

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 239**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7088 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2010 PCT/IT2010/000451**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2012 WO12063272**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2010 E 10790688 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 2637672**

54 Título: **Defibrótido para su uso en profilaxis y/o tratamiento de la enfermedad de Injerto contra huésped (GVHD)**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.12.2018

73 Titular/es:

**GENTIUM S.R.L. (100.0%)
Piazza XX Settembre 2
22079 Villa Guardia (Como), IT**

72 Inventor/es:

IACOBELLI, MASSIMO

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 694 239 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

Defibrótido para su uso en profilaxis y/o tratamiento de la enfermedad de Injerto contra huésped (GVHD)

5 La presente invención se refiere a defibrótido para su uso en profilaxis y/o tratamiento de la Enfermedad de Injerto contra Huésped (GVHD) en humanos, preferiblemente en trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), más preferiblemente trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas. La Enfermedad de Injerto contra Huésped de la invención (GVHD) puede ser aguda aGVHD y/o crónica cGVHD, preferiblemente aguda.

Estado del arte

10 La Enfermedad de Injerto contra Huésped (GVHD) es la complicación más frecuente después del trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (HSCT). La GVHD puede ocurrir a pesar de la profilaxis inmunosupresora agresiva incluso cuando el donante es un hermano perfectamente compatible (HLA idéntico). Es una consecuencia de las interacciones entre la célula presentadora de antígeno del receptor y la célula madura del donante.

15 Tradicionalmente, la GVHD se considera una enfermedad de células epiteliales. Los tres órganos implicados principalmente en la GVHD aguda son la piel, el tracto gastrointestinal y el hígado. Todos ellos comparten la característica común de presentar una barrera al "entorno" del huésped. La GVHD crónica ataca de manera similar los tejidos barrera. La barrera epitelial de la mucosa se implica en el síndrome sicca crónico del ojo, los compartimentos de la mucosa oral, intestinal o genital, así como en la bronquiolitis obliterante. Además, la GvHD se considera a menudo como una enfermedad única, dividida en dos fases: una fase aguda de la GvHD que ocurre temprano después del HSCT, y una fase crónica en la que la GvHD aparece más tarde en el curso del trasplante.

20 Finalmente, en la opinión tradicional, la GvHD se activa por citoquinas. El daño que se induce mediante el régimen preparatorio de acondicionamiento que se usa antes del trasplante y las infecciones, provoca la liberación de diversas citoquinas que son responsables de un proceso inflamatorio, lo que mejora la reacción de la GVHD.

25 Defibrótido, una mezcla polidispersa de oligonucleótidos monocatenarios, tiene un efecto protector sobre las células endoteliales activadas. Estudios preclínicos revelaron que el defibrótido protege estas células contra la activación y la muerte celular que la quimioterapia induce, y regula a la baja la expresión del gen, el nivel de proteína y la actividad de los desencadenantes de las células endoteliales, como la heparanasa.

30 Defibrótido reduce la actividad procoagulante y aumenta las propiedades fibrinolíticas de las células endoteliales que se estimulan sin exacerbar el sangrado sistémico. Los estudios clínicos de defibrótido en pacientes con enfermedad veno-oclusiva (VOD) hepática severa después del HSCT han informado una resolución completa en 36 a 50% de los pacientes y supervivencia al Día+100 en 35 a 42%. El papel profiláctico del defibrótido no se ha estudiado prospectivamente, pero parece prometedor.

Evaluamos la eficacia y seguridad del defibrótido para prevenir la VOD contra la práctica estándar (sin profilaxis con VOD) en una población pediátrica con HSCT de alto riesgo.

Definición

35 El término defibrótido identifica un polidesoxirribonucleótido que se obtiene por extracción de tejidos animales y/o vegetales, pero que también se puede producir sintéticamente; El polidesoxirribonucleótido se usa normalmente en forma de una sal de metal alcalino, generalmente una sal de sodio, y generalmente tiene un peso molecular de 13 a 30 kDa (Número de registro CAS: 83712-60-1). Preferiblemente, el defibrótido se obtiene de acuerdo con los documentos US4985552 y US5223609 y/o presenta las características físicas / químicas que se describen en los mismos US4985552 y US5223609, que se incorporan en el presente documento como referencia. Más en particular, 40 defibrótido es una mezcla de polidesoxirribonucleótidos que tienen una fórmula de secuencia aleatoria:

$P1-5, (dAP)_{12-24}, (dGP)_{10-20}, (dPp)_{13-26}, (dCp)_{10-20}$

en la que,

P = radical fosfórico,

45 dAp = monómero desoxiadenílico,

dGp = monómero desoxiguanílico,

dTp = monómero desoxitimidínico,

dCp = monómero desoxicitidínico.

y/o muestra las siguientes características químicas / físicas:

Electroforesis = movilidad anódica homogénea y/o coeficiente de extinción, $E_{1\text{ cm}} = 1\%$ a 260 ± 1 nm nm = 220 ± 10 , y/o $E_{230} / E_{260} = 0.45 \pm 0.04$, y/o coeficiente de extinción molar (referido al fósforo) $\epsilon(P) = 7.750 \pm 500$, y/o potencia rotativa $[\alpha]_{D^{20}} = 53^\circ \pm 6$; y/o hipercromicidad reversible, que se indica como% en ADN nativo y/o $h = 15 \pm 5$.

