

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 645 740**

51 Int. Cl.:

A61K 39/35

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.10.2012 PCT/EP2012/070810**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.04.2014 WO14060049**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.10.2012 E 12775680 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2908857**

54 Título: **Composiciones para inmunoterapia**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
07.12.2017

73 Titular/es:

**HAL ALLERGY HOLDING B.V. (100.0%)
J. H. Oortweg 15
2333 CH Leiden, NL**

72 Inventor/es:

**VAN DER KLEIJ, JOANNA, PAULINA, MARIA y
OPSTELTEN, DIRK, JAN, ELBERTUS**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 645 740 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

Composiciones para inmunoterapia

La presente invención se refiere a composiciones que se pueden utilizar en inmunoterapia y especialmente a composiciones que se pueden utilizar en inmunoterapia para mamíferos, tales como mamíferos humanos, que padecen de alergia al cacahuete. La presente invención se refiere además al uso de las presentes composiciones para el tratamiento terapéutico para la desensibilización del sistema inmune de un mamífero que padece de una alergia por inmunoterapia y el uso de las presentes composiciones en un tratamiento profiláctico de un mamífero con alta predisposición para desarrollar una cierta alergia.

La inmunoterapia con alérgenos, también denominada terapia de hiposensibilización, desensibilización inmunológica, hiposensibilización o inmunoterapia específica para alérgenos, es una forma de inmunoterapia para trastornos alérgicos en los que el paciente es vacunado con dosis cada vez mayores de un alérgeno, es decir, la sustancia o sustancias a las que son alérgicos, con el objetivo de inducir tolerancia inmunológica.

La inmunoterapia específica con alérgenos es la única estrategia de tratamiento que trata la causa subyacente de un trastorno alérgico. Es una estrategia de tratamiento altamente rentable y da como resultado una calidad de vida mejorada.

La inmunoterapia ha demostrado producir remisión a largo plazo de los síntomas alérgicos, reducir la severidad de la respuesta alérgica asociada, así como reducir las probabilidades de nuevas sensibilizaciones a alérgenos en desarrollo. La inmunoterapia trata de modular la respuesta del sistema inmune a los alérgenos.

La inmunoterapia abarca generalmente la exposición repetida a un alérgeno específico a través, por ejemplo, de vías sublinguales o subcutáneas, proporcionando así una desensibilización del paciente alérgico al alérgeno y, por tanto, una reducción de los síntomas alérgicos y el uso de tratamientos basados en síntomas.

El mecanismo subyacente exacto de inmunoterapia no se conoce completamente, pero se acepta que la inmunoterapia conduce a la alteración de la respuesta inmune a un alérgeno. La modificación comprende al menos un cambio en la síntesis de IgE y la producción de anticuerpos de bloqueo de IgE que reducen la respuesta alérgica del sistema inmune a alérgenos específicos. También se observa un aumento en la conversión de Th2 a células reguladoras Th1/T. A nivel molecular, parte del mecanismo subyacente se basa en la inducción preferencial de IgG específica de alérgeno para neutralizar un alérgeno y una reducción de la IgE específica de alérgeno.

La inmunoterapia generalmente implica exponer a un paciente alérgico a dosis bajas de un alérgeno. La dosis se aumenta gradualmente en una base regular, por ejemplo semanalmente, hasta que se alcanza una dosis de "mantenimiento". Esto se traduce en aproximadamente cuatro meses de inyecciones semanales para alcanzar la dosis de mantenimiento. Una vez que se alcanza la dosis de mantenimiento, las inyecciones se administran con menor frecuencia, por ejemplo, una vez al mes durante algunos años. Generalmente, cuanto más largo es el tratamiento y mayor es la dosis, mayor es el beneficio terapéutico.

Después de completar con éxito la inmunoterapia, se puede esperar una protección a largo plazo durante un período de 3 a 5 años o más. La terapia se puede repetir si los síntomas comienzan a volver o si el individuo se expone a nuevos alérgenos que no se incluyeron en el régimen de tratamiento anterior.

Los cacahuetes son uno de los alimentos más comunes responsables de la alergia inducida por alimentos. Todavía no se dispone de un tratamiento curativo para la alergia al cacahuete. La inmunoterapia específica (SIT, en inglés specific immunotherapy) utilizando un extracto acuoso de cacahuete mostró una tolerancia aumentada a la ingestión oral de cacahuetes. Sin embargo, según lo descrito por Nelson et al. (J. Allergy Clin. Immunol. Junio de 1977; 99 (6 Pt 1): 744-51), extractos acuosos de cacahuete dieron lugar a reacciones sistémicas inaceptables, incluso durante las inyecciones de mantenimiento. En consecuencia, Nelson et al. concluyeron: "Para la aplicación clínica de este método de tratamiento, se necesita un extracto de cacahuete modificado."

Van der Kleij et al., (J. of Allergy and Clinical Immunology, 2011; vol. 127; N°2; Supl. S) describen composiciones adecuadas para inmunoterapia que comprenden Ara h2 y Ara h6 reducido y alquilado e hidróxido de aluminio.

