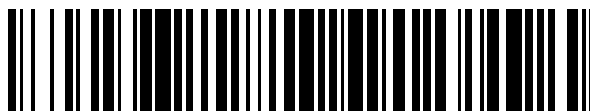


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 911**

51 Int. Cl.:

A61K 38/25 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2015 PCT/US2015/014692**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2015 WO15120203**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2015 E 15708057 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018 EP 3102226**

54 Título: **Ghrelina para uso en el tratamiento de lesión cerebral traumática leve**

30 Prioridad:

05.02.2014 US 201461936143 P
15.09.2014 US 201414486636

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.05.2019

73 Titular/es:

THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (100.0%)
1111 Franklin Street, 5th Floor
Oakland, CA 94607-5200, US

72 Inventor/es:

BANSAL, VISHAL

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 714 911 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

Ghrelina para uso en el tratamiento de lesión cerebral traumática leve

Campo de la invención

5 Esta descripción proporciona métodos para tratar lesiones cerebrales leves y otros trastornos neurológicos que surgen a partir de dichas lesiones en un sujeto mediante la administración al sujeto de una cantidad efectiva de una composición que comprende ghrelina.

Antecedentes de la invención

10 La ghrelina, un péptido de 28 aminoácidos secretado predominantemente por la mucosa gástrica, es una hormona neuroendocrina que actúa como ligando endógeno para el receptor secretagogo de la hormona de crecimiento. Más allá de los efectos conocidos sobre la regulación del hambre, la ghrelina es conocida por poseer unas potentes propiedades anti-inflamatorias y se ha demostrado que es protectora en varios modelos de lesión neuronal grave.

15 El edema producido por una lesión cerebral traumática (es decir, TBI, del inglés "traumatic brain injury") y las complicaciones asociadas al aumento de la presión intracraneal (ICP, del inglés "intracranial pressure") son responsables de aproximadamente el 50% de las muertes en pacientes hospitalizados. La gestión médica de la hipertensión intracraneal utiliza una estrategia que combina agentes de sedación y osmóticos tales como el manitol y el salino hipertónico. Sabiendo que la ghrelina posee unos potentes efectos anti-inflamatorios, nosotros hemos demostrado que la ghrelina evita la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BBB, del inglés "blood brain barrier"), la disfunción intestinal y la inflamación sistémica que acompañan a la TBI. El mecanismo de las anteriores observaciones no está claro, pero puede que, al menos en parte, sea el resultado de una reducción de la transcripción de citocinas inflamatorias y de los efectos de cascada final que incluyen una reducción de la apoptosis, y de las filtraciones de la barrera hematoencefálica. Animales con TBI tratados con ghrelina presentaron una reducción significativa de la fluorescencia cerebral, que se correlaciona con una reducción de la permeabilidad vascular de la BBB. Hemos demostrado que la ghrelina previene la regulación al alza post-TBI de la Acuaporina 4 (AQP-4). Estudios previos han demostrado que una expresión reducida de AQP-4 se asocia a la prevención de la ruptura de la BBB y del edema cerebral.

20

25

Las lesiones cerebrales leves (mBI, del inglés "mild brain injuries"), típicamente incluyen traumatismos craneoencefálicos, que te dejen "sonado", y similares, describen una agresión al cerebro que, a su vez, puede producir una lesión a largo plazo en el cerebro. Hasta la fecha, ha habido pocos o ningún tratamiento creíble para dichas lesiones cerebrales leves (mBI). Por tanto, existe una significativa necesidad no satisfecha de una terapia para tratar la mBI que no suponga costes y retrasos no deseados y que sea efectiva.

30

Sumario

Esta descripción proporciona métodos para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto que presenta dicha lesión, que comprende la administración al sujeto de una cantidad efectiva de ghrelina o de agonista de ghrelina, tratando con ella la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación de la forma natural de una secuencia de aminoácido de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 1). En algunos casos, la serina de la posición de aminoácido 2 y/o la serina de la posición de aminoácido 3 está(n) acilada(s) con un grupo octanoilo (-C(O)(CH₂)₆CH₃). Los aminoácidos de las posiciones 1 a 5 de la SEQ ID NO. 1 de la ghrelina o del agonista de ghrelina pueden presentar una modificación. En algunas realizaciones, la ghrelina aumenta la expresión de proteína desacoplante 2 (UCP-2). En algunas realizaciones, la ghrelina aumenta la expresión de UCP-2 en las mitocondrias. La cantidad administrada según los métodos de la presente memoria, puede ser, por ejemplo, una dosis de 2 µg/kg por dosis y/o por día. En una realización de la invención, la ghrelina es des-acil-ghrelina o ghrelina sin modificación de la secuencia de aminoácidos primaria, tal como se proporciona en la SEQ ID NO. 1. En otra realización, la ghrelina se une a un receptor que no es GHSR-1a o receptor de ghrelina, y en donde la unión a un receptor que no es GHSR-1a o receptor de ghrelina proporciona un beneficio terapéutico, tal como la neuroprotección tras una mBI o mBI repetida, puede incluir una reducción del estrés oxidativo o una reducción de la apoptosis.

35

40

45

En algunas realizaciones, la lesión cerebral leve comprende un traumatismo craneoencefálico. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto es un humano. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo no superior a aproximadamente a 8, 24 o 72 horas desde la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo no superior a aproximadamente 24 horas desde la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo de aproximadamente 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 1, 2, 3, 6, 8, 12, 18, 24, 36, 48 o 72 horas tras la mBI.

50

Esta descripción proporciona métodos para reducir la incidencia o la gravedad de la mBI en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de ghrelina, reduciendo con ello la incidencia o la gravedad de la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra antes de un evento o actividad con una potencial aparición de mBI.

55

Esta descripción proporciona métodos para reducir la cantidad de tiempo requerida para recuperarse de una lesión cerebral leve, que comprende la administración a un paciente que padece de una lesión cerebral leve de una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en un plazo de 72 horas desde la lesión cerebral leve. En alguna realización, la ghrelina se administra en una dosis individual. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis entre 10 ng/kg por día y 10 mg/kg por día.

Adicionalmente, la ghrelina se puede usar en un ensayo para determinar la capacidad de compuestos candidatos para efectuar un aumento de la expresión de proteína desacoplante 2 (UCP-2) que incluye aumentar la expresión de UCP-2 en mitocondrias. En dichos ensayos, se usa la ghrelina como control para determinar la eficacia relativa del compuesto o compuestos candidatos. Los ensayos adecuados incluyen, meramente a modo de ejemplo, ensayos competitivos de unión de un compuesto o compuestos candidatos a receptor 1a secretagogo de hormona del crecimiento (es decir, GHSR) en presencia de ghrelina y utilizando cromatografía de afinidad frontal.

En otra realización adicional, un paciente que padece pérdida cognitiva o de habilidades motoras debido a una mBI y, en particular, a mBI repetitiva, puede ser monitorizado para determinar la terapia y la progresión de dichas habilidades a través de la correlación del nivel de ghrelina en el cerebro del paciente con el tiempo. Según disminuyen los niveles de ghrelina, se producirá un incremento de la necesidad de intervención. Esta invención también proporciona métodos para medir los niveles de ghrelina antes de una actividad, por ejemplo, antes de iniciar una temporada de fútbol americano, fútbol, rugby o cualquier otro deporte o actividad, y realizar una monitorización durante la temporada para determinar si el jugador se encuentra en un nivel no cualificado para jugar o participar utilizando un test o ensayo de medición de los niveles de ghrelina, tal como un test o ensayo para determinar los niveles en la sangre.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar a un sujeto que padece desequilibrios metabólicos asociados a mBI o a un traumatismo craneoencefálico, en donde dicho método comprende la administración de una cantidad efectiva de ghrelina al sujeto, tratando de este modo al sujeto que padece desequilibrio metabólico asociado a mBI o traumatismo craneoencefálico.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar a un sujeto que padece de niveles elevados de especies oxidativas reactivas (ROS, del inglés "reactive oxidative species") en neuronas asociado a mBI o traumatismo craneoencefálico, en donde dicho método comprende la administración de una cantidad efectiva de ghrelina al sujeto de tal modo que se reduzcan los niveles de ROS en neuronas asociados a mBI o a traumatismo craneoencefálico, tratando de este modo al sujeto que padece desequilibrios metabólicos asociados a mBI o a un traumatismo craneoencefálico.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir la encefalopatía traumática crónica (CTE) asociada a mBI o traumatismos craneoencefálicos repetidos en un sujeto, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto, previniendo de este modo la encefalopatía traumática crónica (CTE) asociada a mBI o traumatismos craneoencefálicos repetidos en un sujeto.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir el daño neuronal asociado a estrés oxidativo y a la sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto, previniendo con ello el daño neuronal asociado al estrés oxidativo y a la sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar conexiones neuronales o axonales dañadas o rotas en el cerebro de un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto, tratando de este modo la conexión neuronal o axonal dañada o rota en el cerebro de un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la conexión neuronal o axonal dañada o rota es una rotura mecánica del citoesqueleto neuronal o axonal. En otra realización, la conexión neuronal o axonal dañada o rota es un transporte neuronal o axonal dañado o alterado. En otra realización, la conexión neuronal o axonal dañada o rota es proteólisis, desconexión degenerativa y reorganización. En una realización, el tratamiento de una conexión neuronal o axonal dañada o rota en el cerebro de un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos, restaura la conexión neuronal o axonal en el cerebro de un sujeto después de una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, el tratamiento de una conexión neuronal o axonal dañada o rota en el cerebro de un sujeto con una o más incidencias de mBI o de traumatismos craneoencefálicos acelera la restauración de la conexión neuronal o axonal en el cerebro de un sujeto después de una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir o disminuir la aparición de una conexión neuronal o axonal dañada o rota en el cerebro de un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto, reduciendo o previniendo o disminuyendo de este modo la aparición de una conexión neuronal o axonal dañada o rota en el cerebro de un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la conexión neuronal o axonal dañada o rota es una rotura mecánica del citoesqueleto neuronal o axonal. En otra realización, la conexión neuronal o axonal dañada o rota es un transporte

neuronal o axonal dañado o alterado. En otra realización, la conexión neuronal o axonal dañada o rota es proteólisis, desconexión degenerativa y reorganización. En una realización, se administra ghrelina antes de la aparición de una o más incidencias de mBI, que incluyen traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administra ghrelina inmediatamente después de la aparición de una mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administra ghrelina antes y después de la aparición de una o más mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran dosis múltiples de ghrelina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar una perturbación de la fisiología cerebral en un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto, de tal modo que se restaure la despolarización neuronal normal, tratando de este modo la perturbación de la fisiología cerebral en un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluyen traumatismos craneoencefálicos. En una realización, el tratamiento de una fisiología cerebral perturbada con ghrelina restaura la fisiología cerebral normal. En otra realización, el tratamiento de una perturbación de la fisiología cerebral con ghrelina acelera la restauración de la fisiología cerebral normal.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluyen traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se mantenga una despolarización neuronal normal, reduciendo o previniendo de este modo una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI, que incluyen traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la ghrelina se administra antes de la aparición de una o más incidencias de mBI, que incluyen traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra inmediatamente después de la aparición de una mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra antes y después de la aparición de una o más mBI, que incluye traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran dosis múltiples de ghrelina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se restaure la liberación normal de neurotransmisores excitadores, tratando con ello la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina restaura la fisiología cerebral normal. En otra realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina acelera la restauración de la fisiología cerebral normal.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se mantiene la liberación normal de neurotransmisores excitadores, reduciendo o previniendo de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la ghrelina se administra antes de la aparición de una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra inmediatamente después de la aparición de una mBI o traumatismo craneoencefálico. En otra realización, la ghrelina se administra antes y después de la aparición de una o más mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran múltiples dosis de ghrelina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se restaura el flujo sanguíneo cerebral normal, tratando de este modo una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, el tratamiento de una fisiología cerebral perturbada con ghrelina restaura la fisiología cerebral normal. En otra realización, el tratamiento de una fisiología cerebral perturbada con ghrelina acelera la restauración de una fisiología cerebral normal.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se mantiene un flujo sanguíneo cerebral normal, reduciendo o previniendo de este modo una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la ghrelina se administra antes de la aparición de una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra inmediatamente después de la aparición de una mBI o traumatismo craneoencefálico. En otra realización, la ghrelina se administra antes y después de la aparición de una o más mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran múltiples dosis de ghrelina.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se restaura una función axonal apropiada o normal, tratando de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina

restaura la fisiología cerebral normal. En otra realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina acelera la restauración de la fisiología cerebral normal.