5 El término humanos identifica a cualquier sujeto como sujetos adultos y población pediátrica, en la que con el término población pediátrica se entiende la parte de la población desde el nacimiento hasta los dieciocho (18) años de edad.

El término aGVHD identifica la Enfermedad aguda de Injerto contra Huésped;

El término cGVHD identifica la Enfermedad crónica de Injerto contra Huésped; y

10 El término alogénico que se refiere al trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) identifica el trasplante de un sujeto sano a un receptor (paciente).

Descripción de la invención

15 La presente invención se refiere a defibrótido para su uso en profilaxis y/o tratamiento de la Enfermedad de Injerto contra Huésped (GVHD) en humanos, preferiblemente en trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT). La Enfermedad de Injerto contra Huésped de la invención (GVHD) puede ser aguda aGVHD y/o crónica cGVHD, preferiblemente aguda.

De acuerdo con la invención, el defibrótido se puede administrar a humanos antes y/o después del trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT).

20 Se ha realizado recientemente un ensayo internacional, aleatorizado, controlado, abierto, en el que se compara la profilaxis con defibrótido (Gentium S.p.A.) con ninguna profilaxis en pacientes pediátricos con HSCT con alto riesgo de desarrollar VOD. El criterio de valoración principal fue la incidencia de VOD al día + 30 post-HSCT, que se adjudica mediante un comité de revisión independiente enmascarado. Los parámetros secundarios incluyeron la Enfermedad de Injerto contra Huésped (GVHD), la falla orgánica relacionada con VOD y la mortalidad.

25 Un total de 356 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión y dieron su consentimiento informado para su asignación aleatoria al brazo con defibrótido I.V. (n = 180) o al brazo de control (n = 176). Se reportó VOD en 22 pacientes (12%) en el brazo con defibrótido y en 35 pacientes (20%) en el brazo de control (riesgo competitivo, P = 0.05; Kaplan-Meier, P = 0.05). La incidencia y la gravedad de la GVHD aguda se redujeron significativamente (P = 0.005 y P = 0.003, respectivamente) en los receptores alogénicos. Las fallas orgánicas asociadas a la VOD fueron menores en el brazo con defibrótido con una reducción significativa en la incidencia de insuficiencia renal (1% vs. 6%, P = 0.02). Se observó una mortalidad significativamente mayor en el Día+ 100 en pacientes con VOD (25% frente a 6%; P < 0,001). Aunque la mortalidad después del diagnóstico de VOD fue menor en el brazo con defibrótido (4 contra 10 pacientes, P = 0,1), la mortalidad general fue similar en los dos brazos. No hubo diferencia en la incidencia de eventos adversos entre los brazos (87% vs. 88%).

El defibrótido redujo la incidencia de VOD en un 40%, así como la incidencia y severidad de la GVHD aguda, y tiene un buen perfil de seguridad. (ClinicalTrials.gov número, NCT00272948.)

35 Métodos

Diseño del Estudio

40 Este estudio fue un ensayo aleatorio, multicéntrico, de fase 3, respaldado por Gentium SpA. Los comités de ética de investigación de los centros participantes aprobaron el protocolo del estudio y el formulario de consentimiento del paciente y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los pacientes y/o sus representantes legales antes de la inscripción del estudio.

45 Un gestor de datos central generó las asignaciones de tratamiento con un algoritmo informático que accedía a una secuencia de aleatorización. La aleatorización fue 1:1, que se estratificó por centro y diagnóstico de osteopetrosis. Un panel independiente de monitoreo de datos y seguridad (DSMB) de tres expertos en hematología y un estadístico revisó los datos de seguridad y mortalidad a intervalos predeterminados. Un comité de revisión independiente enmascarado (IRC) de tres expertos en hematología revisó y adjudicó el diagnóstico de todos los casos de VOD sospechosos y documentados. Un estadístico independiente realizó el análisis de los datos.

50 Los pacientes elegibles tenían menos de 18 años de edad con acondicionamiento mieloablativo para el HSCT alogénico o autólogo, que tenían al menos un factor de riesgo para la VOD: enfermedad hepática preexistente, segundo HSCT mieloablativo, HSCT alogénico para leucemia más allá de la segunda recaída, acondicionamiento con busulfán y melfalán, tratamiento previo con GO, y diagnósticos de MAS heredados, adrenoleucodistrofia u osteopetrosis.

Tratamiento

Para los pacientes que se asignaron aleatoriamente al brazo con defibrótido abierto, el fármaco del estudio se administró diariamente a 25 mg por kilogramo de peso corporal por día en cuatro infusiones intravenosas divididas.

