de la cirugía de trabeculectomía (en comparación con la cirugía de trabeculectomía sin administrar o usar un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante).
25
30

El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante, o un medicamento que lo comprende, puede estar en una formulación (o composición o solución) farmacéuticamente aceptable capaz de administrarse a un ojo. En particular, dicha formulación (o composición o solución) es capaz de ser administrada en la cámara anterior del ojo o compatible con la administración en la cámara anterior del ojo. Como alternativa, dicha formulación (o composición o solución) es capaz de ser administrada en la ampolla creada quirúrgicamente (es decir, administración en la ampolla) o compatible con la administración en la ampolla. Dicha administración puede ser por ej., mediante inyección de la formulación (o composición o solución) o medicamento que comprende un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante. Aunque no se requiere, puede haber una ventaja adicional en dicha formulación que es una formulación de liberación lenta tal como una formulación similar a un gel.
35
40
45

El tratamiento de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía (o cirugía de filtración de glaucoma) de un ojo, o la prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo puede tener como resultado la introducción en el ojo de una cantidad eficaz de al menos una dosis única de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante) o de una formulación (o composición o solución) o medicamento que lo comprende. En particular, dicha administración está en la cámara anterior de un ojo, tal como por inyección. Como alternativa, se pueden administrar dosis múltiples de una cantidad eficaz de dicho anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o de una formulación (o composición o solución) o medicamento que lo comprende), para aumentar la eficacia. Cuando se administran dosis múltiples a un ojo, éstas pueden administrarse con intervalos de tiempo de al menos 6 horas, con intervalos de tiempo de aproximadamente 12 horas, con intervalos de tiempo de aproximadamente 18 horas, con intervalos de tiempo de aproximadamente 1 día, con intervalos de tiempo de aproximadamente 2 días, con intervalos de tiempo de aproximadamente 3 días, con intervalos de tiempo de aproximadamente 4 días, con intervalos de tiempo de aproximadamente 7 días, con intervalos de tiempo de aproximadamente 2 semanas con intervalos de tiempo de aproximadamente 1 mes, con intervalos de tiempo de aproximadamente 2 meses o con intervalos de tiempo de aproximadamente 3 meses.
50
55
60

Quando se administran dosis múltiples a un ojo con intervalos de tiempo, el intervalo de tiempo entre dos dosis subsiguientes puede cambiar durante el tratamiento dependiendo de la evolución del resultado clínico. Por ejemplo, los intervalos de tiempo entre las dosis posteriores pueden ser cortos inmediatamente después de la cirugía de trabeculectomía y pueden aumentar con el aumento del tiempo después de la cirugía de trabeculectomía.

En cualquiera de los casos anteriores, dicho anticuerpo anti-PIGF puede ser cualquier tipo de anticuerpo o cualquier fragmento de cualquiera de los mismos que sea capaz de unirse a PIGF y de inhibir la actividad de PIGF. En particular, dicho anticuerpo anti-PIGF o fragmento del mismo puede neutralizar la actividad de PIGF, por lo que puede ser un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante. Tales anticuerpos incluyen todos los tipos de anticuerpos conocidos en la técnica, tales como anticuerpos humanos o humanizados, anticuerpos cameloides, nanocuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos, etc., y cualquier fragmento de cualquiera de los mismos. Ejemplos de anticuerpos anti-PIGF neutralizantes se describen en el documento WO 01/85796 y WO 2006/099698. En particular, un anticuerpo anti-PIGF para su uso tal como se describe en la presente memoria es eficaz para inhibir la actividad del factor de crecimiento placentario como está presente en el sujeto sometido a trabeculectomía. En particular, dicho sujeto es un mamífero, más en particular un ser humano.

La invención cubre además un anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o cualquier fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante) como se ha descrito anteriormente para su uso en el tratamiento de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para su uso en la prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, en el que el anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante está en una formulación (o composición o solución) farmacéuticamente aceptable que puede comprender además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimiotótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía. Como alternativa, cuando dicho agente adicional, o dichos agentes adicionales, no están incluidos en la formulación (o composición o solución) farmacéuticamente aceptable que contiene dicho anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o cualquier fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante), dicho ojo puede ponerse en contacto con uno o más agentes seleccionados de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimiotótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía. Dicho contacto adicional puede ser antes de, simultáneamente con o después de la administración de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o cualquier fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o de una formulación, composición, solución o medicamento que lo contenga).

La invención cubre además el uso de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o cualquier fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante) como se ha descrito anteriormente para la fabricación de un medicamento para tratar un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para prevenir, reducir o retrasar la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, en el que el anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante está en una composición farmacéuticamente aceptable que puede comprender además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimiotótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía. Como alternativa, cuando dicho agente adicional, o dichos agentes adicionales no están incluidos en la formulación (o composición o solución) farmacéuticamente aceptable o medicamento que contiene dicho anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o cualquier fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante), dicho ojo puede ponerse en contacto adicionalmente con uno o más agentes elegidos entre un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimiotótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía. Dicho contacto adicional puede ser antes de, simultáneamente con o después de la administración de un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o cualquier fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante (o de una formulación, composición, solución o medicamento que lo contenga).