5 En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se mantiene una función axonal apropiada o normal, reduciendo o previniendo de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la ghrelina se administra antes de la aparición de una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra inmediatamente después de la aparición de una mBI o traumatismo craneoencefálico. En otra realización, la ghrelina se administra antes y después de la aparición de una o más mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran múltiples dosis de ghrelina.

10 En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se restaura la función metabólica cerebral, tratando de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina restaura la fisiología cerebral normal. En otra realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina acelera la restauración de la fisiología cerebral normal.

15 En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se mantiene la función o el equilibrio metabólico cerebral, reduciendo o previniendo de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la ghrelina se administra antes de la aparición de una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra inmediatamente después de la aparición de una mBI o traumatismo craneoencefálico. En otra realización, la ghrelina se administra antes y después de la aparición de una o más mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran dosis múltiples de ghrelina.

20 En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para tratar una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se restaura el metabolismo de glucosa, tratando de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina restaura la fisiología cerebral normal. En otra realización, el tratamiento de la fisiología cerebral perturbada con ghrelina acelera la restauración de la fisiología cerebral normal.

25 En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir una fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos, en donde dicho método comprende la administración de una o más dosis de ghrelina al sujeto de tal modo que se mantiene el metabolismo de glucosa, reduciendo o previniendo de este modo la fisiología cerebral perturbada en un sujeto con una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En una realización, la ghrelina se administra antes de la aparición de una o más incidencias de mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, la ghrelina se administra inmediatamente después de la aparición de una mBI o traumatismo craneoencefálico. En otra realización, la ghrelina se administra antes y después de la aparición de una o más mBI o traumatismos craneoencefálicos. En otra realización, se administran dosis múltiples de ghrelina.

30 En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona un método para prevenir pérdida de memoria y dolores de cabeza en un sujeto con mBI o traumatismo craneoencefálico, en donde dicho método comprende la administración de una cantidad efectiva de ghrelina al sujeto en una o más dosis, previniendo de este modo la pérdida de memoria y/o los dolores de cabeza en un sujeto con mBI o traumatismo craneoencefálico.

35 Algunas realizaciones se refieren a formulaciones para la administración a un sujeto, formulaciones que pueden incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable y ghrelina que tenga un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde dicha formulación es adecuada para la administración de una cantidad efectiva de ghrelina al cerebro de dicho paciente de tal modo que se tratan las lesiones cerebrales leves. Por ejemplo, cualquiera de los métodos descritos anteriormente y en cualquier otra parte de la presente memoria puede utilizar una molécula de ghrelina que tiene un contenido de C14 inferior a 1 ppt.

40 Algunas realizaciones se refieren a métodos de monitorización de una lesión cerebral leve, la gravedad de una lesión y/o la recuperación de dicha lesión. Los métodos pueden incluir, por ejemplo, la administración de un compuesto de ghrelina purificado, que incluye por ejemplo, ghrelina con un contenido de C14 inferior a 1 ppt, en una composición farmacéuticamente aceptable a un sujeto que ha sufrido una lesión cerebral leve.

Algunas realizaciones se refieren a métodos de tratamiento de lesión cerebral leve, que reducen la incidencia o la gravedad de la mBI en un sujeto, y/o reducen la cantidad de tiempo necesaria para recuperarse de una lesión cerebral leve. Los métodos incluyen proporcionar o administrar a un sujeto que lo necesite (p.ej., un sujeto que ha padecido, está en riesgo de padecer, es propenso a padecer, y/o está a punto de participar en una actividad con un elevado riesgo de padecer, una mBI) una cantidad de ghrelina (que incluye ghrelina con un contenido de C14 inferior a 1 ppt) suficiente para proporcionar un nivel *in vivo* de ghrelina terapéuticamente efectivo para tratar o reducir según el método, en donde el nivel es superior al nivel endógeno de ghrelina del sujeto. Por ejemplo, la cantidad de ghrelina administrada puede ser una cantidad suficiente para proporcionar un nivel en sangre de ghrelina que es superior al nivel endógeno en sangre de ghrelina habitual o medio, tal como 1,5, 2, 3, 5, 10, 20, 50, 100, 1.000 o hasta 2.000 veces el nivel endógeno en sangre normal (o cualquier sub valor o sub rango entre medias). En algún caso, la cantidad administrada puede dar como resultado una concentración en sangre o plasma de al menos 55 picogramos por mililitro. En algunas realizaciones, los niveles más altos de ghrelina se pueden alcanzar en un plazo de horas desde la lesión (p.ej., en menos de 8 horas desde la lesión). También se pueden mantener por encima de los niveles endógenos durante un periodo de tiempo que es suficiente para proporcionar el beneficio terapéutico deseado, por ejemplo, durante al menos 30 minutos hasta 24 horas (o cualquier sub valor o sub rango entre medias). Los niveles de ghrelina endógenos no son suficientes para la mBI o reducir la incidencia, gravedad o el tiempo necesario para recuperarse, como es fácilmente evidente por el daño a largo plazo provocado al cerebro por lesiones de traumatismo craneoencefálico repetitivas (mBI). Las presentes realizaciones proporcionan un beneficio y un resultado que no se producen de forma natural en el cuerpo con los niveles endógenos. Dicho beneficio era desconocido antes de las presentes realizaciones asociadas a la invención. En algunas realizaciones, los métodos pueden incluir adicionalmente la selección o la identificación de un sujeto que ha padecido, está en riesgo de padecer, es propenso a padecer, y/o está a punto de participar en una actividad con alto riesgo de padecer, una mBI, antes de la administración de la ghrelina.

Algunas realizaciones se refieren a métodos para determinar la eficacia de un compuesto para tratar a un paciente que padece una lesión cerebral leve (mBI). Los métodos pueden incluir, por ejemplo, i) determinar el nivel de expresión de proteína desacoplante 2 (UCP-2) en una muestra biológica obtenida de un paciente tratado con el compuesto; ii) comparar el nivel de expresión de UCP-2 con una muestra biológica obtenida de un sujeto tratado con ghrelina (como se describe en la presente memoria, incluyendo las modificaciones descritas en la presente memoria); y iii) determinar la eficacia del compuesto, en donde el compuesto es eficaz cuando el nivel de expresión de UCP-2 inducido por el compuesto es igual (dentro de un margen de al menos 10%) o superior al nivel de expresión de UCP-2 inducido por la ghrelina.

Algunas realizaciones se refieren a métodos para tratar a un paciente que padece pérdida cognitiva o de habilidades motoras debido a una lesión cerebral leve (mBI). Los métodos pueden incluir, por ejemplo, i) determinar el nivel de ghrelina en el cerebro del paciente a lo largo de un periodo de tiempo; ii) administrar ghrelina (que incluye las versiones modificadas y C14 describas en la presente memoria) al paciente; y iii) repetir periódicamente la etapa ii) durante el tratamiento cuando el nivel de ghrelina caiga por debajo de un rango normal como base para determinar la eficacia del tratamiento, en donde un aumento del nivel de ghrelina en el cerebro demuestra una mejora de la afección cognitiva o de las habilidades motoras del paciente.

La invención se define en las reivindicaciones.

40 **Breve descripción de las figuras**

Las realizaciones de esta descripción son figuras que ilustran meramente a modo de ejemplo, sin limitación, en las que:

Figura 1: muestra el principio del ensayo del estallido oxidativo dentro de células inflamatorias. La dihidrorrodamina 123 (DHR 123) difunde a través de la membrana celular. Cuando se encuentra con especies de oxígeno reactivas (ROS), la DHR 123 se oxida y de lugar a una fluorescencia verde. A continuación se mide la fluorescencia y se presenta como unidades de fluorescencia arbitrarias (AFU), en donde una mayor intensidad significa un mayor estallido oxidativo y, por tanto, una mayor concentración de cantidad de ROS (véase Chen, et al., "Measurement of oxidative burst in neutrophils", *Methods Mol Biol.*, 844: 115-124 (2012)).

Figura 2: muestra la administración subcutánea de ghrelina que da como resultado una reducción del estallido oxidativo en células inflamatorias tras una mBI. El desplazamiento a la derecha del pico refleja un mayor estallido oxidativo. Se observa un mayor estallido oxidativo en la mBI sola, y se observa un menor estallido oxidativo en la mBI tratada con ghrelina. Para el tratamiento con ghrelina, el pico se desplaza a la izquierda en línea con el control, lo que significa un menor estallido oxidativo.

Figura 3: muestra el estallido oxidativo de cerebro completo ipsilateral tras una BI moderada. La BI moderada más ghrelina reduce el estallido oxidativo, según se cuantifica mediante unidades de fluorescencia arbitrarias (AFU). El estallido oxidativo aumenta en animales tras mBI en comparación con el control simulado (7963 AFU \pm 2900 BI moderada) frente a 4624 AFU \pm 1858 (simulado); n=5 animales en cada grupo). El tratamiento con ghrelina reduce el estallido oxidativo en comparación con mBI (7963 AFU \pm 2900 (BI moderada) frente a 3257 AFU \pm 1031 (BI moderada + ghrelina (2 dosis)); valor-p de 0,048 usando el test t de Student). AFU equivale a intensidad de fluorescencia media.

Algunas o todas las figuras son representaciones esquemáticas de ejemplo; por tanto, no muestran necesariamente los tamaños relativos o las localizaciones reales de los elementos mostrados. Las figuras se presentan con el propósito de ilustrar una o más realizaciones con el entendimiento explícito de que no van a usarse para limitar el alcance del significado de las reivindicaciones presentadas más adelante.

5 Descripción detallada de la invención

Debe entenderse que la presente descripción no está limitada por las realizaciones particulares descritas, y como tal puede, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología usada en la presente memoria tiene el propósito de describir únicamente las realizaciones particulares, y no pretende ser limitativa, ya que el alcance de la presente descripción estará limitado solo por las reivindicaciones anexas.

10 La descripción detallada de la presente memoria se divide en varias secciones únicamente por comodidad para el lector y la descripción incluida en cualquier sección se puede combinar con la de otra sección. A menos que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado utilizado habitualmente por los especialistas en la técnica a la que pertenece la presente descripción.

Definiciones

15 Cabe destacar que tal como se usan en la presente memoria y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “una”, y “el”, “la” incluyen los referentes en plural a menos que el contexto claramente dicte lo contrario. De esta manera, por ejemplo, la referencia a “un compuesto” incluye una pluralidad de compuestos.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado utilizado habitualmente por el especialista en la técnica a la que pertenece la presente descripción.