Considerando la relevancia clínica de la inmunoterapia, existe una necesidad continua en la técnica de composiciones adecuadas para inmunoterapia y especialmente inmunoterapia eficaz contra la alergia al cacahuete. Un beneficio adicional para estas composiciones es que las composiciones necesitan ser, además de proporcionar una alteración de la respuesta inmune tras la exposición a un alérgeno, seguras, es decir, las composiciones no deben desencadenar una reacción alérgica y, en el caso más grave, un choque anafiláctico.

Considerando la necesidad anterior en la técnica, es un objeto de la presente invención, entre otros objetos, proporcionar composiciones adecuadas para inmunoterapia y especialmente inmunoterapia dirigida a la alergia al cacahuete.

Este objeto de la presente invención, entre otros objetos, se cumple por una composición adecuada para inmunoterapia como se define en las reivindicaciones adjuntas.

5 Específicamente, este objeto de la presente invención, entre otros objetos, se cumple, según un primer aspecto, por una composición adecuada para inmunoterapia que comprende un alérgeno, en donde más del 99% de dicho alérgeno en dicha composición está complejado con aluminio. De acuerdo con la presente invención, el presente alérgeno complejado, unido o conjugado con aluminio es un extracto de proteína del grano de cacahuete que no se modifica mediante reducción y posterior alquilación.

10 Dentro del contexto de la presente invención, un alérgeno se define como un antígeno capaz de estimular una reacción de hipersensibilidad en mamíferos atópicos a través de respuestas de inmunoglobulina E (IgE). La mayoría de los mamíferos producen respuestas significativas de las inmunoglobulinas E sólo como defensa contra las infecciones parasitarias. Sin embargo, algunos mamíferos pueden responder a muchos antígenos ambientales comunes. Esta predisposición hereditaria también se designa atopía. En los mamíferos atópicos, los antígenos no parasitarios estimulan la producción indeseada de IgE, dando como resultado hipersensibilidad o alergia.

15 Los alérgenos comunes descritos incluyen antígenos encontrados en productos de origen animal tales como Fel d1 (alergia al gato), pelo y caspa, cáliz de cucaracha, lana y excreción de ácaros del polvo; fármacos tales como penicilina, sulfonamidas y salicilatos; alimentos tales como apio y apio nabo, maíz o mazorca, huevos (típicamente huevo blanco), fruta, calabaza, berenjena, legumbres, judías, guisantes, cacahuets, habas de soja, leche, mariscos, sésamo, soja, frutos secos, nueces, almendras, y trigo; picaduras de insectos tales como
20 veneno de picadura de abeja, veneno de picadura de avispa y picaduras de mosquito; esporas de moho; látex; metal; y el polen vegetal tal como gramíneas y polen de los árboles.

En el contexto de la presente invención, los términos "alérgeno", "alérgenos", "antígeno" y "antígenos" se utilizan indistintamente a menos que se indique lo contrario.

25 Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que cuando más del 99% de un alérgeno en una preparación está complejado, o conjugado con, o unido a aluminio, no se observan reacciones alérgicas clínicamente relevantes, es decir, respuestas sistémicas mediadas por mastocitos, aunque el alérgeno complejado con aluminio es todavía capaz de inducir una respuesta de IgG proporcionando así una composición especialmente adecuada para ser utilizada en inmunoterapia.

30 Las respuestas sistémicas mediadas por mastocitos se pueden medir fácilmente mediante una disminución de la temperatura corporal después de la exposición a un alérgeno.

El presente extracto de proteína del grano de cacahuete se puede obtener por a) triturar cacahuets para proporcionar un polvo de cacahuete; b) incubar el polvo de cacahuete en acetona durante 30 minutos utilizando 5 gramos de polvo de cacahuete por 50 ml de acetona para proporcionar un polvo de cacahuete desgrasado; c) secar el polvo de cacahuete desgrasado; d) suspender el polvo de cacahuete seco en un tampón con un pH entre
35 7 y 9; y e) aislar el material sobrenadante resultante de la etapa (d) proporcionando así un extracto de proteína del grano del cacahuete.

El presente extracto de proteína del grano de cacahuete comprende al menos los principales alérgenos del cacahuete Ara h1, Ara h2 y Ara h6.

40 La proteína alérgica del cacahuete Ara h1 se describió como una proteína de 63,5 kDa presente en la naturaleza en una forma trimérica de aproximadamente 180 kDa a través de interacciones no covalentes. Las estructuras triméricas de Ara h1 a menudo se agregan, formando multímeros de hasta 600-700 kDa. La proteína alérgica del cacahuete Ara h2 migra como un doblete de aproximadamente 20 kDa. Este doblete consta de dos isoformas que son casi idénticas excepto por la inserción de la secuencia DPYSPS en la isoforma de mayor peso molecular. La proteína alérgica del cacahuete Ara h6, se identificó como una proteína con un peso molecular
45 de aproximadamente 15 kDa basado en SDS-PAGE y 14.981 Da como se determina por espectroscopia de masas.