5 La profilaxis con defibrótido comenzó el mismo día que el régimen de acondicionamiento previo al trasplante y se continuó hasta el Día+30 o, si se dio de alta del hospital antes del Día+30, durante un mínimo de 14 días. Los pacientes en el brazo de control no recibieron profilaxis contra la VOD.

No se permitió el tratamiento con t-PA sistémico, heparina de dosis terapéutica u otros antitrombóticos. Se permitió el Ursodiol.

Los pacientes en cualquiera de los brazos que desarrollaron VOD recibieron tratamiento con defibrótido a 25 mg por kilogramo por día hasta la resolución completa de todos los síntomas o la muerte.

10 Medición de Resultados

El parámetro primario fue la incidencia de VOD al Día+30. El investigador evaluó la VOD de acuerdo con los criterios de Seattle modificados, que se definen como la presencia de dos o más criterios: bilirrubina > 2 mg por decilitro (> 34 μ mol por litro), hepatomegalia, ascitis y/o ganancia de peso inexplicable > 5% al inicio del estudio (modificado desde > 2% de ganancia de peso en los criterios originales de Seattle²).

15 Los parámetros de laboratorio, incluida la bilirrubina, se midieron al inicio del estudio (antes del acondicionamiento) y al menos semanalmente después del trasplante. Todos los pacientes se sometieron a una ecografía abdominal al inicio y después del trasplante, cuando se sospechó clínicamente de VOD, para confirmar la presencia de hepatomegalia y ascitis. Los informes de ultrasonido enmascarados y los datos clínicos se enviaron al IRC para la adjudicación de casos sospechosos y diagnosticados de VOD. Las evaluaciones de IRC se usaron en el análisis de eficacia primaria.

20

Los parámetros de eficacia secundaria y exploratoria incluyeron:

(a) La incidencia y la gravedad de la GVHD (índice internacional del Registro de Trasplantes de Médula Ósea) al Día+100 y Día+180.

25 (b) La MOF y la mortalidad al Día+100; aunque este estudio no tuvo poder para evaluar la MOF o la mortalidad, estos parámetros se analizaron juntos usando un sistema de puntuación compuesto para la evaluación de la gravedad de la VOD. Este sistema asignó un punto por cada falla orgánica en pacientes con VOD: insuficiencia respiratoria (requerimiento de oxígeno y/o dependencia del ventilador), insuficiencia renal (la duplicación del nivel de creatinina de referencia y/o diálisis) y encefalopatía; se asignaron cinco puntos por muerte (independientemente de la causa de la muerte). A los pacientes sin VOD se les asignó cero. Cada componente de puntuación compuesto se analizó también individualmente.

30

(c) La incidencia de microangiopatía asociada a trasplante (TAM)³¹ al Día+180.

Los eventos adversos se registraron hasta el Día+180 y se codificaron usando los términos de MedDRA.

Análisis Estadístico

35 Se realizaron los análisis de acuerdo con lo especificado en el protocolo y el plan de análisis estadístico. El tamaño de la muestra se estimó en función del criterio de valoración principal (incidencia de VOD en el Día+30). Las tasas de VOD se estimaron en un 30% en el brazo de control y un 15% en el brazo con defibrótido.

40 Asumiendo un nivel de significancia de un lado a 0.025, potencia del 80% y una tasa de deserción del 10%, se requirieron 135 pacientes por brazo. Debido a que la incidencia de VOD en niños no estaba clara cuando se diseñó el estudio, el protocolo incorporó un análisis provisional adaptativo planificado, siguiendo el algoritmo de Denne, para que un DSMB independiente lo revisara cuando 120 pacientes por brazo alcanzaron el parámetro primario del Día+30. El DSMB recomendó aumentar el tamaño de la muestra a un total de 360 pacientes aleatoriamente.

45 Todos los análisis de datos se realizaron en la población por intención de tratar (ITT), que incluyó a todos los pacientes con consentimiento informado que se asignaron aleatoriamente en el estudio. Se realizó una comparación del brazo con defibrótido para el análisis de eficacia primaria usando un enfoque de riesgo acumulativo y competitivo de Kalbfleish y Prentice, como se discutió en *Tai et al.*, en donde, la muerte no se debió a la VOD, se consideraron riesgos competitivos, descontinuoando el estudio debido a un evento adverso y recibimiento de un segundo trasplante debido al fracaso del trasplante. Se realizó también un análisis de apoyo usando la prueba de log-rank con las estimaciones de Kaplan-Meier de la tasa de VOD, donde los pacientes que no experimentaron VOD se censuraron en el Día+30, al último seguimiento que se conocía, o en el momento del riesgo competitivo, lo que ocurriera antes.

50 Se planificó también un análisis secundario por protocolo (PP), excluyendo a pacientes con ITT que se retiraron prematuramente y pacientes con ITT con violaciones graves del protocolo.