20 Tal como se usan en la presente memoria los siguientes términos tienen los siguientes significados.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “aproximadamente” cuando se usa antes de una designación numérica, p.ej., temperatura, tiempo, cantidad, concentración, y otros similares, incluyendo un rango, indica aproximaciones que pueden variar en (+) o (-) 10%, 5% o 1%.

25 Tal como se usa en la presente memoria, el término “administración” se puede llevar a efecto en una dosis, de forma continua o intermitentemente, o a través de varias subdosis, que en conjunto proporcionan una única dosis. La dosificación se puede llevar a cabo a lo largo del curso de tratamiento. Los métodos para determinar los medios y dosis de administración más efectivos son conocidos por los especialistas en la técnica y pueden variar con la composición usada para terapia, con el propósito de la terapia, la célula diana que esté siendo tratada y el sujeto que esté siendo tratado. Se pueden llevar a cabo administraciones individuales o múltiples con el nivel de dosis y el patrón que sean seleccionados por el médico responsable. Las formulaciones y métodos de dosificación adecuados para administrar los agentes son conocidos en la técnica. La ruta de administración también puede ser determinada y los especialistas en la técnica conocen los métodos para determinar la ruta más efectiva de administración, y variará con la composición usada para el tratamiento, con el propósito del tratamiento, el estado de salud o el estadio de enfermedad del sujeto que está siendo tratado y con la célula o tejido diana. Los ejemplos no limitativos de ruta de administración incluyen administración oral, vaginal, administración nasal, inyección, aplicación tópica, sublingual, pulmonar y mediante supositorio.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “afinidad” se refiere a la fortaleza de unión entre receptores y sus ligandos, por ejemplo, entre un anticuerpo y su antígeno.

40 Tal como se usa en la presente memoria, el término “residuo de aminoácido” se refiere a un aminoácido formado mediante digestión química (hidrólisis) de un polipéptido y sus enlaces peptídicos. A menos que se especifique de otro modo, el aminoácido abarca L-aminoácido, incluyendo tanto aminoácido natural como sintético o similar, siempre que la propiedad funcional deseada sea retenida por el polipéptido. NH₂ se refiere al grupo amino libre presente en el extremo amino de un polipéptido. COOH se refiere al grupo carboxi libre presente en el extremo carboxi de un polipéptido. Las abreviaturas estándar de polipéptido para residuos de aminoácido son las siguientes: A (Ala o Alanina); C (Cys o Cisteína); D (Asp o Ácido Aspártico); E (Glu o Ácido Glutámico); F (Phe o Fenilalanina); G (Gly o Glicina); H (His o Histidina); I (Ile o Isoleucina); K (Lys o Lisina); L (Leu o Leucina); M (Met o Metionina); N (Asn o Asparagina); P (Pro o Prolina); Q (Gln o Glutamina); R (Arg o Arginina); S (Ser o Serina); T (Thr o Treonina); V (Val o Valina); W (Trp o Triptófano); X (Xaa o Desconocido u Otro); Y (Tyr o Tirosina); y Z (Glx/Gln/Glu o Ácido Glutámico/Glutamina). Todas las secuencias de residuos de aminoácido representadas en la presente memoria mediante fórmula presentan una orientación izquierda-a-derecha en la dirección convencional de extremo amino a extremo carboxi. La frase “residuo de aminoácido” se define de forma amplia para incluir los aminoácidos naturales y aminoácidos modificados y no naturales. Una raya al principio o al final de una secuencia de residuos de aminoácido indica un enlace peptídico con una secuencia adicional de uno o más residuos de aminoácido o un enlace covalente con un grupo amino-terminal tal como NH₂ o acetilo o con un grupo carboxi-terminal tal como COOH.

55 Tal como se usan en la presente memoria, los términos “que comprende” o “comprende” pretenden indicar que las composiciones y métodos incluyen los elementos enumerados, pero sin excluir otros. “Que consiste esencialmente en” cuando se usa para definir composiciones y métodos, significará que se excluyen otros elementos de cualquier

significancia esencial en la combinación para el propósito establecido. De este modo, una composición que consiste esencialmente en los elementos definidos en la presente memoria no excluiría otros materiales o etapas que no afecten materialmente a la(s) característica(s) básica(s) y nueva(s) de la presente descripción. “Que consiste en” significará que se excluye más que elementos traza de otros ingredientes y etapas de método sustanciales. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición se encuentran dentro del alcance de la presente descripción.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “ghrelina” es un polipéptido que puede tener una secuencia de 28 aminoácidos como la establecida en la SEQ ID NO. 1, y que puede incluir la acilación de octanoilo descrita anteriormente. La ghrelina humana puede ser un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácido establecida en el N° de Acceso del GenBank® NP_057446 o el Identificador Swiss-Prot GHRL_HUMAN. La preproteína de ghrelina humana tiene 117 aminoácidos. Dicha preproteína puede someterse al siguiente procesamiento post-traduccional. Se elimina péptido señal (aminoácidos 1-23) y los restantes 94 aminoácidos son tratados con una proteasa para proporcionar una ghrelina de 28 aminoácidos madura (aminoácidos 24-51) o una ghrelina de 27 aminoácidos madura (aminoácidos 24-50) y una obestatina de 23 aminoácidos madura (aminoácidos 76-98). En otra realización, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación respecto a la forma natural de una secuencia de aminoácidos Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Ser-Gln-Lys-Pro-Gln-Asn-Lys-Val-Lys-Ser-Ser-Arg-Ile (p.ej., SEQ ID NO. 4). En otra realización, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación respecto a la forma natural de una secuencia de aminoácidos de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Lys-Ala-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 5). En otra realización, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación respecto a la forma natural de una secuencia de aminoácido de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Lys-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Ala-Ala-Lys-Lys-Pro-Arg (SEQ ID NO. 6). En otra realización, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación respecto a la forma natural de una secuencia de aminoácido de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Ala-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 7). En otra realización, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación respecto a la forma natural de una secuencia de aminoácido de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Thr-Tyr-Lys-Asn-Ile-Gln-Gln-Gln-Lys-Asp-Thr-Arg-Lys-Pro-Thr-Ala-Arg-Leu-His (SEQ ID NO. 8). En otra realización adicional, la ghrelina comprende un polipéptido que comprende al menos una modificación respecto a la forma natural de una secuencia de aminoácido de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Lys-Leu-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 9). Las modificaciones en la ghrelina pueden incluir añadir o eliminar aminoácidos, siempre que la ghrelina así modificada mantenga su valor terapéutico (p.ej., añadiendo o eliminando solo 1, 2, 3, 4 o 5 aminoácidos de la molécula).

Algunas realizaciones se refieren y pueden utilizar moléculas de ghrelina que tienen un contenido de carbono 14 (C14) inferior al encontrado en las moléculas de ghrelina producidas endógenamente, o en la ghrelina que tiene un contenido de C14 aproximadamente igual a los niveles de C14 atmosférico. Por ejemplo, las moléculas de ghrelina pueden presentar al menos un átomo de carbono o un resto que contenga carbono que derive de reactivos de origen fósil que tenga un contenido de C14 inferior al encontrado en moléculas endógenas o inferior a los niveles atmosféricos. En algunas realizaciones, las moléculas de ghrelina pueden presentar todas, sustancialmente todas, o al menos algún carbono que tenga un contenido de C14 inferior al observado endógenamente o inferior a los niveles atmosféricos. Por ejemplo, uno o más de los aminoácidos de una secuencia pueden incluir carbono y tener un contenido de C14 inferior al observado en los aminoácidos endógenos o inferior a los niveles atmosféricos. En otros casos, una secuencia entera puede incluir carbono y presentar un contenido de C14 inferior al observado endógenamente o inferior a los niveles atmosféricos. Aún más, en otras realizaciones, se puede modificar una molécula de ghrelina, por ejemplo para presentar un octanoilo u otro grupo similar, y el grupo octanoilo puede tener un contenido de C14 inferior a los niveles de C14 de la ghrelina endógena o inferior a los niveles atmosféricos. A continuación, y en otros sitios de la presente memoria, se describen ejemplos y realizaciones adicionales.

En algunas realizaciones, la molécula de ghrelina puede presentar un contenido de C14 inferior a 0,9 ppt, 0,95 ppt, 1,05 ppt, 1,10 ppt, 1,15 ppt, 1,2 ppt o un contenido atmosférico de C14. En algunas realizaciones, la molécula de ghrelina puede tener un contenido de C14 que va entre aproximadamente 1% y 50% (o cualquier valor o sub rango entre medias) inferior al contenido de C14 en la ghrelina endógena o al contenido de C14 atmosférico. Por ejemplo, una molécula según algunas realizaciones puede presentar entre aproximadamente 5% y aproximadamente 11% menos de contenido de C14. La ghrelina con un contenido de C14 inferior a 0,9 ppt, 0,95 ppt, 1,0 ppt, 1,05 ppt, 1,10 ppt, 1,15 ppt, 1,2 ppt o al contenido atmosférico de C14, o con un porcentaje menor de C14 tal como se ha discutido en la presente memoria, se puede obtener mediante síntesis de péptidos o síntesis química usando reactivos con carbonos libres de C14, con menos de 1 ppt de C14 o deficientes en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. Alternativamente, la ghrelina con un contenido de C14 inferior a 0,9 ppt, 0,95 ppt, 1,0 ppt, 1,05 ppt, 1,10 ppt, 1,15 ppt, 1,2 ppt o al contenido atmosférico de C14 puede producirse *in vitro* mediante métodos enzimáticos que parten de materiales con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. Dichos métodos enzimáticos pueden incluir un sistema de síntesis de proteínas libre de células o un sistema *in vitro* acoplado de transcripción-traducción basado en extractos celulares preparados a partir de bacterias, levaduras, germen de trigo, células de insecto y/o de mamífero usando aminoacil-ARNts cargados con aminoácidos con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. En un método alternativo, la ghrelina con un contenido de C14 inferior a 0,9 ppt, 0,95 ppt, 1,0 ppt, 1,05 ppt, 1,10 ppt, 1,15 ppt, 1,2 ppt o al contenido atmosférico

de C14 se puede producir mediante métodos recombinantes en células bacterianas, de levadura, de insecto y/o de mamífero después de la introducción de un sistema de expresión con un ADNc que comprende secuencias codificadas de ghrelina y cultivar las células en un medio con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. Alternativamente, el medio puede incluir glucosa, galactosa, azúcares, glicerol, piruvato, acetatos, metabolitos, ácidos grasos y/o aminoácidos con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. Los métodos para cambiar el contenido isotópico estable de proteínas pueden encontrarse en Becker et al., 2008 (G. W. Becker (2008) Stable isotopic labeling of proteins for quantitative proteomic applications. Briefings in Functional Genomics Proteins 7 (5): 371-382). La ghrelina se puede co-expresar con, o ser expuesta a, ghrelina O-acil transferasa (GOAT) para permitir la modificación con ácidos grasos de la secuencia primaria de la ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 3, de tal modo que se produce una ghrelina biológicamente activa capaz de unirse y activar el receptor de ghrelina (GHSR-1a o el receptor de tipo 1a de secretagogo de hormona del crecimiento). La modificación puede ser una modificación de ácido octanoico de ghrelina con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, con menos de 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14.