La presente composición comprende preferiblemente vehículos, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

50 Considerando las propiedades beneficiosas de las presentes composiciones en inmunoterapia, la presente invención se refiere, de acuerdo con un segundo aspecto, a una composición que comprende un alérgeno, en donde más del 99% de dicho alérgeno en dicha composición está complejado con aluminio, para uso en un tratamiento terapéutico o profiláctico de un mamífero, preferiblemente un mamífero humano, que padece de una alergia por inmunoterapia. De acuerdo con la presente invención, el alérgeno es un extracto de proteína del grano del cacahuete no modificado mediante reducción y posterior alquilación y la alergia es alergia al cacahuete.

55 Considerando las propiedades beneficiosas de las presentes composiciones en inmunoterapia, la presente invención se refiere, de acuerdo con un tercer aspecto, a una composición que comprende un alérgeno, en donde

más del 99% de dicho alérgeno en dicha composición está complejoado con aluminio, para uso en un tratamiento profiláctico para la desensibilización del sistema inmune de un mamífero, preferiblemente un mamífero humano, para dicho alérgeno. De acuerdo con la presente invención, el alérgeno es un extracto de proteína del grano de cacahuete no modificado por reducción y posterior alquilación y el sistema inmune es desensibilizado para la exposición a los cacahuetes.

Se describe un método para inmunoterapia que comprende administrar a un mamífero, preferiblemente un mamífero humano, que padece de una alergia, una composición que comprende un alérgeno, en donde el 100% de dicho alérgeno en dicha composición está complejoado con aluminio, en una cantidad suficiente y durante un tiempo suficiente para reducir o eliminar una respuesta alérgica de dicho mamífero a dicho alérgeno.

Una cantidad suficiente típica será de aproximadamente 0,1 ng/kg a 10 mg/kg, 10 ng/kg a aproximadamente 100 µg/kg, o de 0,1 µg/kg a 1 µg/kg del alérgeno complejoado con aluminio con respecto al peso corporal del individuo al que se administra. A menudo, un tratamiento comprenderá comenzar con la administración de la dosis en el extremo inferior de estos intervalos y aumentar las dosis a medida que avanza el tratamiento.

Para el tratamiento de desensibilización, típicamente es necesario que el paciente reciba administraciones frecuentes, p. ej., inicialmente cada uno, dos o tres días, reduciéndose gradualmente a una vez cada dos o tres semanas. Otros programas de desensibilización adecuados incluyen inyecciones subcutáneas una vez cada 2-4 semanas, la dosificación de las inyecciones pueden aumentar gradualmente durante un periodo de 3-6 meses y luego continuar cada 2-4 semanas durante un periodo de hasta aproximadamente 5 años. También es posible, en particular para la administración sublingual, que se den las administraciones diariamente.

Los protocolos de desensibilización pueden comprender también una forma de tratamiento convencionalmente conocida en diversas formas alternativas equivalentes como desensibilización rápida, inmunoterapia rápida con alérgenos, vacunación rápida con alérgenos e inmunoterapia rápida o urgente. En términos generales, este procedimiento trata de acercar a un paciente alérgico a una dosis de extracto inmunizante o de mantenimiento (es decir, alérgeno) administrando una serie de inyecciones (o mediante otro vehículo adecuado) de dosis crecientes del alérgeno a intervalos frecuentes (p. ej. cada hora). Si tiene éxito, el paciente mostrará una resistencia mejorada al alérgeno, posiblemente incluso presentando una no-reactividad total a cualquier exposición alérgica posterior.

En la técnica se conocen diversos protocolos de desensibilización y pueden comprender, por ejemplo, un método de tratamiento de un paciente que tiene una hipersensibilidad inmediata a un alérgeno utilizando un plan acelerado de inmunoterapia rápida en combinación con un método de pretratamiento de dicho paciente con antagonistas de prednisona e histamina antes de recibir la inmunoterapia acelerada.

De acuerdo con la presente invención, el alérgeno es un extracto de proteína del grano de cacahuete no modificado mediante reducción y posterior alquilación, y la alergia es alergia al cacahuete.

La presente invención se detallará además en los siguientes ejemplos. En los ejemplos, se hace referencia a figuras en donde:

Figura 1: muestra los cambios de temperatura en ratones sensibilizados expuestos con diferentes preparaciones de extracto de cacahuete adsorbido en aluminio. Los cambios de temperatura se midieron durante 90 minutos después de la exposición con 0,6 mg/ratón, 0,6 mg/ratón adsorbido en 0,18 mg/ml de aluminio, 0,45 mg/ratón en aluminio, 0,9 mg/ml en aluminio o 5,46 mg/ml en aluminio. Como control se expusieron ratones sensibilizados con PBS/aluminio;

Figura 2: muestra las puntuaciones de los síntomas de ratones sensibilizados expuestos con diferentes preparaciones de extracto de cacahuete adsorbido en aluminio. Las puntuaciones de los síntomas se asignaron después de la exposición en una escala de 0 (sin síntomas) a 5 (muerte).

Figura 3: muestra una visión general esquemática de la escala de tiempo para la sensibilización y la exposición;

Figura 4: muestra los resultados de una exposición i.p. en el día 98 en el modelo de ratón in vivo para la alergia al cacahuete;

Figura 5: muestra los resultados de una exposición i.p. en el día 112 en el modelo de ratón in vivo para la alergia al cacahuete;

Figura 6: muestra los resultados de la secreción de la proteasa 1 del mastocito (mMCP-1) un día después de la exposición del modelo de ratón in vivo para la alergia al cacahuete;

Figura 7: muestra los niveles de anticuerpos IgE, IgG1 e IgG2a en todos los grupos testados del modelo de ratón in vivo para la alergia al cacahuete.