“Contacto” significa cualquier modo de administración que da lugar a la interacción entre un agente o composición tal como un medicamento y un objeto (tal como conjuntiva o tejido subconjuntival) con el que se pone en contacto dicho agente o composición. La interacción entre el agente o la composición y el objeto puede ocurrir comenzando inmediatamente o casi inmediatamente con la administración del agente o composición, puede ocurrir durante un periodo de tiempo prolongado (comenzando inmediatamente o casi inmediatamente con la administración del agente o composición), o puede retrasarse con respecto al tiempo de administración del agente o composición. Más específicamente, el “contacto” da como resultado la administración de una cantidad eficaz del agente, composición o medicamento al objeto.

El término “cantidad eficaz” se refiere al régimen de dosificación del agente, composición o medicamento de acuerdo con la invención, en particular del principio activo del medicamento de acuerdo con la invención, es decir, un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o un fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante. La cantidad efectiva

5 dependerá en general y necesitará ajustarse al modo de contacto o administración. La cantidad eficaz del agente, composición o medicamento, más particularmente su principio activo, es la cantidad requerida para obtener el resultado clínico o efecto terapéutico o profiláctico deseado sin causar efectos tóxicos significativos o innecesarios. Para obtener o mantener la cantidad eficaz, el agente, la composición o el medicamento se pueden administrar como una dosis única o en dosis múltiples. La cantidad efectiva puede variar además dependiendo de la gravedad de la afección que se necesita tratar o de la gravedad esperada de la afección que debe ser prevenida o tratada; esto puede depender de la salud general y de la condición física del paciente y por lo general se requerirá la evaluación del médico o médico responsable del tratamiento para establecer cuál es la cantidad efectiva. La cantidad eficaz puede obtenerse adicionalmente mediante una combinación de diferentes tipos de contacto o administración. En el contexto de la presente invención, la cantidad eficaz puede obtenerse más particularmente mediante una o más de la administración de gotas oftálmicas tópicas, administración por inyección en la cámara anterior de un ojo o administración por inyección subconjuntival. Una dosis típica de una administración única del agente, composición o medicamento de la invención puede comprender de 10 µg a 20 mg del compuesto activo, o como alternativa puede comprender de 10 µg/kg de peso corporal a 20 mg/kg de peso corporal del compuesto activo. La administración del medicamento de la invención por medio de inyección se mantiene generalmente al mínimo, es decir, la frecuencia de inyecciones repetidas se mantiene al mínimo. Como las primeras semanas o meses después de la trabeculectomía (dependientes de la especie según se describe más arriba) son cruciales en el sentido de que las actividades de cicatrización ocular son más altas en este período, la duración del tratamiento con un agente, composición o medicamento de acuerdo con la presente invención debe ser ajustada a este período.

20 En general, la formulación (o composición o solución) o medicamento de la invención que comprende un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante de acuerdo con la invención puede, dependiendo de su uso final y modo de administración, comprender uno o más principios activos adicionales tales como un agente que controla la presión intraocular (véase más arriba), un anticoagulante, un agente trombolítico, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antifúngico, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico o un anestésico.

30 Los "anticoagulantes" incluyen hirudinas, heparinas, cumarinas, heparina de bajo peso molecular, inhibidores de la trombina, inhibidores plaquetarios, inhibidores de la agregación plaquetaria, inhibidores del factor de coagulación, anticuerpos anti-fibrina e inhibidores del factor VIII (tales como los descritos en los documentos WO 01/04269 y WO 2005/016455).

35 Los agentes trombolíticos incluyen uroquinasa, estreptoquinasa, activador del plasminógeno tipo tisular (tPA), activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA) y estafiloquinasa o cualquier variante o derivado de cualquiera de las mismas tales como APSAC (complejo activador estreptoquinasa plasminógeno anisoilado), alteplasa, reteplasa, tenecteplasa y scuPA (uPA de cadena sencilla), plasmina o cualquier variante truncada de la misma tal como midiplasmina, miniplasmina, deltaplasmina y microplasmina.

40 Los "agentes antiinflamatorios" incluyen esteroides (por ejemplo, prednisolona, metilprednisolona, cortisona, hidrocortisona, prednisona, triamcinolona, dexametasona) y agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE, por ejemplo, paracetamol, ibuprofeno, aspirina).

Los "agentes antivíricos" incluyen trifluridina, vidarabina, aciclovir, valaciclovir, famciclovir y doxuridina.

45 Los "agentes antibacterianos" o antibióticos incluyen ampicilina, penicilina, tetraciclina, oxitetraciclina, framisetina, gatifloxacina, gentamicina, tobramicina, bacitracina, neomicina y polimixina.

50 Los "agentes antimicóticos/fungistáticos/antifúngicos" incluyen fluconazol, anfotericina, clotrimazol, econazol, itraconazol, miconazol, 5-fluorocitosina, cetoconazol y natamicina.