En algunas realizaciones, la ghrelina con un contenido de C14 inferior a 0,9 ppt, 0,95 ppt, 1,0 ppt, 1,05 ppt, 1,10 ppt, 1,15 ppt, 1,2 ppt o al contenido atmosférico de C14 (o que tiene un porcentaje como el discutido en la presente memoria) puede obtenerse tras una modificación de la secuencia primaria de la ghrelina (SEQ ID NO. 1) con un ácido graso con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. Dichos ácidos grasos pueden sintetizarse químicamente con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14, o ser producido en una célula cultivada en un medio en donde la fuente de carbono usada para sintetizar el ácido graso o los ácidos grasos está libre de C14, sustancialmente libre de C14, tiene un contenido inferior a 1 ppt de C14 o es deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. En algunas realizaciones, el ácido graso o los ácidos grasos se conjugan con la coenzima A (CoA) y el ácido graso de los tioésteres ácido graso-CoA resultantes es transferido a la serina de la posición de aminoácido 3 de la ghrelina por acción de la ghrelina O-acil transferasa (GOAT), de tal modo que se produce una ghrelina modificada con ácido graso con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. En algunas realizaciones, los ácidos grasos son ácidos grasos de cadena lineal con un contenido de carbono de C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, C16, C17, C18, C19 o C20, y que presenta la fórmula química general $(CH_3)-(CH_2)_{n-2}-COOH$, en donde "n" es el número de carbonos del ácido graso. En una realización preferida, el ácido graso es un ácido octanoico C8 o un ácido tetradecanoico C14. En una realización más preferida, el ácido graso es ácido octanoico y la ghrelina modificada con ácido graso es ghrelina modificada con octanoilo en la serina de la posición de aminoácido 3.

En algunas realizaciones, el ácido graso o ácidos grasos pueden estar conjugados a la ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 3. En algunas realizaciones, el ácido graso o ácidos grasos pueden estar conjugados a la ghrelina en una posición diferente a la serina de la posición de aminoácido 3. En algunas realizaciones, el ácido graso o ácidos grasos pueden estar conjugados a ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 2. En algunas realizaciones, el ácido graso o ácidos grasos pueden estar conjugados a la ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 2 y en la serina de la posición de aminoácido 3. En algunas realizaciones, el ácido graso o ácidos grasos pueden estar conjugados a la ghrelina en uno o más aminoácidos.

En algunas realizaciones, el ácido graso o ácidos grasos pueden estar conjugados a ghrelina inmadura (tal como preproghrelina o proghrelina) y a continuación la ghrelina modificada con ácido graso o ácidos grasos es procesada a una ghrelina madura que pueda activar el receptor de ghrelina (GHSR-1a). El procesamiento de ghrelina inmadura puede ser *in vitro* o *in vivo* y puede llevarse a cabo mediante enzimas proteolíticas. En algunas realizaciones, el ácido graso o los ácidos grasos pueden conjugarse a una ghrelina madura que presenta la secuencia de aminoácidos proporcionada en la SEQ ID NO. 1.

En algunas realizaciones, la ghrelina con una o más modificaciones es una ghrelina aislada con una o más modificaciones. En una realización preferida, la ghrelina con una o más modificaciones es una ghrelina aislada con una o más modificaciones de ácido graso. En una realización más preferida, la ghrelina con una o más modificaciones es una ghrelina aislada acilada en la serina 3 con ácido octanoico, tal como octanoil-ghrelina aislada.

El material de partida deficiente en C14 usado en la síntesis de ghrelina con un contenido de carbono libre de C14, sustancialmente libre de C14, inferior a 1 ppt de C14 o deficiente en C14 respecto al contenido atmosférico de C14 puede obtenerse a partir de fuentes de carbono que no participan en el ciclo de carbono atmosférico, o fraccionando el isótopo de carbono natural para obtener carbonos libres de C14, sustancialmente libres de C14, con menos de 1 ppt de C14 o deficientes en C14 respecto al contenido atmosférico de C14. Dichos carbonos estarán enriquecidos en carbono-12 (C12) y/o carbono-13 (C13) y empobrecidos en C14. Los métodos para el fraccionamiento, el enriquecimiento o el empobrecimiento isotópico son conocidos en la técnica y se pueden basar en difusión, centrifugación, electromagnetismo, excitación láser, efecto de isótopo cinético, métodos químicos, gravedad, evaporación y destilación criogénica entre muchos otros métodos de fraccionamiento isotópico.

La ghrelina tal como se usa en las diversas realizaciones descritas en la presente memoria puede ser cualquier ghrelina adecuada, incluyendo, por ejemplo, la ghrelina producida usando métodos recombinantes y la ghrelina que se sintetiza químicamente. Independientemente del origen, se puede usar y administrar la ghrelina tal como se describe en la presente memoria. La ghrelina puede ser ghrelina aislada, por ejemplo, ghrelina obtenida tras fraccionamiento o separación de ghrelina de otros constituyentes presentes en una muestra en la que la ghrelina es producida o sintetizada, o bien modificada. La ghrelina aislada no tiene porqué ser ghrelina pura. Aunque es deseable tener ghrelina pura o ghrelina esencialmente pura, se puede usar ghrelina aislada sin alcanzar una pureza absoluta, siempre que la ghrelina haya sido fraccionada o separada de los constituyentes cuya presencia no es deseable en una preparación de la ghrelina aislada. Cabe destacar que tras el fraccionamiento de ghrelina, la ghrelina puede introducirse en disolución o usarse como una mezcla en presencia de otros componentes tales como vehículo(s) farmacéutico(s), lubricante(s), conservante(s), tampón(es), sal(es), azúcar(es), colorante(s), excipiente(s) farmacéuticamente aceptable(s) y combinación de los mismos.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “receptor de ghrelina” se refiere a cualquier molécula natural a la cual se une la ghrelina e induce una actividad biológica. Es sabido que la ghrelina se une a receptor 1a de secretagogo de hormona de crecimiento (es decir, GHSR), sin embargo, la presente descripción no está limitada a un tipo específico de receptor.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “individuo” o “sujeto” es un animal o humano susceptible de padecer una afección, en particular una mBI o traumatismo craneoencefálico. En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero, que incluye mamíferos humanos y no humanos, tal como perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, cabras, caballos, ratas y ratones.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “lesión cerebral leve” (mBI), a veces referido como “lesión cerebral traumática leve” (mTBI) se refiere a un evento no relacionado con una enfermedad que es producido habitualmente por una lesión que resulta en una agresión al cerebro. La mBI puede ser causada, por ejemplo, por fuerzas de impacto, en las que la cabeza golpea o es golpeada por algo, o fuerzas impulsivas, en las que la cabeza se mueve sin ser objeto en sí misma de un trauma directo (por ejemplo, cuando el torso golpea algo y la cabeza da un latigazo hacia adelante; como resultado de una rápida aceleración o deceleración de la cabeza; una aceleración o deceleración del cerebro de un sujeto que produce un cambio en un parámetro clínico cualitativo o cuantificable relacionado con el bienestar funcional del sujeto; o una aceleración o deceleración diferencial del cerebro del sujeto respecto al cráneo del sujeto, en donde la aceleración o deceleración diferencial produce un cambio en un parámetro clínico cualitativo o cuantificable relacionado con el bienestar funcional del sujeto). La mBI habitualmente es resultado, por ejemplo, de una lesión relacionada con el deporte, un accidente de vehículo motorizado, una caída accidental o un asalto. Aunque la gran mayoría de dichas lesiones mejoran a través de una recuperación natural, el daño causado por dicha lesión o lesiones repetitivas puede provocar déficits a largo plazo en las funciones cognitivas y/o de habilidades motoras.

La BI leve es diferente, y presenta una patología distinta, de enfermedades tales como las agresiones cerebrales traumáticas agudas, tal como apoplejías (isquémica o hemorrágica), AVM's, tumores cerebrales, y similares.

Además, la mBI es diferente de la TBI grave. La lesión cerebral leve y la lesión cerebral traumática grave son lesiones drásticamente diferentes. La BI leve y la TBI grave presentan características y síntomas diferentes, tasas de mortalidad diferentes, protocolos de tratamiento diferentes, etc. La TBI grave es un estado de lesión en el que existe un nivel inaceptable de mortalidad y de discapacidad permanente en humanos en un plazo de horas o días desde la lesión. Según los Centros de Control de Enfermedades, dichas lesiones son un factor que contribuye a un tercio (30%) de todas las muertes relacionadas con lesiones en los Estados Unidos (véase, National Vital Statistics System (NVSS), 2006-2010). Las TBIs graves a menudo son producidas, por ejemplo, por accidentes de automóvil y heridas de armas de fuego en combate y heridas de bomba en la cabeza. La TBI grave típicamente presenta hemorragias cerebrales directas y abiertas, destrucción de células cerebrales, edema cerebral grave y apoptosis celular grave, todas características de cambios anatómicos o lesiones anatómicas en el cerebro del paciente lesionado –todas las cuales pueden detectarse mediante métodos de imagen anatómica no invasivos. Debido a la gravedad de dichos síntomas, y al riesgo de muerte inminente y discapacidad, la intervención operativa y los cuidados críticos son fundamentales. La TBI grave da como resultado cambios anatómicos adversos en el cerebro del paciente (observables a un nivel de anatomía general) dando como resultado la pérdida inmediata y permanente de funciones cerebrales, si no la muerte.

Por otro lado, la lesión cerebral leve (mBI) produce cambios en la función cerebral a un nivel metabólico / molecular en las neuronas afectadas. Como tal, habitualmente no causa mortalidad o discapacidad permanente en el marco temporal proporcionado antes, y los pacientes a menudo recuperan las actividades y la funcionalidad normales de la vida cotidiana en cuestión de horas o días desde la mBI.

La respuesta del cuerpo a la TBI grave consiste en un gran número de respuestas diferentes, que incluyen las iniciadas por hipoxia, pérdida de sangre y muerte neuronal significativa, por nombrar solo unas pocas. La respuesta del cuerpo a la mBI es significativamente diferente ya que las hemorragias y la pérdida de sangre, la pérdida de tejido, la hipoxia, la muerte neuronal significativa, etc., no son parte de las manifestaciones de esta afección.

Consecuentemente, los tratamientos terapéuticos para cada lesión son significativamente diferentes. La misma metodología terapéutica usada para la TBI grave, por ejemplo, cirugía, sedación profunda, terapia de manitol y

descompresión operativa, estaría contra-indicada para el tratamiento de mBI, por ejemplo, de traumatismo craneoencefálico, que es un tipo de lesión cerebral leve. Lo contrario, tal como el descanso y la relajación mental con poca intervención para recuperarse de mBI, es igualmente cierto.