Ejemplos

Ejemplo 1: La complejación de aluminio y un alérgeno aumenta significativamente la seguridad

Introducción

- 5 Este ejemplo demuestra que la complejación de aluminio con un alérgeno aumenta significativamente la seguridad de una composición utilizada para inmunoterapia. Esto se demostró utilizando un extracto de cacahuete antigénico unido a diferentes concentraciones de hidróxido de aluminio. En un modelo de ratón in vivo para la alergia al cacahuete se analizó la seguridad de estas diferentes preparaciones de ensayo.

Material y métodos

10 Ratones

- Se adquirieron ratones hembra C3H/HeOJ libres de patógenos específicos de cinco semanas de edad de Charles River, Francia. Todos los ratones se alojaron en condiciones específicas libres de patógenos dentro de la instalación de cuidado de animales en la Universidad de Utrecht, Países Bajos. Los experimentos se aprobaron por el Comité de experimentos con animales de la Universidad de Utrecht. La dieta utilizada contenía proteína vegetal (incluida la soja) pero estaba libre de proteínas de cacahuete.

Preparaciones de los ensayos

- Estudios anteriores han demostrado que una exposición de 0,6mg de extracto de cacahuete (PE, en inglés peanut extract) por ratón que no está unido a aluminio da como resultado una respuesta anafiláctica profunda. También se sabe que una exposición con 0,1mg de PE es capaz de inducir cambios profundos en la temperatura y la puntuación de los síntomas en ratones sensibilizados.

- En un estudio piloto, se investigó la relación entre la cantidad de aluminio añadido y el porcentaje de extracto de cacahuete complejo con aluminio. Para ello, se añadieron diferentes cantidades de hidróxido de aluminio a una muestra de extracto de cacahuete (proteína 100%) y la muestra se centrifugó para sedimentar el extracto de cacahuete complejo con aluminio. Posteriormente, se determinó el porcentaje de proteína libre en el material sobrenadante para determinar la cantidad de alérgeno sedimentado, por tanto complejo con aluminio, en donde el porcentaje de alérgeno complejo con aluminio es el 100% - el porcentaje de proteína libre encontrada en el material sobrenadante.

- Las diferentes concentraciones de aluminio utilizadas en el presente ejemplo se basaron en la unión del ~100% (5,46 mg/ml) o ~90% (0,9 mg/ml de aluminio), ~70% (0,45 mg/ml de aluminio), ~40% (0,18 mg/ml de aluminio) del extracto total. También se incluyó un control positivo (0,6 mg/ml de PE sin aluminio).

Sensibilización y exposición

- Se sensibilizaron ratones (n=6) por administración intragástrica (i.g., en inglés intragastric administration) con 6mg de extracto de cacahuete (PE) y 15µg de Toxina del Cólera (CT, List Biological Laboratories, Inc.) en 400µl de PBS por ratón los días 0, 1, 7, 14, 21, 28. Los ratones control recibieron PBS con 15µg CT/ratón en 400µl de PBS por ratón. El día 42, todos los grupos de ratones se expusieron subcutáneamente (s.c.) en el cuello con 200µl de las diferentes preparaciones de ensayo o su respectivo control.

Evaluación de la anafilaxia

- Como parámetro objetivo del choque anafiláctico, la temperatura corporal se midió mediante termometría rectal cada 10-20 minutos durante 90 minutos después de la exposición s.c. Además, los síntomas clínicos se puntuaron utilizando un sistema de puntuación de 0 (sin síntomas) a 5 (muerte).

Resultados

Se determinó el porcentaje de extracto de cacahuete complejo con aluminio y los resultados se resumen en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Porcentaje de extracto de cacahuete complejado con aluminio

Preparación por ratón	Concentración de hidróxido de aluminio (mg/ml)	Porcentaje de proteína libre	Porcentaje de proteína complejada
0,6mg de PE	0	100%	0%
0,6mg de PE	0,18	60%	40%
0,6mg de PE	0,45	30%	70%
0,6mg de PE	0,9	10%	90%
0,6mg de PE	5,46	0%	100%

5 Una exposición subcutánea con 0,6mg de PE no complejado por ratón dio como resultado una respuesta grave de choque anafiláctico en todos los ratones, medida por su caída de temperatura (Figura 1) y la puntuación de los síntomas clínicos (Figura 2). Cuando la preparación de cacahuete estaba totalmente adsorbida en aluminio (100%), ninguno de los ratones mostró ningún signo de síntomas de choque anafiláctico.

10 La exposición de los ratones con preparaciones que contenían diferentes cantidades de aluminio solo aseguraba la adsorción parcial de PE, dando como resultado una respuesta retardada en los grupos expuestos con la preparación que contenía 60% y 30% de material no adsorbido. En el grupo expuesto con la preparación que contenía ~10% de material no adsorbido hubo un retraso así como una disminución en la respuesta. Los ratones no sensibilizados no respondieron a ninguno de las exposiciones (datos no mostrados) y los ratones sensibilizados que se expusieron solo con aluminio tampoco mostraron respuesta.