55 Los "agentes antiangiogénicos" incluyen anticuerpos (o fragmentos de los mismos) tales como anticuerpos anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) o anti-PIGF (factor de crecimiento placentario) y agentes tales como macugen (pegaptanib sódico), triptofanil-tRNA sintetasa (TrpRS), acetato de anecortave, profármaco combrestatina A4, AdPEDF (adenovector capaz de expresar el factor derivado del epitelio pigmentario), trampa de VEGF, inhibidor del receptor de VEGF 2, inhibidores de VEGF, PIGF o TGF-β, sirolimus (rapamicina) y endostatina.

Los "agentes antimitóticos" incluyen mitomicina C y 5-fluorouracilo.

60 "Antihistamínico" incluye fumarato de ketitofeno y maleato de feniramina.

Los "anestésicos" incluyen benzocaína, butamben, dibucaína, lidocaína, oxibuprocaína, pramoxina, proparacaína, proximetacaína, tetracaína y ametocaína.

Otros agentes adyuvantes o fármacos que pueden usarse junto con el anticuerpo anti-PIGF o fragmento del mismo de acuerdo con la invención incluyen escopolamina, atropina o tropicamida, para inducir midriasis (dilatación pupilar) y/o cicloplejía (parálisis del músculo de enfoque del ojo).

- 5 Además del anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante, debe considerarse como un "principio activo" cada uno de los agentes antes mencionados, así como antihistamínicos y anestésicos.

10 Una "formulación farmacéuticamente aceptable" es, en el contexto de la presente invención más particular una "formulación oftalmológicamente aceptable". Una formulación en general es una composición que comprende un vehículo, diluyente o adyuvante compatible con uno o más principios activos a formular, siendo la formulación entera compatible con el uso pretendido en el tejido u órgano previsto, etc. Pueden encontrarse ejemplos de formulaciones farmacéuticamente aceptables así como métodos para fabricarlas, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (por ejemplo, 20ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2000) o en cualquier manual de Farmacopea (por
15 ej., Farmacopea de los Estados Unidos, Farmacopea Europea o Farmacopea Internacional).

Los "lubricantes" incluyen propilenglicerol, glicerina, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lecitina de soja, poli(alcohol vinílico), vaselina blanca, aceite mineral, povidona, carbopol 980, polisorbato 80, dextrano 70.

20 Ejemplos

Los ejemplos incluidos a continuación demuestran la invención.

25 PROPÓSITO. La curación excesiva de la herida postoperatoria con la consiguiente inflamación y cicatrización con frecuencia conduce al fracaso quirúrgico de la cirugía de filtración de glaucoma (GFS). Se comprobó la hipótesis de que el factor de crecimiento placentario (PIGF) desempeña un papel en la formación de cicatrices después de la GFS, y que puede ser una diana para la mejora del resultado de esta cirugía.

30 MÉTODOS. Se recogieron muestras de humor acuoso y plasma de pacientes con glaucoma y pacientes de control (n = 10) y se determinaron los niveles de PIGF mediante ELISA. El efecto del anticuerpo anti-PIGF murino (5D11D4) se investigó en un modelo de ratón de GFS en ratones C75B1/6. En el contexto de inyección única, 5D11D4 (1 µl, 5,2 mg/ml, anticuerpo descrito en detalle en el documento WO 01/85796) o 1C8, un anticuerpo IgG de ratón irrelevante contra el activador de plasminógeno tisular humano (1 µl, 4,8 mg/ml, anticuerpo disponible en ThromboGenics) se inyectaron en la cámara anterior (n = 10 ojos o n = 20 ojos para ambos grupos) inmediatamente
35 después de la cirugía ("día 0"). Se utilizó un anticuerpo anti-VEGF-R2 murino (DC101) como control positivo (1 µl, 6,2 mg/ml, n = 10). Los ratones fueron sacrificados en el día 8 postoperatorio. En el contexto de inyección múltiple o repetida, los anticuerpos se administraron como antes, aunque en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía; se evaluaron grupos de n = 10 ojos y los ratones fueron sacrificados en el día 13 postoperatorio. El resultado del tratamiento se estudió mediante la investigación clínica de la presión intraocular (PIO), el área de la ampolla y la supervivencia de la ampolla cada dos días.
40

RESULTADOS. Se encontró que los niveles de PIGF en humor acuoso estaban significativamente aumentados en los pacientes con glaucoma en comparación con los pacientes de control (17 ± 2 pg/ml frente a $12 \pm 0,75$ pg/ml, p = 0,03). No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de PIGF. En el modelo de ratón de GFS, la administración única del anticuerpo anti-PIGF (5D11D4) mejoró significativamente el resultado quirúrgico aumentando la supervivencia de la ampolla (p = 0,04) y el área de la ampolla (p = 0,01) con un 29 % en comparación con el control negativo (1C8). Una administración única de anti-VEGF-R2 (DC101) también mejoró significativamente el área de la ampolla con un 7 % en comparación con 1C8 (p = 0,05), pero no tuvo ningún efecto sobre la supervivencia de la ampolla (p = 0,23). Se observó una tendencia hacia una mayor área de la ampolla después de la administración de 5D11D4 en comparación con la administración de DC101 (p = 0,07). No se encontró que la PIO fuera significativamente diferente en ninguno de los grupos (p > 0,05). Los resultados de la administración única de los anticuerpos se representan en la Figura 1 (PIO); Las figuras 2A, 2B, 4A, 4B, 6A y 6B (todas las áreas de la ampolla) y las Figuras 3A, 3B, 5A y 5B (supervivencia de la ampolla).
50