5 Tal como se usa en la presente memoria, el término “polipéptido” o “péptido” pretende abarcar un “polipéptido” singular, así como “polipéptidos” plurales, y se refiere a una molécula compuesta por monómeros (aminoácidos) unidos linealmente a través de enlaces amida (también conocidos como enlaces peptídicos). El término “polipéptido” se refiere a cualquier cadena o cadenas de dos o más aminoácidos, y no se refiere a una longitud específica del producto. De esta manera, los péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, “proteína”, “cadena de aminoácido”, o cualquier otro término usado para referirse a una cadena o cadenas de dos o más aminoácidos, quedan incluidos dentro de la definición de “polipéptido”, y el término “polipéptido” puede usarse en lugar de, o de forma intercambiable con, cualquiera de dichos términos. El término “polipéptido” también pretende indicar los productos de modificaciones post-expresión del polipéptido, que incluyen sin limitación glicosilación, acetilación, fosforilación, amidación, acilación, acilación con ácidos grasos, modificación con ácidos grasos, derivatización con grupos protectores/bloqueantes conocidos, ruptura proteolítica, o modificación con aminoácidos no naturales. La modificación puede ser modificación con ácidos grasos o modificación con triglicéridos. La modificación con ácidos grasos puede ser con un ácido graso de cadena corta a media. El ácido graso corto puede ser un ácido graso de dos carbonos o ácido acético. El ácido graso de cadena media puede ser un ácido graso de 14 carbonos o ácido tetradecanoico. La modificación con un ácido graso puede ser acilación de SEQ ID NO. 1 en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o la erina de la posición de aminoácido 3. La modificación puede estar catalizada por ghrelina O-acil transferasa (GOAT) de tioéster de ácido graso y ghrelina como sustratos. En una realización, la ghrelina modificada post-traduccionalmente puede estar ligada y/o reconocida por receptor de tipo 1a de secretagogo de hormona del crecimiento (GHSR-1a) o receptor de ghrelina. En una realización, la ghrelina modificada post-traduccionalmente puede ser ghrelina acilada con ácido graso en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o la serina de la posición de aminoácido 3 ligada y/o reconocida por GHSR-1a o receptor de ghrelina. Un polipéptido puede derivarse de una fuente biológica natural o puede ser producido mediante tecnología recombinante, pero no es necesariamente traducido a partir de una secuencia de ácido nucleico designada. Puede generarse de cualquier manera, que incluye mediante síntesis química. El término “polipéptido” o “péptido” también se refiere a un compuesto que comprende una pluralidad de aminoácidos ligados en el mismo a través de enlaces peptídicos. Aquí, el aminoácido (también denominado residuo de aminoácido) incluye aminoácidos naturales representados por la fórmula: $\text{NH}_2\text{-CH(R')-COOH}$, en donde R' es un grupo sustituyente natural, así como sus isómeros ópticos D y L, etc. También existe un péptido, en donde un determinado aminoácido natural es reemplazado por un aminoácido modificado. El aminoácido modificado incluye los aminoácidos de la anterior fórmula en la que el grupo sustituyente R' está modificado adicionalmente, sus isómeros ópticos D y L, y aminoácidos no naturales en los que, p.ej., varios grupos sustituyentes están ligados al grupo sustituyente R' de la anterior fórmula a través, o no a través, de un enlace éster, éter, tioéster, tioéter, amida, carbamida o tiocarbamida. El aminoácido modificado también incluye aminoácidos no naturales cuyos grupos amino están reemplazados por grupos alquilo inferiores.

Tal como se usa en la presente memoria, el término “secretagogo” es una sustancia que estimula la liberación de hormona del crecimiento, tal como ghrelina. En algunas realizaciones, la ghrelina se une al receptor secretagogo de hormona del crecimiento GHS-R 1a (GHSR). Los compuestos de ghrelina descritos en la presente memoria son activos en el receptor de secretagogo de hormona del crecimiento (GHS), p.ej., el receptor GHS-R 1a. Los compuestos se pueden unir a GHS-R 1a, y estimular la actividad de receptor. En algunas realizaciones, los compuestos se pueden unir a otros receptores y, opcionalmente, estimular su actividad. En algunas realizaciones, la ghrelina aumenta la expresión de proteína desacoplante 2 (UCP-2). En algunas realizaciones, la ghrelina aumenta la expresión de UCP-2 en mitocondrias. En algunas realizaciones, la ghrelina previene la consecuencia metabólica de la mBI y cualesquier afecciones crónicas asociadas.

Tratamiento de lesión cerebral leve (mBI) y otros trastornos neurológicos

La presente descripción está dirigida a la identificación de un nuevo uso para la ghrelina en mBI. La BI leve, que incluye el traumatismo craneoencefálico, presenta una patología significativamente diferente a otros traumas asociados con enfermedades del cerebro y lesiones cerebrales traumáticas graves (TBI grave), tal como aquellas que causan isquemia. La BI leve no causa el daño masivo celular y tisular observado en la enfermedad cerebral traumática grave. En su lugar, la mBI causa cambios metabólicos sutiles dentro del cerebro, específicamente estrés oxidativo y sobreproducción de especies de oxígeno reactivas (ROS) lo cual, a su vez, puede dañar la neuroconectividad y conducir a daños neuronales y cambios encefalopáticos y fisiológicos con lesión recurrente.

La presente descripción utiliza ghrelina para tratar la mBI. Al contrario que la lesión traumática grave del cerebro, la mBI no muestra cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema celular o vasogénico significativo (es decir, ruptura de la barrera hematoencefálica). En su lugar, la mBI es una afección clínica asociada de forma general a una lista de síntomas clínicos. A veces se asocia a la pérdida de consciencia, pero no muestra necesariamente cambios radiológicos significativos. Los síntomas reportados habitualmente incluyen, aunque sin limitación, dolor de cabeza, “presión en la cabeza”, dolor de cuello, náusea o vómitos, mareos, visión borrosa, problemas de equilibrio, sensibilidad a la luz, sensibilidad al sonido, sentimiento de ralentización, sentimiento de estar “en una niebla”, “no sentirse bien”, dificultad para concentrarse, dificultad para recordar, fatiga o falta de energía, confusión, somnolencia, problemas para dormir, estar más emocional, irritabilidad, tristeza y estar nervioso o ansioso.

En algunas realizaciones no limitativas, los métodos de la presente memoria pueden incluir o referirse a tratar o reducir uno o más de los síntomas enumerados. De forma destacada, los traumatismos craneoencefálicos repetidos, como los que se dan en militares y en deportes tales como el fútbol americano y el hockey, producen una serie de alteraciones metabólicas y la formación de ROS. Esta serie de eventos conduce a encefalopatía traumática crónica (CTE, del inglés “chronic traumatic encephalopathy”) como se ha comprobado en las autopsias de varios jugadores de fútbol americano profesional fallecidos.

En algunas realizaciones, la ghrelina tiene la capacidad de reducir las ROS y el posterior daño causado a las neuronas tras una mBI. Esto es especialmente importante para traumatismos craneoencefálicos crónicos donde la prevención de los efectos inflamatorios, excitantes de ROS, tendría un impacto clínico significativo. Los tratamientos con ghrelina reducen las ROS, y por tanto previenen la consecuencia metabólica de los traumatismos craneoencefálicos y las afecciones crónicas asociadas a los mismos.

En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de la ghrelina en la mBI se compara a su efecto terapéutico en la TBI grave. La etiología, las imágenes y la determinación de la mBI carecen de una explicación cohesiva para los déficits cognitivos observados de dolores de cabeza crónicos, pérdida de memoria y afectación al sueño. Solo la tecnología más avanzada y compleja puede llegar a detectar los cambios sutiles asociados a la mBI. Por lo tanto, al contrario que la TBI grave, donde una lesión másica definitiva es identificada por cambios anatómicos y celulares, la mBI es indetectable radiológicamente, no obstante, se producen desajustes metabólicos específicos. La presente descripción describe que la ghrelina puede ser un potente agente neuro-conservador en la mBI.

Sin pretender establecer ninguna teoría, la presente descripción también describe la función biológica de la ghrelina tras una mBI. Tras la mBI, las necesidades metabólicas de la célula, que incluyen los requerimientos de glucosa, aumentan. Las células lesionadas levemente presentan desajustes metabólicos significativos que causan la aparición de especies de oxígeno reactivas en las neuronas. Este estrés metabólico y el aumento de las necesidades metabólicas es el concepto fundamental que subyace bajo la gestión del traumatismo craneoencefálico agudo. La reducción de ROS y la mejora de la captación de glucosa del cerebro o de las células neuronales y axones pueden restaurar la función intracelular y permanecer viable. Esto previene o reduce la disfunción inducida por traumatismos craneoencefálicos y en general mejora el resultado neurocognitivo, y previene la pérdida de memoria, y los estados de mBI crónica de dolor de cabeza y desarrollo de encefalopatía traumática crónica.

La presente descripción proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (BI leve o mBI) en un sujeto, que comprende la administración al sujeto (p.ej., un sujeto que tiene una mBI) de una cantidad efectiva de un compuesto que comprende ghrelina, tratando con ello la mBI. La ghrelina puede administrarse para el propósito de tratar la mBI en una cantidad terapéuticamente efectiva para la mBI. En algunas realizaciones, los métodos pueden incluir además la selección y la identificación de un sujeto que ha padecido, que está en riesgo de padecer, que es propenso a padecer, y/o que está a punto de participar en una actividad con un riesgo elevado de padecer, una mBI, antes de la administración de la ghrelina.

En algunas realizaciones, la lesión cerebral leve comprende un traumatismo craneoencefálico. En algunas realizaciones, el sujeto que se somete al método de tratamiento es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto es un humano, mono, vaca, cabra, oveja, ratón, rata, gato, perro, caballo, hámster, cerdo, pez y pollo. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en un plazo de aproximadamente 72 horas de la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en un plazo de aproximadamente 24 horas de la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en un plazo de aproximadamente 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48 o 72 horas de la mBI.

La presente descripción también proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, tratando de este modo la mBI, en donde la ghrelina es el único agente activo. En algunas realizaciones, la ghrelina presenta la secuencia Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 1). En algunas realizaciones, la ghrelina es modificada con uno o más ácidos grasos. En algunas realizaciones, el ácido graso es un ácido octanoico. En algunas realizaciones, la ghrelina está modificada en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 de la SEQ ID NO. 1. En algunas realizaciones, la ghrelina está modificada en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 con un ácido octanoico. En algunas realizaciones, la modificación de la ghrelina es una acilación de la ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 con un ácido octanoico. En algunas realizaciones, la ghrelina así modificada es una octanoil-ghrelina con una acilación en la serina de la posición de aminoácido 3 con ácido octanoico. En algunas realizaciones, la mBI comprende un traumatismo craneoencefálico. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada, al menos durante una primera administración (pero sin limitación), en un plazo o en menos de aproximadamente 24 horas, o menos de 48 horas, o menos de 72 horas desde la mBI, o cualquier subvalor o subrango entre inmediatamente después de la lesión y dichos periodos de tiempo. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en un plazo no superior a aproximadamente 8 horas desde la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina puede ser administrada con aproximadamente 6 horas desde la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina puede administrarse en una dosis individual, o en dosis múltiples, por ejemplo 2-3 dosis. Las dosis múltiples pueden tener al menos una primera dosis administrada en el periodo de tiempo mencionado en la presente memoria, y una o más dosis posteriores después del

periodo de tiempo. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una cantidad que da como resultado niveles de ghrelina en sangre que son al menos 1, al menos 1,5, al menos dos veces (o más) superiores a los niveles sanguíneos de ghrelina endógenos del sujeto. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis individual. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis desde 10 ng/kg al día hasta 10 mg/kg al día o por dosis. En algunas realizaciones, la dosis de ghrelina puede estar entre 1 microgramo y 15 microgramos por kg, por ejemplo aproximadamente 10 µg/kg. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis de 2 µg/kg por dosis o en algún caso por día. En algunas realizaciones, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt).

La presente descripción también proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando de este modo la mBI. La ghrelina puede ser el único agente activo. En algunas realizaciones, la ghrelina presenta la secuencia de Gly-Ser-Ser-Pher-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 1). En algunas realizaciones, la ghrelina está modificada con uno o más ácidos grasos. En algunas realizaciones, el ácido graso es ácido octanoico. En algunas realizaciones, la ghrelina está modificada en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 de la SEQ ID NO. 1. En algunas realizaciones, la ghrelina está modificada en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 con un ácido octanoico. En algunas realizaciones, la modificación de la ghrelina es acilación de ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 con un ácido octanoico. En algunas realizaciones, la ghrelina así modificada es una octanoil-ghrelina con una acilación en la serina de la posición de aminoácido 3 con ácido octanoico. En algunas realizaciones, la mBI comprende un traumatismo craneoencefálico. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis individual. En algunas realizaciones, la cantidad administrada proporciona un nivel en sangre de al menos 1,0 a 100 veces superior a la cantidad observada endógenamente en el sujeto. En algunas realizaciones, la cantidad administrada da como resultado un nivel en sangre de al menos 55 picogramos/mL. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis entre 10 ng/kg al día y 10 mg/kg por dosis y/o al día. En algunas realizaciones, la dosis de ghrelina puede estar entre 1 microgramo y 15 microgramos por kg, por ejemplo aproximadamente 10 µg/kg. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis de 2 µg/kg por dosis o en algún caso por día. En algunas realizaciones, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,0, 2,0 veces, o más, superiores a los niveles de ghrelina en sangre endógenos del sujeto, tratando con ello la mBI.