Los análisis de eficacia secundarios sobre la incidencia y la gravedad de la GVHD se analizaron usando la prueba Z para proporciones y la prueba de suma de rangos de Wilcoxon de dos muestras, respectivamente. A los pacientes sin GVHD se les asignó un valor de gravedad de 0.

5 El análisis en la puntuación compuesta de VOD se realizó usando una prueba exacta de Wilcoxon con un nivel de significación de 5% a dos caras.

Cada componente de puntuación compuesto se analizó mediante la prueba de chi-cuadrado. Las distribuciones de Kaplan-Meier del tiempo hasta la muerte al Día+100 para cada brazo del estudio se compararon mediante la prueba de log-rank, donde se censuraron los pacientes supervivientes en el Día+100 o el último seguimiento que se conocía, lo que ocurriera antes.

10 La población de seguridad se definió para el brazo con defibrótido como todos los receptores de al menos una dosis del fármaco del estudio, y para el brazo de control como todos los pacientes que se asignaron. Los parámetros de seguridad se evaluaron mediante tablas de frecuencia para eventos adversos graves y no graves (AEs), pruebas de laboratorio y supervivencia hasta el Día+180, donde la supervivencia se define como el tiempo en días entre el HSCT y la muerte por cualquier causa.

15 Resultados

Características del Paciente

Entre enero de 2006 y enero de 2009, 360 pacientes se asignaron aleatoriamente al estudio en 28 centros en 11 países de Europa. En el brazo con defibrótido, se asignaron aleatoriamente 181 pacientes, uno de error (sin consentimiento), lo que resultó en 180 pacientes en la población ITT. En el brazo de control, se asignaron aleatoriamente 179 pacientes, tres de error (sin consentimiento), lo que resultó en 176 pacientes en la población ITT.

20 La edad promedio de la población que se estudió fue de 6,6 años. Los pacientes se distribuyeron uniformemente con respecto a la edad y el sexo en los brazos del estudio (Tabla 1). Las enfermedades primarias, el tipo de donante, el tipo de injerto y la incidencia de factores de riesgo para VOD fueron similares entre los brazos.

25 Los pacientes que se asignaron aleatoriamente al brazo con defibrótido recibieron el fármaco del estudio durante una duración promedio de 32,4 días (mediana, 35,0). Cuando se usó defibrótido para el tratamiento de la VOD, la duración promedio de la terapia fue de 28,7 días (mediana, 23,0) para el brazo con defibrótido y 21,7 días (mediana, 18,5) para el brazo de control. El número de pacientes que usaron ursodiol concomitante fue similar entre los brazos.

Incidencia de VOD

30 La incidencia de VOD se redujo en un 40% en el brazo con defibrótido en comparación con el brazo de control. El análisis de la población ITT mostró una incidencia significativamente menor de VOD al Día+30 en el brazo con defibrótido, en comparación con el brazo de control (incidencia acumulada, 12% frente a 20%, respectivamente, de acuerdo con los criterios de Seattle modificados; riesgo competitivo, $P = 0.05$; Kaplan-Meier, $P = 0.05$; Tabla 2). El análisis de la población PP mostró también resultados estadísticamente significativos (riesgo competitivo, $P = 0.02$; Kaplan-Meier, $P = 0.02$).

35 Para explorar la consistencia de los resultados a través de diferentes criterios, se realizó un análisis de subconjunto adicional aplicando los criterios de Baltimore, donde se requiere bilirrubina > 2 mg por decilitro (> 34 μ mol por litro) para el diagnóstico de VOD, con dos de los otros tres criterios, hepatomegalia, ascitis o ganancia de peso $> 5\%$. Identificamos menos casos de VOD con los criterios de Baltimore (7% en el brazo con defibrótido, 13% en el brazo de control; $P = 0,09$; Tabla 2). Si bien no son significativos, estos datos son consistentes con la reducción del 40% en VOD que se observa con los criterios de Seattle modificados.

Efecto del defibrótido en la GVHD

45 Los pacientes que recibieron profilaxis con defibrótido experimentaron una incidencia y gravedad significativamente más bajas de aGVHD al Día+100. En los receptores de HSCT alogénicos de la población ITT, la incidencia y la gravedad (grados 1 a 4) de aGVHD fueron significativamente menores en el brazo con defibrótido que en el brazo de control ($P = 0,005$ y $P = 0,003$, respectivamente), incluso cuando se excluyó el grado 1 de aGVHD (Tabla 3). No hubo diferencia en la incidencia de GVHD crónica (cGVHD) al Día+180 entre los brazos del estudio.

50 A pesar de sus efectos protectores contra la aGVHD, el defibrótido no interfirió con el efecto deseable de injerto contra leucemia. Las tasas combinadas de recaída del Día+100 de leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, otras leucemias y síndromes mielodisplásicos fueron del 6% para el brazo con defibrótido frente al 8% para el brazo de control, y las tasas combinadas de recaída del Día+180 fueron del 7% y 10%, respectivamente.