Conclusión

15 Los ratones que se sensibilizaron y se expusieron con preparaciones que contenían cantidades similares de PE, pero cantidades variables de aluminio respondieron de manera diferente a una exposición. La unión completa (100%) de PE a aluminio anuló la potencia del extracto de cacahuete mientras que la unión parcial todavía dio como resultado una respuesta anafiláctica. El presente ejemplo muestra claramente la potencia del aluminio para evitar a los ratones que sufran un choque anafiláctico.

20 Ejemplo 2 La complejación de aluminio y un alérgeno aumenta significativamente la respuesta del sistema inmune que da como resultado un perfil de eficacia aumentado.

Introducción

25 Este ejemplo demuestra que la complejación de aluminio con un alérgeno aumenta significativamente la respuesta del sistema inmune que da como resultado un perfil de eficacia aumentado. Esto se demostró utilizando un extracto de cacahuete antigénico unido al hidróxido de aluminio. En un modelo de ratón in vivo para la alergia al cacahuete se analizó mediante inmunoterapia la eficacia de las preparaciones de ensayo.

Material y métodos

Ratones

30 Se adquirieron ratones hembra C3H/HeOuJ libres de patógenos específicos de cinco semanas de edad de Charles River, Francia. Todos los ratones se alojaron en condiciones específicas libres de patógenos dentro de la instalación de cuidado de animales en la Universidad de Utrecht, Países Bajos. Los experimentos se aprobaron por el Comité de experimentos con animales de la Universidad de Utrecht. La dieta utilizada contenía proteína vegetal (incluida la soja) pero estaba libre de proteínas de cacahuete.

Sensibilización y exposición

35 Se sensibilizaron ratones (n=6 por grupo) por administración intragástrica (i.g.) con 6mg de extracto de cacahuete (PE) y 15µg de Toxina del Cólera (CT, List Biological Laboratories, Inc.) en 400µl de PBS por ratón los días 0, 1, 2, 7, 14, 21, 28. Los ratones control recibieron PBS con 15µg CT/ratón en 400µl de PBS por ratón. Desde el día 42, todos los grupos de ratones se desensibilizaron subcutáneamente (s.c.) en el cuello, dos veces a la semana

durante seis semanas, con 200µl de las diferentes preparaciones de ensayo o su respectivo control (Figura 3). Las preparaciones de ensayo se ensayaron en una concentración de 0,1 mg/ratón por inyección y o no se adsorbieron o se adsorbieron en 1,82 mg/ml de aluminio.

Evaluación de la anafilaxia

- 5 Como parámetro objetivo del choque anafiláctico, la temperatura corporal se midió mediante termometría rectal cada 10-20 minutos durante 90 minutos después de la exposición i.p. Un día después de la exposición, se tomó sangre para la medición de anticuerpos y mMCP-1 (proteasa 1 del mastocito). El día 98 y 112, los ratones se expusieron i.p. y su temperatura corporal se siguió durante 90 minutos después de la exposición.

Resultados

- 10 Se dio una exposición i.p. los días 98 y 112. Los datos muestran que el día 112 ambas preparaciones de inmunoterapia (extracto de cacahuete solo y adsorbido en aluminio) redujeron eficazmente la respuesta anafiláctica medida por la caída en la temperatura después de la exposición (Figura 5).

El día 98, el extracto adsorbido en aluminio mostró una mayor eficacia comparado con el extracto no adsorbido (Figura 4) que demuestra que la presencia de aluminio da como resultado una preparación que alcanza la eficacia

- 15 en un momento anterior comparado con la preparación sin aluminio.

No se encontraron diferencias entre las 2 preparaciones en la secreción de la proteasa 1 del mastocito (mMCP-1) en el suero un día después de la exposición (Figura 6). Sin embargo, la inmunoterapia con ambas preparaciones fue capaz de subregular la activación de los mastocitos, a medida que la liberación de mMCP-1 fue significativamente mayor en el grupo de ratones alérgicos que no recibieron inmunoterapia (Figura 6).

- 20 Se determinaron los anticuerpos (IgE, IgG1 e IgG2a) en el suero de todos los grupos (Figura 7). Los niveles de IgE se elevaron en todos los grupos comparado con el control negativo (PBS). El grupo desensibilizado con el extracto de cacahuete adsorbido en aluminio mostró una tendencia hacia un nivel elevado de IgE (Figura 7A) que demuestra un refuerzo del sistema inmune después de la inyección de una preparación adsorbida en aluminio.

- 25 Los ratones que recibieron inmunoterapia mostraron un nivel aumentado de IgG1 en el suero con niveles comparables entre el extracto adsorbido en aluminio y el extracto no adsorbido (Figura 7B). El aumento de los niveles de IgG2a (comparables con IgG4 en humanos) está dominado por el grupo tratado con la preparación de cacahuete adsorbida en aluminio (Figura 7C).