La presente descripción proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que consiste esencialmente en ghrelina. En alguna realización, la ghrelina es el único agente activo. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra al sujeto en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,0, 1,5, 2,0 o más veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando con ello la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 2,0 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando de este modo la mBI.

En algunas realizaciones, el sujeto está libre hipertensión intracraneal. En algunas realizaciones, el sujeto está libre de permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, el sujeto está libre de necrosis del tejido cerebral. En alguna realización, el sujeto está libre de daños masivos celulares o tisulares del cerebro asociados a una lesión cerebral. En alguna realización, el sujeto está libre de inflamación neuronal grave o de edema vasogénico o celular significativo en la cabeza del sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto está libre de cambios anatómicos grandes asociados a lesiones en el cerebro del sujeto.

En algunas realizaciones, el sujeto está libre de hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, o necrosis del tejido cerebral. En algunas realizaciones, el sujeto está libre de daño tisular o celular masivo en el cerebro asociado a lesión cerebral, inflamación neuronal grave o edema celular o vasogénico significativo en la cabeza del sujeto, o cambios anatómicos grandes asociados a lesiones en el cerebro del sujeto.

En algunas realizaciones, el sujeto está libre de hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis del tejido cerebral, daño tisular o celular masivo en el cerebro asociado a lesión cerebral, inflamación neuronal grave o edema celular o vasogénico significativo en la cabeza del sujeto, o cambios anatómicos grandes asociados a lesiones en el cerebro del sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto está libre de hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis del tejido cerebral, daño tisular o celular masivo en el cerebro asociado a lesión cerebral, inflamación neuronal grave o edema celular o vasogénico significativo en la cabeza del sujeto, o cambios anatómicos grandes asociados a lesiones en el cerebro del sujeto, o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la mBI está asociada a la pérdida de habilidades cognitivas o motoras. En algunas realizaciones, la mBI se asocia a desajustes metabólicos. En algunas realizaciones, la mBI se asocia a encefalopatía traumática crónica (CTE). En algunas realizaciones, la mBI se asocia a daño neuroconectivo. En algunas

realizaciones, la mBI se asocia a cambios encefalopáticos y/o psicológicos. En algunas realizaciones, la mBI se asocia a pérdida de consciencia.

5 En algunas realizaciones, la mBI está asociada a la pérdida de habilidades cognitivas o motoras y desajustes metabólicos. En alguna realización, la mBI se asocia a encefalopatía traumática crónica (CTE) y daño neuroconectivo. En algunas realizaciones, la mBI se asocia a cambios fisiológicos y pérdida de consciencia. En algunas realizaciones, la mBI se asocia a pérdida de habilidades cognitivas o motoras, desajustes metabólicos, encefalopatía traumática crónica (CTE), daño neuroconectivo, cambios fisiológicos, o pérdida de consciencia. En algunas realizaciones, la mBI se asocia a pérdida de habilidades cognitivas o motoras, desajustes metabólicos, encefalopatía traumática crónica (CTE), daño neuroconectivo, cambios fisiológicos, y pérdida de consciencia o combinaciones de los mismos.

10 La presente descripción proporciona un método para reducir, inhibir y/o minimizar el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde la ghrelina así administrada reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS, inhibiendo con ello el daño a las neuronas asociado al estrés oxidativo y la sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y la ghrelina es el único agente activo.

20 La presente descripción proporciona además un método para inhibir el daño en neuronas asociado al estrés oxidativo y la sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI), que incluye traumatismos craneoencefálicos, en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde la ghrelina administrada de este modo reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS, y en donde la ghrelina es el único agente activo, inhibiendo de este modo el daño a neuronas asociado al estrés oxidativo y a la sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

25 La presente descripción proporciona adicionalmente un método para inhibir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y a sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismos craneoencefálicos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde la ghrelina administrada de este modo reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS, inhibiendo con ello el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

30 La presente descripción también proporciona un método para inhibir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde la ghrelina administrada de este modo reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS y en donde la ghrelina es el único agente activo, inhibiendo de este modo el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

35 Adicionalmente, la presente descripción describe un método para restaurar la función intracelular tras una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina de tal modo que se reduzcan las ROS y se mejore la captación de glucosa del cerebro o de las células neuronales y axones, restaurando así la función intracelular tras la mBI en el sujeto. En una realización, la ghrelina presenta un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina presenta un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

40 La presente descripción proporciona además un método para restaurar la función intracelular tras una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina de tal modo que se reducen las ROS y se mejora la captación de glucosa del cerebro o las células neuronales y axones, en donde la ghrelina es el único agente activo, restaurando con ello la función intracelular tras la mBI en el sujeto.

45 La presente descripción proporciona adicionalmente un método para restaurar la función intracelular tras una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido en carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), de tal modo que se reducen las ROS y se mejora la captación de glucosa del cerebro o las células neuronales y axones, restaurando con ello la función intracelular tras una mBI en el sujeto.

55 La presente descripción también proporciona un método para restaurar la función intracelular tras una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) de tal modo que se reducen las ROS y se

mejora la captación de glucosa del cerebro o las células neuronales y axones, en donde la ghrelina es el único agente activo, restaurando de este modo la función intracelular tras una mBI en el sujeto.

5 Adicionalmente, la presente descripción proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis, o daño tisular o celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, tratando con ello la mBI. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

10 La presente descripción proporciona adicionalmente un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis, o daño tisular o celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo la mBI. La presente invención describe un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis, o daño tisular o celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando con ello la mBI.

20 La presente descripción proporciona también un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis, o daño tisular o celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo la mBI.

25 Asimismo, la presente descripción proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis o daño tisular y celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando de este modo la mBI. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

35 La presente descripción proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis o daño tisular y celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo la mBI.

40 La presente descripción proporciona adicionalmente un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis o daño tisular y celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y en una cantidad que proporciona niveles de ghrelina en sangre que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles de ghrelina en sangre del sujeto, tratando de este modo la mBI.

45 La presente descripción también proporciona un método para tratar la lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto libre de edema cerebral, hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis o daño tisular y celular masivo asociado a lesión cerebral, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles de ghrelina en sangre del sujeto, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando con ello la mBI.

50 La presente descripción proporciona además un método para tratar desajustes metabólicos asociados a una lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, tratando con ello los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

55 La presente descripción describe un método para tratar desajustes metabólicos asociados a una lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

La presente descripción proporciona un método para tratar desajustes metabólicos asociados a la lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido en carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando de este modo los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

5 La presente descripción proporciona además un método para tratar desajustes metabólicos asociados a una lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

10 La presente descripción proporciona un método para tratar desajustes metabólicos asociados a una lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando de este modo los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

20 La presente descripción proporciona un método para tratar desajustes metabólicos asociados a lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina del sujeto, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando con ello los desajustes metabólicos asociados a la mBI o el traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

25 La presente descripción proporciona un método para tratar desajustes metabólicos asociados a lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina presenta un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando de este modo los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

30 La presente descripción proporciona un método para tratar desajustes metabólicos asociados a una lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo, tratando con ello los desajustes metabólicos asociados a la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

35 La presente descripción proporciona un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde el tratamiento con ghrelina reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS, previniendo de este modo el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo. La presente invención describe un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde el tratamiento de ghrelina reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS y en donde la ghrelina es el único agente activo, previniendo de este modo el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

40 La presente descripción proporciona un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente activa de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde el tratamiento con ghrelina reduce el estrés oxidativo y la sobre producción de ROS, previniendo de este modo el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI y o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

55 La presente descripción proporciona un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente

efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde el tratamiento con ghrelina reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS y en donde la ghrelina es el único agente activo, previniendo con ello el daño a neuronas asociado al estrés oxidativo y la sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

5 La presente descripción proporciona un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde el tratamiento con ghrelina reduce el
10 estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS, previniendo con ello el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

15 La presente descripción proporciona un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces más elevados que los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde el tratamiento con ghrelina reduce el
20 estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS, y en donde la ghrelina es el único agente activo, previniendo de este modo el daño a las neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

25 La presente descripción proporciona un método para prevenir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde el tratamiento con ghrelina reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS y en donde la ghrelina tiene un contenido en carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), previniendo de este modo el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.
30

35 La presente descripción proporciona un método para reducir el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de lesión cerebral leve (mBI) o traumatismo craneoencefálico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde el tratamiento de ghrelina reduce el estrés oxidativo y la sobreproducción de ROS y en donde la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y el único agente activo, previniendo con ello el daño a neuronas asociado a estrés oxidativo y sobreproducción de especies oxidativas reactivas (ROS) con una o más incidencias de la mBI o traumatismo craneoencefálico en el sujeto.

40 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, tratando con ello la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una
45 realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

50 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo.

55 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando de este modo la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo.

La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono

14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), donde la grelina es el único agente activo, tratando de este modo la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo.

5 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que es al menos 1,5 veces superior a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando de este modo la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido en carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

15 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando de este modo la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo.

20 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando de este modo la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo.

25 La presente descripción proporciona un método para tratar una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto, libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo, una cantidad terapéuticamente efectiva en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo, tratando con ello la mBI en el sujeto libre de cambios histológicos neuronales agudos, inflamación neuronal grave o edema vasogénico o celular significativo.

30 La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir síntomas de lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, tratando con ello o reduciendo los síntomas de la mBI. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

35 La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando o reduciendo de este modo los síntomas de la mBI.

40 La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando así o reduciendo los síntomas de la mBI.

45 La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina que tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando o reduciendo con ello los síntomas de la mBI.

50 La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, tratando o reduciendo de este modo los síntomas de la mBI. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt). En una realización, la ghrelina es el único agente activo. En una realización, la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo.

55 La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina es el único agente activo, tratando o reduciendo con ello los síntomas de la mBI.

La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de una lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina presenta un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt), tratando o reduciendo con ello los síntomas de la mBI.

La presente descripción proporciona un método para tratar o reducir los síntomas de lesión cerebral leve (mBI) en un sujeto), que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina en una cantidad que proporciona niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto, en donde la ghrelina tiene un contenido de carbono 14 (C14) inferior a 1 parte por trillón (ppt) y es el único agente activo, tratando o reduciendo de este modo los síntomas de la mBI.

En algunas realizaciones, los síntomas de la mBI son cualquier dolor de cabeza, "presión en la cabeza", dolor de cuello, náusea o vómitos, mareos, visión borrosa, problemas de equilibrio, sensibilidad a la luz, sensibilidad al sonido, sentimiento de ralentización, sentimiento de estar "en una niebla", "no sentirse bien", dificultad para concentrarse, dificultad para recordar, fatiga o falta de energía, confusión, somnolencia, pérdida de consciencia, problemas para dormir, estar más emocional, irritabilidad, tristeza y estar nervioso o ansioso.