MOF asociado a VOD y muerte

Para evaluar los efectos del defibrótido en la gravedad de la VOD, se usó un sistema de puntuación compuesto pre-especificado para cuantificar el MOF asociado a VOD y la muerte hasta el Día+100.

- En general, el brazo con defibrótido tuvo menos fallas y muertes asociadas a VOD, lo que resultó en una reducción estadísticamente significativa de las puntuaciones (prueba de Wilcoxon, $P = 0.03$) en la población ITT (Tabla 4). Específicamente, el brazo con defibrótido mostró una incidencia más baja estadísticamente significativa de insuficiencia renal en comparación con el grupo de control (1% frente a 6%; $P = 0,02$). El MOV asociado a VOD severo al Día+100 fue significativamente mayor en los pacientes que cumplieron con los criterios de Baltimore (60% frente a 32%; prueba de chi cuadrado, $P = 0,04$).
- La mortalidad asociada a la VOD en el Día+100 fue menor en el brazo con defibrótido que en el brazo de control (2% y 6%, respectivamente), pero estos resultados no fueron estadísticamente significativos (Tabla 4). La mortalidad general fue similar en los dos brazos cuando se evaluó en el Día+100 y el Día+180.
- La mortalidad fue significativamente mayor en los pacientes con VOD en el Día+100 que en los que no tenían VOD (25% frente a 6%, respectivamente; $P < 0.0001$).
- En general, la mayoría de los EA fatales se encontraban en las categorías "Neoplasias malignas y no especificadas" (7% y 8% en los brazos de control y con defibrótido, respectivamente) e "Infecciones e infestaciones" (3% y 6%, respectivamente).
- TAM**
- No hubo diferencia en las incidencias de TAM (3% y 4% en los brazos con defibrótido y control, respectivamente) al Día+180.
- Seguridad**
- La población de seguridad incluyó 177 pacientes del brazo con defibrótido y los 176 pacientes en el brazo de control. Las incidencias de EA (Tabla 5) y de eventos adversos graves (EAG) y eventos que llevaron a la interrupción del estudio fueron similares entre los grupos. Se informó un total de 207 EAG en 108 pacientes que se asignaron al brazo con defibrótido y se informaron 231 en 103 pacientes de control. Aunque el EA más común que el investigador considera como posible, probable o que se relaciona ciertamente con el defibrótido fue la hemorragia, la incidencia de hemorragia fue similar entre los brazos.
- Discusión**
- Aunque el HSCT ofrece la única cura disponible para muchas enfermedades, el procedimiento se mantiene limitado por las toxicidades que se relacionan con el régimen, incluida la GDV y la VOD hepática. De hecho, nuestros resultados muestran una tasa de mortalidad casi cuatro veces mayor en pacientes con VOD en comparación con pacientes sin VOD, y confirman observaciones previas.
- En este estudio, el defibrótido profiláctico redujo la incidencia y la gravedad de la aGVHD. El daño a las células endoteliales de la piel, el tracto gastrointestinal y el hígado de los regímenes de acondicionamiento contribuye a la aparición de aGVHD. El efecto antiinflamatorio y protector del defibrótido en las células endoteliales y la regulación negativa de la expresión del gen de la heparanasa podrían explicar estos resultados, que parecen ser muy consistentes con el mecanismo de acción propuesto del defibrótido.
- En general, se toleró bien el defibrótido. Las hemorragias ocurrieron con una frecuencia similar en ambos brazos del estudio, lo que sugiere fuertemente que estos eventos se relacionan más probablemente con SCT y VOD que con la administración de defibrótido.
- El objeto de la presente invención es, por lo tanto, defibrótido para su uso en profilaxis y/o tratamiento de la Enfermedad de Injerto contra huésped (GVHD) en humanos, preferiblemente en trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), más preferiblemente trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas. La enfermedad de Injerto contra huésped de la invención (GVHD) puede ser aguda aGVHD y/o crónica cGVHD, preferiblemente aguda.
- El defibrótido de acuerdo con la invención se puede administrar antes y/o después del trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), preferiblemente antes y/o después del trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas.
- El defibrótido de acuerdo con la invención se administra preferiblemente en una dosis que varía de 10 a 60 mg/kg por día, preferiblemente en una dosis que varía de 20 a 40 mg/kg por día y más preferiblemente en una dosis de aproximadamente 25 mg/kg por día; El kg se refiere al peso corporal del paciente.
- De acuerdo con la invención, el defibrótido se puede administrar en una dosis única o repetida por día, preferiblemente en cuatro (4) dosis por día. De acuerdo con la invención, el defibrótido se administra preferiblemente por vía intravenosa, más preferiblemente se formula en forma de solución acuosa.