Conclusión

- 30 La adsorción de aluminio a un extracto de cacahuete da como resultado un refuerzo del sistema inmune que conduce a un tratamiento eficaz en un momento anterior. Sin pretender estar limitado a ninguna teoría, esto se podría deber a los elevados niveles de IgG2a (comparable a IgG4 en humanos) en el suero de estos ratones.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Composición adecuada para inmunoterapia que comprende un alérgeno, en donde más del 99% de dicho alérgeno en dicha composición está complejoado o conjugado con aluminio, en donde dicho alérgeno es un extracto de proteína del grano de cacahuete y en donde dicho alérgeno no está modificado mediante reducción y alquilación.
- 2.** Composición según la reivindicación 1, en donde dicho extracto de proteína del grano de cacahuete comprende al menos Ara h1, Ara h2 y Ara h6 o Ara h2 y Ara h6.
- 10 **3.** Composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, dicha composición comprende además vehículos, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 4.** Composición para uso en inmunoterapia que comprende un alérgeno, en donde más del 99% de dicho alérgeno en dicha composición está complejoado o conjugado con aluminio, en donde dicho alérgeno es un extracto de proteína del grano de cacahuete y en donde dicho alérgeno no está modificado mediante reducción y alquilación para uso en el tratamiento de un mamífero que padece de una alergia por inmunoterapia.
- 15 **5.** Composición para uso según la reivindicación 4, en donde dicho mamífero es un mamífero humano.
- 6.** Composición para uso en inmunoterapia que comprende un alérgeno, en donde más del 99% de dicho alérgeno en dicha composición está complejoado o conjugado con aluminio, en donde dicho alérgeno es un extracto de proteína del grano de cacahuete y en donde dicho alérgeno no está modificado mediante reducción y alquilación para uso en un tratamiento terapéutico para desensibilizar el sistema inmune de un mamífero para dicho alérgeno o el uso en un tratamiento profiláctico de un mamífero con alta predisposición para desarrollar una alergia al entrar en contacto con dicho alérgeno.
- 20 **7.** Composición para uso según la reivindicación 6, en donde dicho mamífero es un mamífero humano.