55 Las administraciones múltiples o repetidas de los anticuerpos (en los días 0, 4 y 10 después de la cirugía) condujeron a una mejora más pronunciada del resultado quirúrgico tanto con 5D11D4 como con DC101 por separado comparado con 1C8 y con un resultado positivo más pronunciado con 5D11D4 comparado con DC101.

60 Además, la tendencia hacia una mayor área de la ampolla después de la administración de 5D11D4 en comparación con DC101 tras la administración única (p = 0,07) se convirtió en una diferencia significativa. Esto último demuestra además que un anticuerpo anti-PIGF (5D11D4) es más eficaz en la mejora del resultado quirúrgico de GFS que un anticuerpo anti-VEGF-R2 (DC101) (p = 0,005). Los resultados de las administraciones repetidas de los anticuerpos se representan en las Figuras 2C, 4C y 6C (todas las áreas de la ampolla) y en las Figuras 3C y 5C (supervivencia de la ampolla).
65

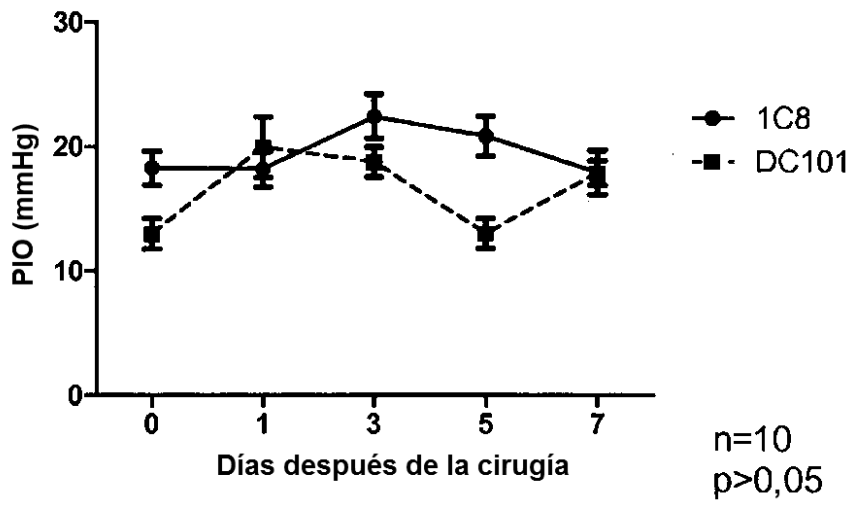
5 CONCLUSIONES. La producción local de PIGF en el ojo puede indicar un papel importante para este factor de crecimiento en la cicatrización de heridas después de la GFS. De hecho, la selección de PIGF como diana con un anticuerpo monoclonal inhibidor es eficaz para mejorar el resultado de la GFS, incluso más eficaz que la inhibición de VEGF-R2 como se describe en la presente memoria y más eficaz que la inhibición de VEGF-165 (Van Bergen et al. 2011, Exp Eye Res 93, 689-699) o VEGF- A (Li et al. 2009, Invest Ophthalmol Vis Sci 50, 5217-5225). Este efecto se observa con una sola administración de un anticuerpo anti-PIGF y se mejora significativamente con múltiples administraciones de un anticuerpo anti-PIGF. Estos resultados hacen del PIGF una diana validada para la cicatrización de heridas oculares y apuntan a los beneficios terapéuticos de la inhibición de PIGF en este contexto.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso en el tratamiento de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o para su uso en la prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo.
- 10 2. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de ser administrada a un ojo.
- 15 3. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 2 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de ser administrada en la cámara anterior de un ojo.
- 20 4. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 2 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable capaz de ser administrada en la ampolla creada mediante cirugía de trabeculectomía.
- 25 5. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho tratamiento de un fallo de la filtración después la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o dicha prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo es el resultado de administrar a dicho ojo al menos una dosis única de una cantidad eficaz de dicho anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante.
- 30 6. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable, que comprende además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía.
- 35 7. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicho ojo se pone en contacto adicionalmente con uno o más agentes seleccionados entre un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía.
- 40 8. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que dicho contacto adicional se produce antes, simultáneamente con o después de la administración del anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante.
- 45 9. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho tratamiento de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo, o dicha prevención, reducción o retraso de la aparición de un fallo de la filtración después de la cirugía de trabeculectomía de un ojo es el resultado de la administración a dicho ojo de dosis múltiples de una cantidad eficaz de dicho anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante.
- 50 10. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dichas dosis múltiples se administran con al menos intervalos de tiempo de 6 horas.
- 55 11. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10 que está en una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende además uno o más de un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía.
- 60 12. El anticuerpo anti-PIGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PIGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en el que dicho ojo se pone en contacto adicionalmente con uno o más agentes seleccionados entre un agente para controlar la presión intraocular, un agente antiinflamatorio, un agente antivírico, un agente antibacteriano, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, un antihistamínico, un anestésico, un agente para inducir midriasis y un agente para inducir ciclopejía.