Tabla 1. Datos demográficos de línea base de los participantes del estudio

Variable		Brazo con Defibrótido (N=180)	Brazo de Control (N=176)	
Edad – años	Promedio (DE)	6,5 (5,2)	6,7(5,4)	
	Mediana	5,1	4,6	
	Rango	< 1 - 18	< 1 - 18	
Categoría de edad – No. (%)	Bebés y Lactantes (28 días a 2 años)	46 (26)	41 (23)	
	Niños (> 2 y ≤ 11 años)	91 (51)	95 (54)	
	Adolescentes (>11 años)	43 (24)	40 (23)	
Género femenino – No. (%)	Mujer	70 (39)	75 (43)	
Enfermedad primaria – No. (%)	Neuroblastoma	34 (19)	33 (19)	
	Leucemia mielógena aguda	31 (17)	42 (24)	
	Leucemia linfoblástica aguda	26 (14)	22 (13)	
	Otra leucemia	8 (4)	5 (3)	
	Síndrome mielodisplásico	20 (11)	11 (6)	
	Linfohistiocitosis hemofagocítica familiar	6 (3)	12 (7)	
	Otros MAS hereditarios	4 (2)	3 (2)	
	Sarcoma de tejidos blandos	9 (5)	8 (5)	
	Osteopetrosis*	7 (4)	6 (3)	
	Adrenoleucodistrofia	1 (1)	1 (1)	
	Otro	34 (19)	33 (19)	
	Tipo de donante – No. (%)†	Donante relacionado compatible	35 (19)	25 (14)
		Donante no relacionado compatible	55 (31)	61 (35)
Donante relacionado incompatible		14 (8)	10 (6)	
Donante no relacionado incompatible		18 (10)	21 (12)	
HSCT Autólogo		53 (29)	55 (31)	
Tipo de injerto – No. (%)†	Médula ósea	79 (44)	81 (46)	
	Células madre de sangre periférica	74 (41)	77 (44)	
	Sangre del cordón umbilical	16 (9)	10 (6)	
	Células madre reducidas en células T	6 (3)	4 (2)	
Inmunosupresión – No. (%)	ATG-Caballo	2 (1)	2 (1)	

ES 2 694 239 T3

	ATG-Conejo	65 (36)	80 (45)
	Campath (alemtuzumab)	9 (5)	5 (3)
	Ciclosporina A	100 (56)	104 (59)
	Metotrexato	56 (31)	65 (37)
	OKT-3	11 (6)	7 (4)
	Otro‡	31 (17)	28 (6)
<hr/>			
Agente acondicionante – No. (%)	Busulfán IV	80 (44)	81 (46)
	Busulfán PO	46 (26)	44 (25)
	Melfalán	126 (70)	114 (65)
	Ciclofosfamida	84 (47)	80 (45)
	Etoposida	22 (12)	25 (14)
	Irradiación Corporal Total	17 (9)	18 (10)
	Fludarabina	34 (19)	40 (23)
	Treosulfán	13 (7)	13 (7)
	Otros§	34 (19)	31 (18)
Criterios de VOD de alto riesgo – No. (%)	Segundo trasplante mieloablativo	25 (14)	23 (13)
	HSCT alogénico para leucemia	17 (9)	11 (6)
	Enfermedad hepática pre-existente	41 (23)	54 (31)
	Irradiación abdominal previa	9 (5)	8 (5)
	Tratamiento previo con gemtuzumab	11 (6)	5 (3)
	Acondicionamiento con busulfán y melfalán	106 (59)	99 (56)
	Osteopetrosis	7 (4)	6 (3)
	MAS hereditaria	10 (6)	15 (9)
	Adrenoleucodistrofia	1 (1)	1 (1)

ATG denota globulina antitimocítica, HSCT trasplante de células madre hematopoyéticas, MAS síndromes de activación de macrófagos.

*La osteopetrosis fue un factor de estratificación.

†Cinco pacientes (3%) en el brazo con defibrótido y 4 pacientes (2%) en el brazo de control no tenían datos de trasplante (no procedieron al trasplante mieloablativo ni se retiraron del acondicionamiento antes del trasplante).

‡Otros inmunosupresores: micofenolato mofetilo, tacrolimo sirolimo, globulina antilinfocítica, prednisona / esteroides, m-PDN y rituximab.

§ Otros agentes acondicionadores: tiotepa, alemtuzumab, radioinmuno anticuerpo m, carboplatino, rituximab, ATG, clofarabina, Endoxan, dexametasona, amsacrina, aracitabina, muromonab C y BCNU.

Tabla 2. Incidencia de Enfermedad Veno-Oclusiva (VOD) hasta el Día+30 post Trasplante de Células Madre Hematopoyéticas (HSCT).