Figura 1

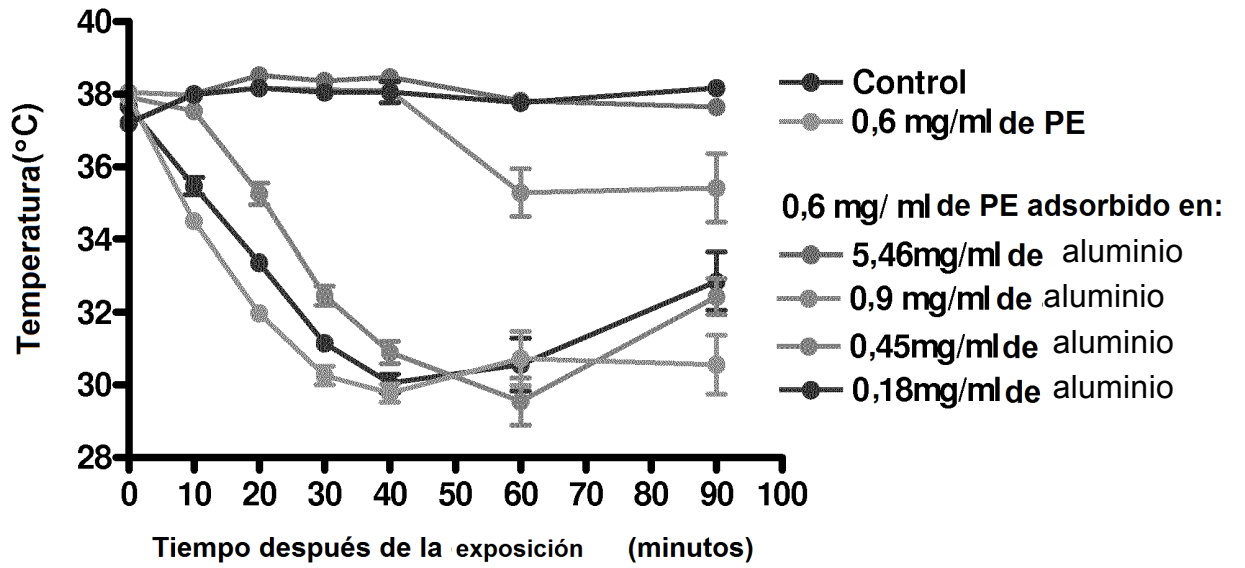


Figura 2

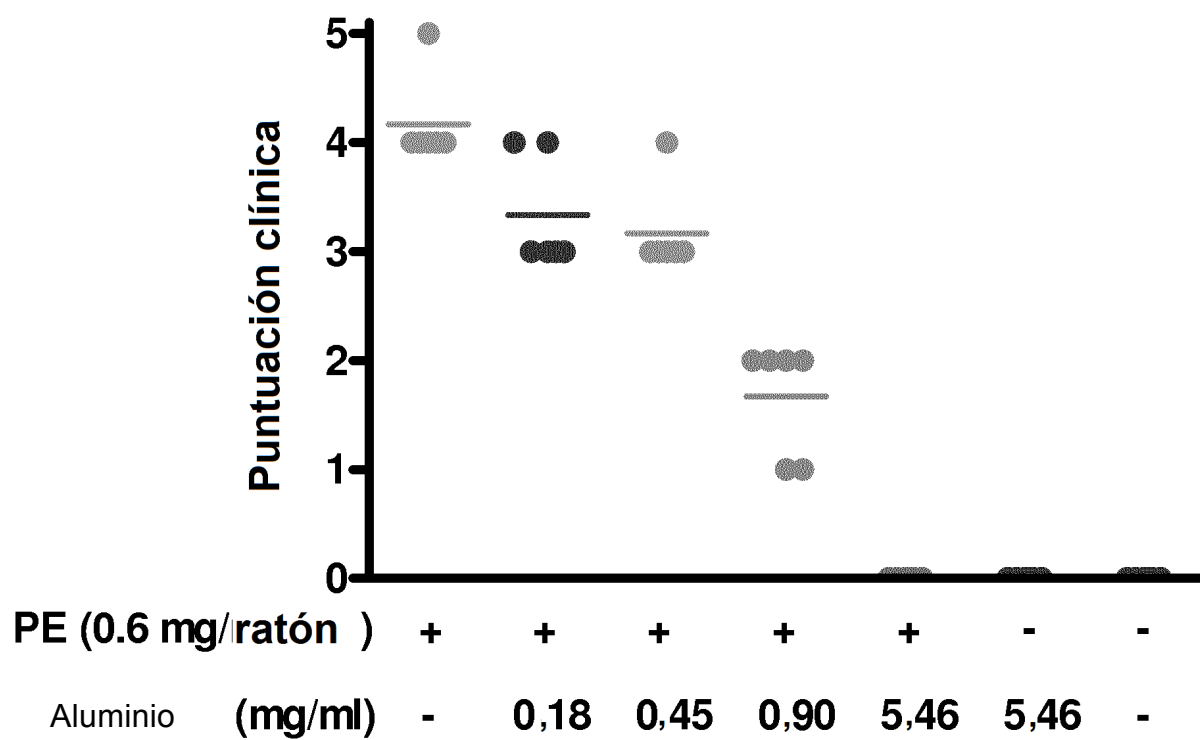


Figura 3

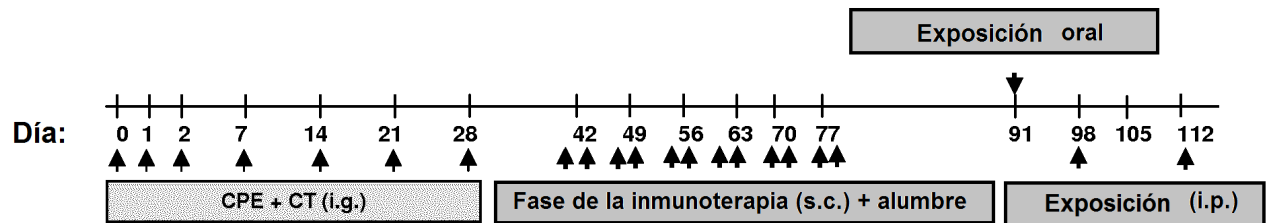