Tal como se ha discutido en la presente memoria, la ghrelina puede usarse para tratar y/o reducir la gravedad de las lesiones cerebrales leves, tales como, por ejemplo, los traumatismos craneoencefálicos. La ghrelina puede proporcionarse o administrarse como se describe en la presente memoria. Tal como se describe en otra parte de la presente memoria, la ghrelina puede ser el único agente activo administrado a un sujeto. Por ejemplo, la ghrelina puede ser el único ingrediente activo para tratar la mBI o para reducir la gravedad de la mBI. En algunas realizaciones, se excluyen específicamente agentes activos adicionales. Por ejemplo, en algunos métodos de la presente memoria en los que se administra ghrelina, los métodos pueden excluir específicamente el uso o la administración de otros compuestos, tal como, por ejemplo, moduladores de receptor de andrógeno selectivos, moduladores de receptor de esteroide, ligando para un receptor de glucocorticoide, o un modulador de la ruta de señalización NF-κB.

En las realizaciones descritas en la presente memoria, debe entenderse que mBI es diferente y no es TBI severa.

En algunas realizaciones, la mBI o traumatismo craneoencefálico son diagnosticados mediante técnicas de imagen funcional no invasivas después del impacto. En algunas realizaciones, la mBI o traumatismo craneoencefálico son diagnosticados mediante determinación neurofisiológica después del impacto. En alguna realización, la mBI o traumatismo craneoencefálico son diagnosticados mediante determinación neuroanatómica del cerebro después del impacto. En alguna realización, la determinación neuroanatómica del cerebro después del impacto es a nivel celular o a nivel molecular. En alguna realización, la mBI o traumatismo craneoencefálico son diagnosticados mediante determinación del estado de alerta después del impacto. En algunas realizaciones, la mBI o traumatismo craneoencefálico pueden diagnosticarse y/o ser determinados mediante evaluación de una o más de estado de consciencia, determinación de estado de alerta, determinación de la orientación, determinación de la función cognitiva, determinación del estado psicológico, determinación neuropsicológica.

En algunas realizaciones, la mBI o traumatismo craneoencefálico son diagnosticados usando una Escala de Coma de Glasgow (GCS, del inglés "Glasgow Coma Scale") que tiene una puntuación de 13 a 15. En algunas realizaciones, la mBI o traumatismo craneoencefálico son diagnosticados usando una Escala de Coma de Glasgow (GCS) que tiene una puntuación de 13 o superior.

Por el contrario, a modo de ejemplo, la TBI grave generalmente tiene una puntuación de GCS de 8 o menos.

En algunas realizaciones, se emplea una inyección intravenosa de ghrelina. La ruta de administración debe asegurar que la forma bioactiva no degradada del péptido será la forma dominante en la circulación, que alcanzará y estimulará los receptores de ghrelina a fin de obtener el efecto máximo del tratamiento de ghrelina sobre la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en el plazo de aproximadamente 30 minutos desde el incidente que produce la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en el plazo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 horas desde el incidente que produce la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en el plazo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 6 horas desde el incidente que produce la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina es administrada en el plazo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 12 horas desde el incidente que produce la mBI.

Una dosis típica es una concentración equivalente de entre 10 ng y 10 mg de ghrelina por kg de peso corporal. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una concentración equivalente a entre aproximadamente 0,1 µg y aproximadamente 1 mg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 0,5 µg y aproximadamente 0,5 mg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 1,0 µg y aproximadamente 0,1 mg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 1,0 µg y aproximadamente 50 µg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 1,0 µg y aproximadamente 10 µg de ghrelina por kg de peso corporal. En algunas realizaciones, se reconstituyen aproximadamente 10 µg de polvo de ghrelina en aproximadamente 100 µL de una disolución salina estéril antes de la

administración. En algunas realizaciones, la disolución salina estéril está contenida en una bolsa IV para facilitar la administración.

5 En algunas realizaciones, la ghrelina y ghrelina o agonista de ghrelina se usan en un ensayo para determinar la capacidad de los compuestos candidatos para efectuar un aumento de la expresión de proteína desacoplante 2 (UCP-2) que incluye un aumento de la expresión de UCP-2 en las mitocondrias. En dichos ensayos, la ghrelina se usa como control para determinar la eficacia relativa del compuesto o compuestos candidatos. Los ensayos adecuados incluyen, a modo de ejemplo, solo ensayos competitivos para la unión de un compuesto o compuestos candidatos al receptor 1a de secretagogo de hormona del crecimiento (es decir, GHSR-1a) en presencia de ghrelina, así como cromatografía de afinidad frontal.

10 Cualquier ensayo de unión competitivo conocido en la técnica es aplicable para la unión de un compuesto o compuestos candidatos a receptor de secretagogo de hormona del crecimiento en presencia de ghrelina, usando tanto métodos heterogéneos como homogéneos, con uno o más reactivos, y con etiquetas y métodos de detección. A modo de ejemplo no limitativo, los métodos de detección pueden incluir métodos radioactivos; técnicas enzimáticas que usan enzimas intactas de muchos tipos, que incluyen, por ejemplo, β -galactosidasa, glucosa 6-fosfatasa deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano, o glucosa oxidasa; técnicas que usan fragmentos enzimáticos, tales como ensayos de complementación de β -galactosidasa; sistemas de detección que incluyen sustratos cromogénicos; métodos fluorescentes detectados mediante fluorescencia directa, fluorescencia resuelta en el tiempo, polarización de fluorescencia, o transferencia de energía de fluorescencia; y sistemas de detección químicos o de bioluminiscencia.

20 En algunas realizaciones, se puede usar la cromatografía de afinidad frontal (FAC) para el cribado de bibliotecas de compuestos. La premisa básica de la FAC es que la infusión continua de un compuesto permitirá el equilibrio del ligando entre los estados libre y ligado, donde se conoce la concentración precisa del ligando libre. La detección de compuestos que eluyen de la columna se puede llevar a cabo usando métodos tales como fluorescencia, radioactividad o espectrometría de masas de electropulverización. Los primeros dos métodos habitualmente usando una biblioteca marcada, o usan un compuesto indicador marcado, que compite con compuestos no marcados conocidos, desplazándose a tiempos más cortos si hay presente un ligando de unión más fuerte.

25 En algunas realizaciones, un paciente que padece pérdida de habilidades cognitivas o motoras debido a mBI y, en particular, a mBI repetitiva, puede ser monitorizado para terapia o progresión de dichas habilidades a través de la correlación de la evolución del nivel de ghrelina en el cerebro del paciente con el tiempo. Según disminuyen los niveles de ghrelina, se producirá un aumento de la necesidad de intervención.

30 Esta descripción también proporciona métodos para medir los niveles de ghrelina antes de comenzar un deporte o actividad, por ejemplo antes del inicio de la temporada de fútbol (o cualquier otro deporte o actividad, que incluye los enumerados en otro sitio de la presente memoria), y monitorizar los niveles de ghrelina durante la temporada para establecer si el jugador o participante está en un nivel no cualificado para jugar o participar. Los métodos pueden incluir el uso de cualquier técnica de medida o ensayo adecuada para medir los niveles de ghrelina, tal como a partir de la sangre, para determinar si los niveles en sangre se correlacionan con los niveles cerebrales.

35 Con el beneficio de las presentes realizaciones, el especialista en la técnica puede seleccionar cualquier técnica adecuada para medir los niveles de ghrelina. Una serie de ensayos conocidos en la técnica para medir un nivel de proteína u hormona son aplicables para medir los niveles de ghrelina. A modo de ejemplos no limitativos, ensayos tales como un test de azúcar en sangre extrayendo una gota de sangre y colocándola en un dispositivo, pueden determinar cuantitativamente la cantidad de ghrelina, o un ensayo que implica medir un rango de sustancias mediante las cuales se sigue una reacción química específica foto-métricamente con el tiempo, por ejemplo utilizando un anticuerpo específico para la ghrelina que se recubre sobre partículas de látex, y midiendo el aumento de turbidez que se produce cuando la ghrelina que está siendo medida promueve la agregación de las partículas de látex según se va produciendo la reacción entre la ghrelina y el anticuerpo anti-ghrelina. Esta medición del aumento de turbidez se puede realizar con un fotómetro convencional y usando los principios científicos asociados de las mediciones fotométricas. Después se compara la turbidez, dependiente de la concentración, con la producida por patrones establecidos en la técnica.

40 Otras metodologías compatibles, pero no limitativas, incluyen llevar a cabo una serie de reacciones ligadas a enzima en disolución, donde la ghrelina de la fracción de plasma de una muestra de sangre entera es alterada por una reacción promovida por enzima para derivar finalmente una sustancia coloreada a partir de los constituyentes de reacción incoloros. El color se desarrolla de un modo dependiente del tiempo y se monitoriza foto-métricamente. Esta medida del cambio de color también se puede realizar usando un fotómetro convencional usando los principios científicos asociados de las medidas fotométricas. Entonces se compara dicho cambio en la transmisión, dependiente de la concentración, con el producido por patrones.

45 En muestras de sangre entera, el hematocrito o porcentaje de glóbulos rojos en volumen de la muestra de sangre entera es una variable, y se puede tener en cuenta cuando se analizan los niveles de ghrelina presentes en el componente de plasma. Según aumenta el hematocrito de la sangre de un paciente, también lo hace el volumen de plasma en una muestra de volumen fijo, que es introducida en el dispositivo de ensayo, disminuye y viceversa. Puesto que es el componente de plasma el que porta exclusivamente los niveles de ghrelina que están siendo medidos,

entonces cuanto menor sea volumen de componente de plasma añadido a la mezcla de reacción, menor es la concentración resultante de la sustancia que está siendo medida en dicha mezcla de reacción, y el valor ensayado resultante y viceversa.

5 Cualquier análisis que produce una concentración de una sustancia en plasma de sangre entera puede ser corregido para variaciones en el hematocrito para dar lugar a una verdadera concentración en plasma. Puede ser muy útil en estas situaciones para medir dos sustancias, una de las cuales es la ghrelina objeto de la investigación y la otra que se considera un marcador mediante el cual estimar o normalizar el hematocrito de la muestra. La concentración de hemoglobina de la sangre entera, una vez que los glóbulos rojos son lisados, es directamente proporcional al volumen de glóbulos rojos en la muestra de sangre entera.

10 **Composiciones farmacéuticas**

La ghrelina descrita en la presente memoria se puede formular como una composición farmacéutica, p.ej., congelada súbitamente o liofilizada para almacenamiento y/o transporte. En algunas realizaciones, el compuesto puede estar en una composición con salino estéril, por ejemplo. En algunas realizaciones, se puede reconstituir una ghrelina en un salino como ese o en otro diluyente aceptable. En algunas realizaciones, se reconstituyen aproximadamente 10 µg de polvo de ghrelina en aproximadamente 100 µL de disolución de salino antes de la administración. Adicionalmente, la composición se puede administrar sola o en combinación con un vehículo, tal como un vehículo farmacéuticamente aceptable o un soporte biocompatible. Las composiciones de la invención pueden administrarse de forma convencional parenteralmente, mediante inyección, por ejemplo, intravenosamente, subcutáneamente o intramuscularmente. Otras formulaciones adicionales que son adecuadas para otros modos de administración incluyen formulaciones orales. Las formulaciones orales incluyen excipientes empleados normalmente tales como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato magnésico, sacarina sódica, celulosa, carbonato magnésico, y otros similares. Estas composiciones adoptan la forma de disoluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida o polvos, y contienen de aproximadamente un 10% a aproximadamente un 95% de ingrediente activo, de aproximadamente 25% a aproximadamente 70%.