Diagnóstico de VOD		Brazo con Defibrótido	Brazo de Control	Valor P
VOD al Día+30 / IRC (ITT)*	VOD diagnosticado – No./N (%)	22/180 (12)	35/176 (20)	
	Riesgo competitivo – % (95% CI)†	13 (8,19)	20 (15,27)	0.05
	Kaplan-Meier – % (95% CI)	13 (9,19)	20 (15,27)	0.05‡
VOD al Día+30 / IRC (PP) §	VOD diagnosticado – No./N (%)	18/159 (11)	34/166 (20)	
	Riesgo competitivo – % (95% CI)†	11 (7,17)	20 (15,28)	0.02
	Kaplan-Meier – % (95% CI)	11 (7,18)	21 (15,28)	0.02‡
VOD en pacientes con Osteopetrosis No./N (%)¶		1/7 (14)	4/6 (67)	
VOD por tipo de donante – No. (%)*	HSCT Alogénico	15 (8)	25 (14)	
	HSCT Autólogo	7 (4)	10 (6)	
Crterios de diagnóstico de VOD cumplidos - No. (%)*	Ganancia de peso >5%	19 (11)	30 (17)	
	Ascitis	17 (9)	26 (15)	
	Hepatomegalia	19 (11)	30 (17)	
	Bilirrubina aumentada	13 (7)	22 (13)	0.09
VOD por distribución de Edad No./N (%)	Bebés	9/46 (20)	11/41 (27)	
	Niños	10/91 (11)	16/95 (17)	
	Adolescentes	3/43 (7)	8/40 (20)	

* Población por intención de tratar (ITT), N = 180 brazo con defibrótido y N = 176 brazo de control.

† Intervalo de confianza (CI) por transformación.

‡ Valor de P de la prueba de log-rank (del estimador de Kaplan-Meier).

§ Por población de protocolo (PP), N = 159 brazo con defibrótido y N = 166 brazo de control.

¶ N denota el número de pacientes con osteopetrosis; N = 7 brazo con defibrótido y N = 6 brazo de control.

Tabla 3. Incidencia de enfermedad de Injerto contra Huésped aguda y crónica (GVHD) en pacientes con Trasplante de Células Madre Hematopoyéticas Alogénicas (HSCT). *

Clasificación GVHD	Brazo con Defibrótido (N=122) No. (%)	Brazo de Control (N=117) No. (%)	Valor P
GVHD aguda al Día+100	57 (47)	76 (65)	0.005†
Severidad de la GVHD aguda			

Grado 1	30 (25)	33 (28)	
Grado 2	18 (15)	30 (26)	
Grado 3	5 (4)	9 (8)	0.003‡
Grado 4	4 (3)	4 (3)	
Grados 2 a 4¶	27 (22)	43 (37)	0.01†
GVHD crónica al Día+180	16 (13)	17 (15)	0.8§

* En la población ITT de todos los pacientes (pacientes con HSCT alogénicos y autólogos), la GVHD aguda estuvo presente en el 32% (57/180) de los pacientes en el brazo con defibrótido y el 43% (76/176) de los pacientes en el brazo de control; P = 0.03.

† Valor de P de la prueba de chi cuadrado para la incidencia de GVHD al Día+100.

‡ Valor de P de la prueba de Wilcoxon para la calificación de GVHD al Día+100.

§ Valor de P de la prueba de chi-cuadrado para la incidencia de GVHD al Día+180.

¶ En un subconjunto de GVHD aguda de grado 2 a 4 (excluyendo los casos leves de grado 1), la incidencia fue P = 0.01 y la severidad fue P = 0.02 entre los dos brazos.

Tabla 4. Enfermedad Venó-Oclusiva (VOD) asociada a Falla Orgánica Múltiple y Muerte hasta el Día+100. *

Evento	Brazo con Defibrótido	Brazo de Control
	(N=180) No. (%)	(N=176) No. (%)
Falla respiratoria	11 (6)	15 (9)
Falla renal	2 (1)	10 (6)
Encefalopatía	1 (1)	3 (2)
Mortalidad	4 (2)	10 (6)
Sin falla orgánica o mortalidad	169 (94)	159 (90)

* Puntuación compuesta en pacientes con VOD: 1 punto por cada falla orgánica; 5 puntos por mortalidad. Prueba de Wilcoxon para la falla orgánica múltiple asociada a VOD y muerte en todos los pacientes en el Día+100: brazo con defibrótido frente a brazo de control, P = 0,03. Prueba de Wilcoxon para la falla orgánica múltiple asociada a VOD y la muerte en pacientes con VOD en el Día+30: brazo con defibrótido frente a brazo de control, P = 0,2.