13. El anticuerpo anti-PlGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PlGF neutralizante para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho contacto adicional se produce antes, simultáneamente con o después de la administración del anticuerpo anti-PlGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PlGF neutralizante.
- 5 14. El anticuerpo anti-PlGF neutralizante o fragmento de anticuerpo anti-PlGF neutralizante para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8 y 11 a 13, en el que dicho agente antimitótico es mitomicina C o 5-fluorouracilo.

A



B

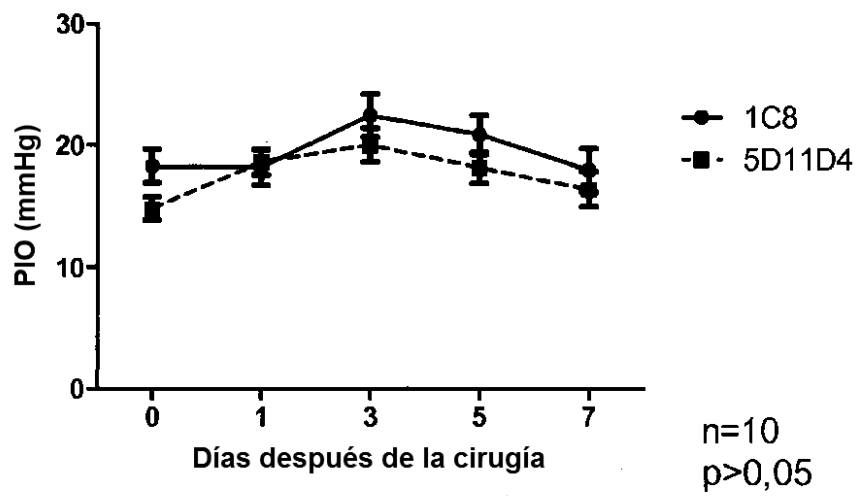


FIGURA 1

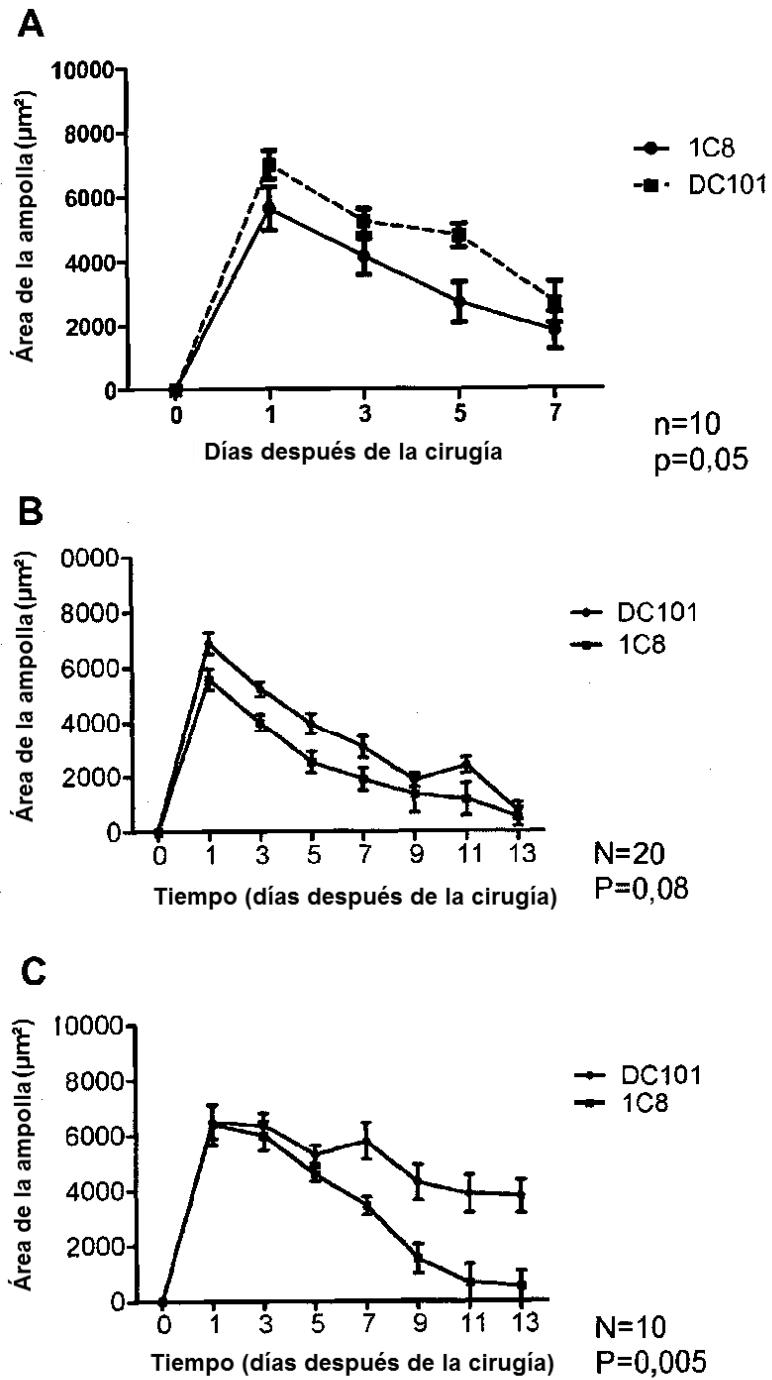


FIGURA 2

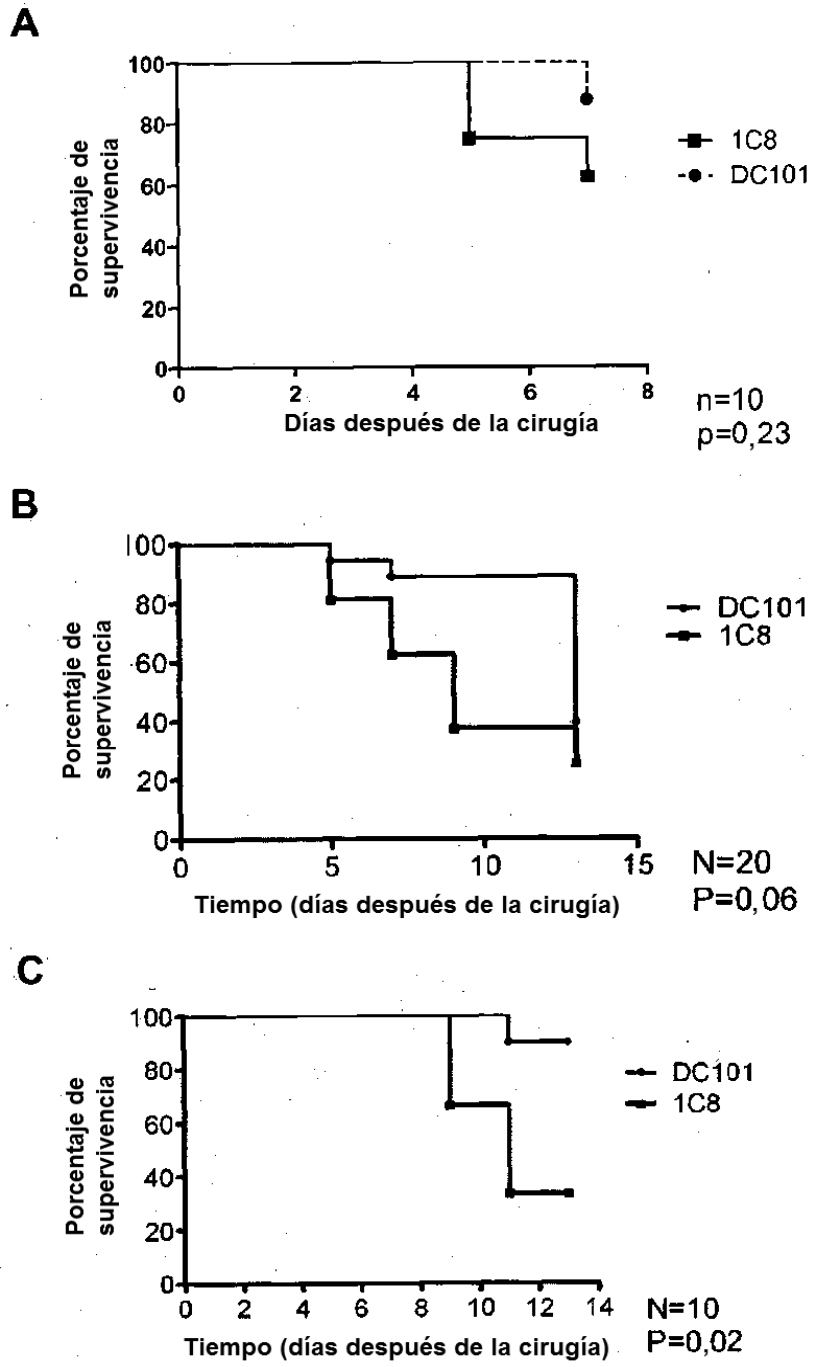


FIGURA 3