Figura 4

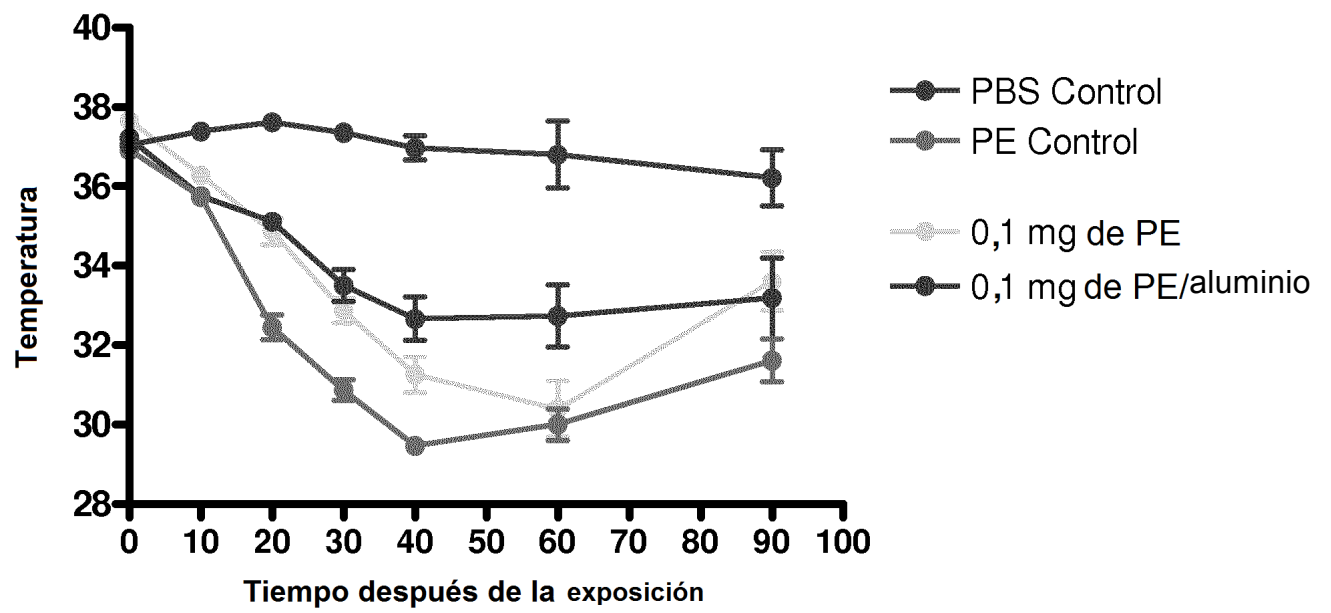


Figura 5

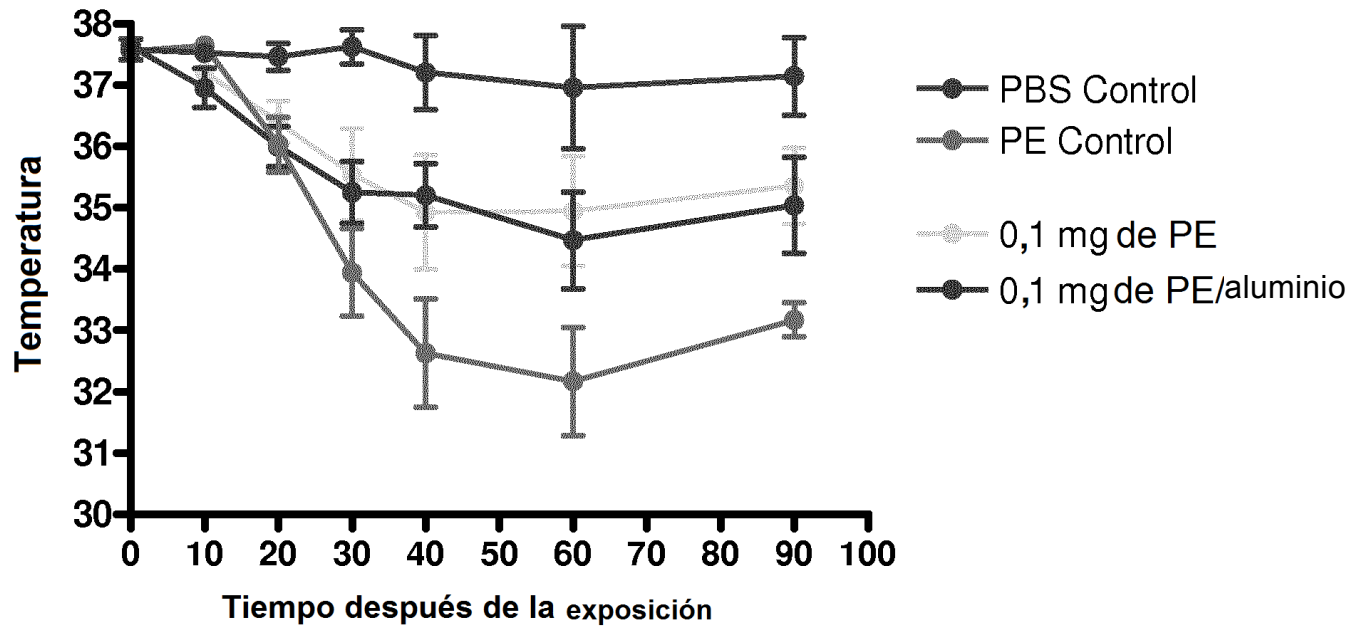


Figura 6

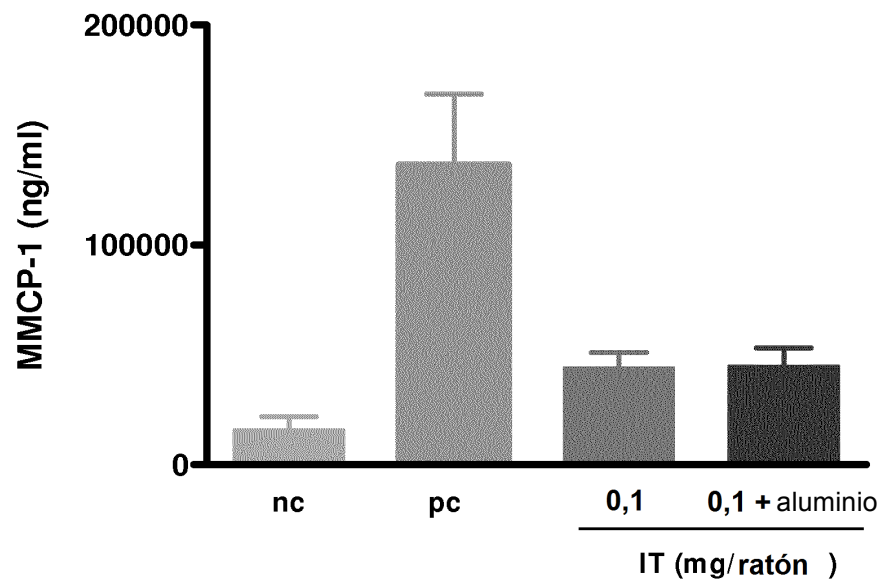


Figura 7