Tabla 5. Pacientes con eventos adversos relacionados con el fármaco de acuerdo con el brazo de tratamiento por clase de órganos del sistema y término preferido. *

Clase de Órganos del Sistema / Anormalidad	Brazo con Defibrótido	Brazo de Control†
	(N=177) No. (%)	(N=176) No. (%)
Desórdenes del sistema circulatorio y linfático		
Coagulopatía	0 (0)	1 (1)
Desórdenes gastrointestinales		

Hemorragia gastrointestinal	2 (1)	3 (2)
Dolor abdominal	1 (1)	0 (0)
Diarrea hemorrágica	1 (1)	0 (0)
Hematemesis	1 (1)	0 (0)
Hemorragia Bucal	1 (1)	0 (0)
Náuseas	1 (1)	0 (0)
Hemorragia gastrointestinal superior	0 (0)	1 (1)
Vómito	1 (1)	0 (0)
<hr/>		
Investigaciones		
Tiempo de trompoblastina parcial activada prolongado	0 (0)	2 (1)
Tiempo de protrombina prolongado	1 (1)	1 (1)
<hr/>		
Desórdenes respiratorios, torácicos y mediastínicos		
Epistaxis	2 (1)	1 (1)
<hr/>		
Clase de Órganos del Sistema / Anormalidad	Brazo con Defibrótido (N=177) No. (%)	Brazo de Control† (N=176) No. (%)
<hr/>		
Hemotórax	1 (1)	1 (1)
Hemorragia pulmonar	0 (0)	1 (1)
<hr/>		
Desórdenes vasculares		
Hemorragia	1 (1)	1 (1)
Microangiopatía	0 (0)	1 (1)
<hr/>		
* Los eventos adversos relacionados son aquellos que el investigador clasifica como posibles, probables o que se relacionan ciertamente con el fármaco del estudio.		
† Eventos adversos informados después de un diagnóstico de enfermedad veno-oclusiva (VOD); Defibrótido que se recibe como tratamiento para la VOD.		

Referencias

1. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. N Engl J Med 2006;354(17):1813-26.
2. James L.M. Ferrara, M.D.a,* , John E. Levine, M.D.b, Pavan Reddy, M.D.c, and Ernst Holler, M.D.d Graft-versus-Host Disease. Lancet. 2009 May 2; 373(9674): 1550-1561
3. Stephanie J. Lee and Mary E. D. Flowers. Recognizing and Managing Chronic Graft-Versus-Host Disease Hematology 2008: 134-41
4. McDonald GB, Sharma P, Matthews DE, Shulman HM, Thomas ED. Venocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. Hepatology 1984;4(1):116-22.
5. McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD, et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. Ann Intern Med 1993;118(4):255-67.

6. Coppel JA, Richardson PG, Soiffer R, et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16(2):157-68.
7. Eissner G, Multhoff G, Gerbitz A, et al. Fludarabine induces apoptosis, activation, and allogenicity in human endothelial and epithelial cells: protective effect of defibrotide. *Blood* 2002;100(1):334-40.
- 5 8. Mitsiades CS, Rouleau C, Echart C, et al. Preclinical studies in support of defibrotide for the treatment of multiple myeloma and other neoplasias. *Clin Cancer Res* 2009;15(4):1210-21.
9. Ostrovsky O, Shimoni A, Rand A, Vlodaysky I, Nagler A. Genetic variations in the heparanase gene (HPSE) associate with increased risk of GVHD following allogeneic stem cell transplantation: effect of discrepancy between recipients and donors. *Blood* 2010;115(11):2319-28.
- 10 21. Echart C, Graziadio B, Somaini S, et al. The fibrinolytic mechanism of defibrotide: effect of defibrotide on plasmin activity. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009;20(8):627-34.
22. Falanga A, Vignoli A, Marchetti M, Barbui T. Defibrotide reduces procoagulant activity and increases fibrinolytic properties of endothelial cells. *Leukemia* 2003;17(8):1636-42.
- 15 30. Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP, et al. IBMTR severity index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade *Br J Haematol* 1997 97(4):855 - 64.
31. Ruutu T, Barosi G, Benjamin R, et al. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* 2007;Jan(92(1)):95-100.
35. Denne JS. Sample size recalculation using conditional power. *Stat Med* 2001;20(17-18):2645-60.
- 20 36. Tai BC, Machin D, White I, GebSKI V. Competing risks analysis of patients with osteosarcoma: a comparison of four different approaches. *Stat Med* 2001;20(5):661-84.
39. Ertault-Daneshpouy M, Leboeuf C, Lemann M, et al. Pericapillary hemorrhage as criterion of severe human digestive graft-versus-host disease. *Blood* 2004;103(12):4681-4.

REIVINDICACIONES

1. Defibrótido para su uso en profilaxis y/o tratamiento de la Enfermedad de Injerto contra Huésped (GVHD) en humanos.
- 5 2. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha Enfermedad de Injerto contra Huésped es aguda o crónica, preferiblemente aguda.
3. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se administra antes y/o después del trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT).
4. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado porque dicho trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) es un trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas.
- 10 5. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se administra en una dosis que varía de 10 a 60 mg/kg por día, preferiblemente de 20 a 40 mg/kg por día.
6. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque se administra en una dosis de aproximadamente 25 mg/kg por día.
- 15 7. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se administra en una dosis única o repetida por día, preferiblemente en cuatro (4) dosis por día.
8. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se administra por vía intravenosa.
9. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se administra en forma acuosa.
- 20 10. Defibrótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se obtiene mediante extracción de tejido animal y/o vegetal, preferiblemente de órganos.