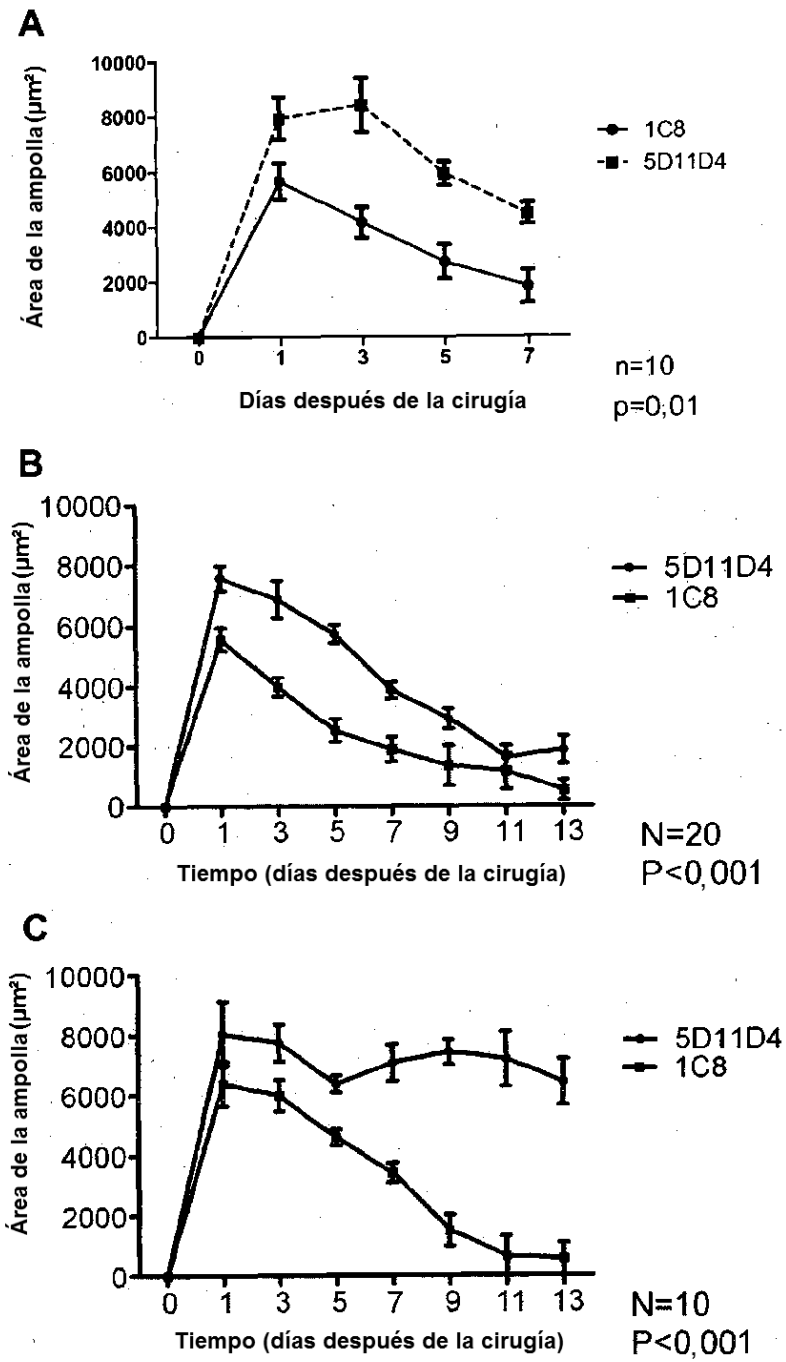


FIGURA 4

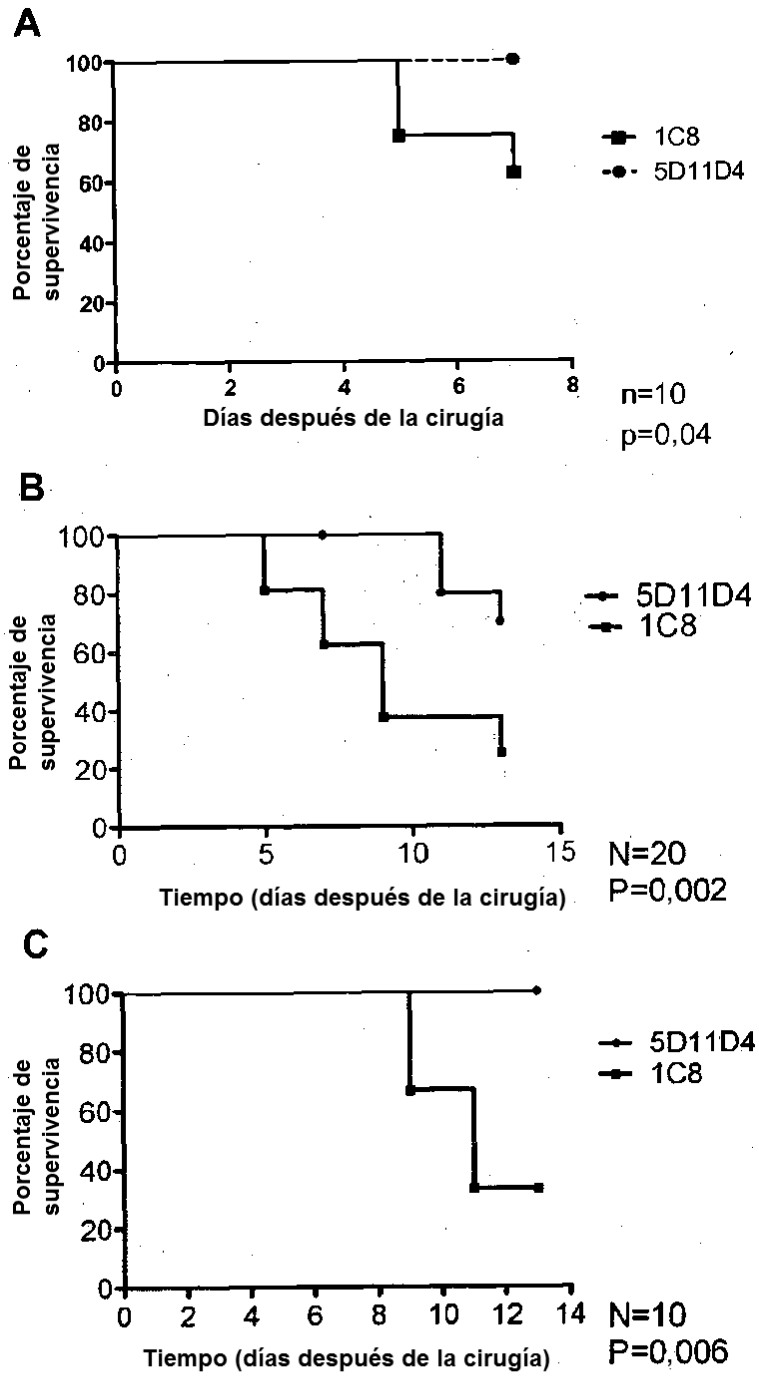
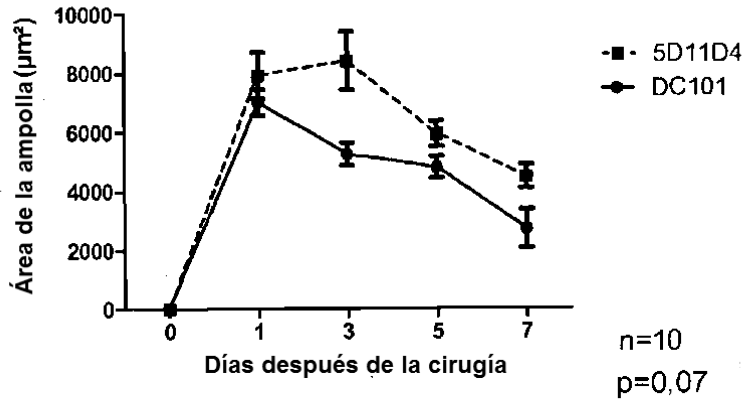
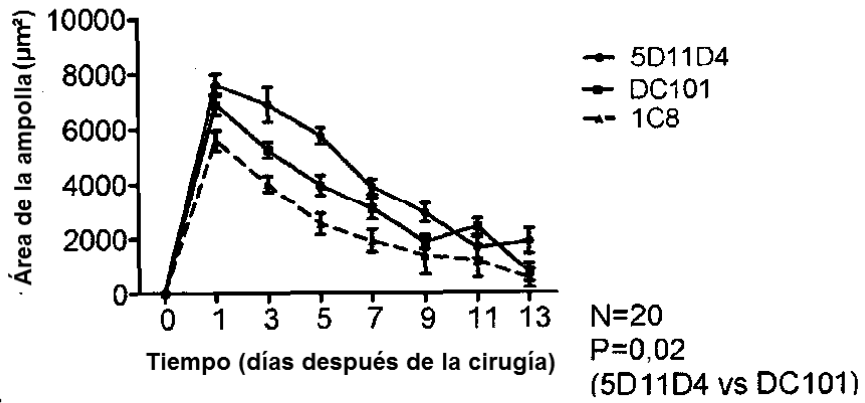


FIGURA 5

A



B



C

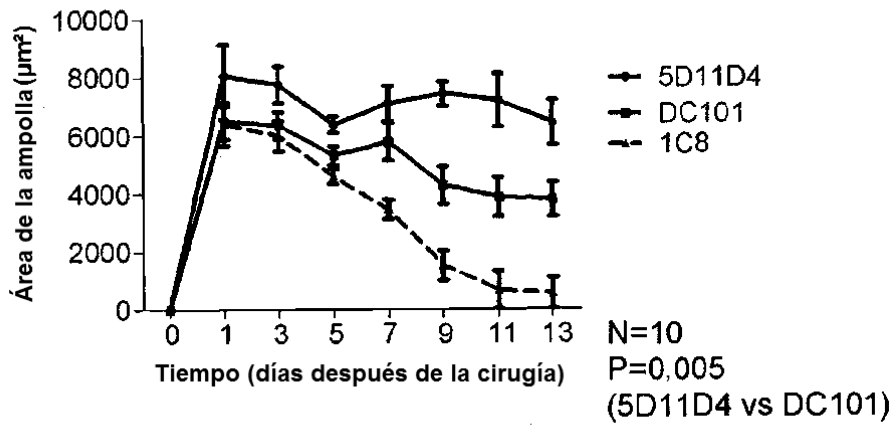


FIGURA 6