25 Típicamente, las composiciones se administran de un modo compatible con la formulación de dosificación, y en una cantidad tal que es terapéuticamente efectiva para la enfermedad o afección a tratar. La cantidad a administrar depende del sujeto a tratar. Las cantidades precisas de la composición a administrar dependen del juicio del médico. Los regímenes adecuados para la administración inicial y para los recuerdos también son variables, pero típicamente consisten en una administración inicial seguida de administraciones subsiguientes.

30 En algunas realizaciones, se administran a un sujeto composiciones farmacéuticas adicionales para apoyar o potenciar las composiciones descritas en la presente memoria. Los diferentes aspectos de la presente invención implican la administración de una cantidad efectiva de la composición a un sujeto. Adicionalmente, dichas composiciones pueden administrarse en combinación con otros agentes. Dichas composiciones generalmente se disolverán o dispersarán en un vehículo farmacéuticamente aceptable o medio acuoso.

35 Las frases “farmacéuticamente aceptable” o “farmacológicamente aceptable” se refieren a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción inapropiada cuando se administran a un animal, o humano. Tal como se usa en la presente memoria, “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye cualquier y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y otros similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticas activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con los ingredientes activos, se contempla su uso en composiciones inmunogénicas y terapéuticas.

45 Los vehículos farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o rellenos sólidos inertes, disolución acuosa estéril y diversos disolventes orgánicos. Los ejemplos de vehículos sólidos son lactosa, terra alba, sacarosa, ciclodextrina, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato magnésico, ácido esteárico o éteres de celulosa de alquilos inferiores. Los ejemplos de vehículos líquidos son jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, fosfolípidos, ácidos grasos, aminos de ácido graso, polioxietileno o agua. Se pueden preparar aerosoles nasales o formulaciones para inhalación, por ejemplo, como disoluciones en salino, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de absorción para potenciar la biodisponibilidad, emplear fluorocarbonos, y/o emplear otros agentes solubilizantes o dispersantes.

55 Una cantidad efectiva de composición terapéutica se determina en base al objetivo pretendido. El término “dosis unitaria” o “dosificación” se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas para uso en un sujeto, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de la composición calculada para producir las respuestas deseadas discutidas anteriormente en asociación con su administración, es decir, la ruta y régimen apropiado. La cantidad a administrar, tanto de acuerdo al número de tratamientos y a la dosis unitaria, depende del resultado y/o la protección deseados. Las cantidades precisas de la composición también dependen del juicio del médico responsable y son particulares para cada individuo. Los factores que afectan a la dosis incluyen el estado físico y clínico del sujeto, la ruta de administración, el objetivo pretendido para el tratamiento (alivio de síntomas frente a cura), y la potencia, estabilidad y toxicidad de la composición particular. Tras la formulación, las disoluciones serán administradas de una

manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea terapéutica y profilácticamente efectiva. Las formulaciones son fácilmente administradas en una variedad de formas de dosificación, tal como el tipo de disoluciones inyectables descritas antes.

5 Las composiciones de ghrelina pueden producirse usando técnicas bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, una región de polipéptido de ghrelina puede sintetizarse y modificarse química o bioquímicamente. Las técnicas para la síntesis química de polipéptidos son bien conocidas en la técnica (Lee V. H. L. en "Peptide and Protein Drug Delivery", New York, N.Y., M. Dekker, 1990). Los ejemplos de técnicas para la síntesis bioquímica que implican la introducción de un ácido nucleico en una célula y la expresión de ácidos nucleicos se proporcionan en Ausubel F. M. et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley, 1987-1998, y Sambrook J. et al., "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, cada una de las cuales se incorporan a la presente memoria a modo de referencia. Otro ejemplo de técnica descrita en la Pat. de EE.UU. nº 5.304.489, incorporada a la presente memoria a modo de referencia, es el uso de un mamífero transgénico que presenta mutaciones dirigidas a la glándula mamaria, que dan como resultado la producción y secreción de ghrelina sintetizada en la leche del mamífero transgénico.

15 La ghrelina también puede ser producida recombinantemente usando métodos de expresión rutinarios conocidos en la técnica. El polinucleótido que codifica la ghrelina deseada (p.ej., secuencia primaria de ghrelina tal como se muestra en la SEQ ID NO. 1) se liga operativamente a un promotor en un vector de expresión adecuado para cualquier hospedante conveniente. Se usan sistemas hospedantes tanto eucarióticos como procarióticos para formar la ghrelina recombinante. A continuación la ghrelina es aislada de las células lisadas o del medio de cultivo y se purifica hasta el punto necesario para su uso pretendido. La ghrelina aislada puede ser modificada o modificada adicionalmente en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 mediante acilación con ácido graso *in vivo* o *in vitro*, comprendiendo la última condición de reacción de acilación *in vitro* un tioéster de ácido graso, ghrelina y microsomas que comprenden ghrelina O-acil transferasa (GOAT). En algunas realizaciones, la acil ghrelina modificada con ácido graso en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 es aislada de los componentes celulares o de reacción.

25 Las composiciones de ghrelina pueden incluir sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de las mismas. Dichas sales serán aquellas que son aceptables en su aplicación para un uso farmacéutico, lo que significa que la sal retendrá la actividad biológica del compuesto de partida y la sal no tendrá efectos inapropiados o perjudiciales en su aplicación y uso en el tratamiento de enfermedades. Las sales farmacéuticamente aceptables se preparan de un modo estándar.

30 Las composiciones de ghrelina pueden administrarse en la forma de una sal de metal alcalino o metal alcalino térreo de la misma, concurrentemente, simultáneamente, o junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, especialmente y en la forma de una composición farmacéutica de la misma, a través de diversas rutas (p.ej., oral, rectal, parenteral, subcutánea) en una cantidad efectiva.

35 **Administración de composiciones**

La presente descripción proporciona un método para reducir la incidencia o la gravedad de la mBI en un sujeto, que comprende la administración al sujeto de una cantidad efectiva de un compuesto que comprende ghrelina, reduciendo de este modo la incidencia o gravedad de la mBI. La presente descripción también proporciona métodos para reducir la incidencia o la gravedad de la mBI en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de ghrelina, reduciendo con ello la incidencia o la gravedad de la mBI. Esta invención proporciona además métodos para reducir la cantidad de tiempo necesario para recuperarse de una lesión cerebral leve, que comprende administrar a un paciente que padece de una lesión cerebral leve una cantidad terapéuticamente efectiva de ghrelina dentro de un determinado período (p.ej., 72 horas) desde la lesión cerebral leve.

45 En algunas realizaciones, la ghrelina se administra antes de un evento o actividad con un potencial de aparición de mBI. En algunas realizaciones, el evento o actividad es la participación en un evento deportivo, entrenamiento físico o combate. En algunas realizaciones, el evento o actividad es béisbol, baloncesto, rugby, fútbol americano, hockey, lacrosse, fútbol, ciclismo, boxeo, gimnasia, un arte marcial, un arte marcial mixto, un ejercicio militar, carreras de automóvil, esquí en nieve, snowboard, patinaje en hielo, monopatín, motocross, ciclismo de montaña, motociclismo y pilotaje de quads, y similares. En algunas realizaciones, el sujeto no ha sufrido una mBI. En algunas realizaciones, el sujeto presenta una historia de mBI o es susceptible a una mBI.

55 En algunas realizaciones, una ruta de administración para una ghrelina se selecciona entre: administración bucal, administración sublingual, administración transdérmica, inhalación e inyección sin aguja, tal como usando métodos desarrollados por PowderJet. Para la inhalación, la ghrelina puede formularse usando métodos conocidos por los especialistas en la técnica, por ejemplo un aerosol, polvo seco o solubilizado tal como en microgotas, en un dispositivo diseñados para dicha administración (tal como los dispositivos disponibles comercialmente y las tecnologías de formulación de Aradigm Corp. (Hayward, Calif.), Alkermes, Inc. (Cambridge, Mass.), Nektar Therapeutics (San Carlos, Calif.), Windgap Medical, Inc. (p.ej., Abiliject™) o MannKind Corporation (Valencia, Calif.; p.ej., las tecnologías Technosphere®, Dreamboat® y Criket™)).

En algunas realizaciones, la ghrelina se administra a través de un polvo o formulación estable, en donde la ghrelina se formula en una forma de dosis seleccionada del grupo que consiste en: líquido, brebaje, bebida deportiva medicada, polvo, cápsula, comprimido masticable, cápsula, comprimido tragable, comprimido bucal, pastilla soluble, pastilla, chicle, disolución, suspensión, spray, supositorio, tintura, decocción, infusión, y una combinación de los mismos.

5 En algunas realizaciones, la ghrelina se administra vía inhalación, oral, intravenosa, parenteral, bucal, subcutánea, transdérmica, parche, sublingual, intramuscular o intranasal. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una única dosis. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en dosis múltiples. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una dosis entre 10 ng/kg al día y 10 mg/kg al día (o cualquier sub valor o sub rango entre medias, p.ej., de 0,1 µg/kg al día a 5 mg/kg al día). En algunas realizaciones, se administra un régimen de dosificación
10 (2 µg/kg, por ejemplo administrados intravenosamente) en un plazo de 8 horas desde la lesión. La dosificación es una dosis de una sola vez con posible dosificación recurrente en base a los síntomas del paciente.

15 La administración nasal es una ruta no invasiva para agentes terapéuticos dirigidos al sistema nervioso central debido a la relativamente alta permeabilidad de la membrana del epitelio nasal, evitando la eliminación de primera paso hepático. La administración nasal es fácil de administrar y permite la auto-medicación del individuo. La eliminación mucociliar nasal es un factor limitativo importante para la administración nasal de fármacos. La eliminación mucociliar nasal limita de forma grave el tiempo permitido para que se produzca la absorción del fármaco y puede evitar de manera efectiva una administración sostenida de fármaco. Sin embargo, se ha documentado que la administración nasal de determinadas hormonas ha dado como resultado una administración más completa. En algunas realizaciones, la presente descripción utiliza administración nasal de ghrelina.

20 En algunas realizaciones, una composición que comprende ghrelina que es adecuada para administración nasal puede incluir uno o más polímeros bioadhesivos. Algunos polímeros tales como carbopol, pueden adherirse a la mucosa nasal durante periodos de tiempo razonablemente prolongados, previniendo la eliminación nasal rápida. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de polímero bioadhesivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 0,1%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de polímero bioadhesivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 0,5%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de polímero bioadhesivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 1%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de polímero adhesivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 5%.

30 En algunas realizaciones, una composición que comprende ghrelina que es adecuada para administración nasal puede incluir uno o más tensioactivos. Los tensioactivos que pueden usarse en las composiciones de la presente invención incluyen diferentes polietilen glicoles (PEGs) y derivados de polietilen glicol. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de tensioactivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 1%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de tensioactivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 2%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de tensioactivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 5%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de tensioactivo en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 10%.

40 En algunas realizaciones, una composición que comprende ghrelina que es adecuada para administración nasal puede incluir uno o más agentes tamponantes para controlar el pH de la composición. Los agentes tamponantes que pueden usarse en las composiciones de la presente invención incluyen ácido cítrico y dihidrato de citrato sódico. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de agente tamponante en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 0,001%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de agente tamponante en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 0,005%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de agente tamponante en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 0,01%. En algunas realizaciones, una composición adecuada para administración nasal, el porcentaje de agente tamponante en una disolución adecuada de ghrelina es de aproximadamente 0,1%.

50 En algunas realizaciones, la osmolaridad de la composición que comprende ghrelina puede estar controlada por propileno glicol. Cuando una composición que comprende ghrelina es un gel, la composición puede incluir un agente gelificante tal como hidroxilpropil celulosa, carbopols, carboximetilcelulosa y etilcelulosa. En algunas realizaciones, la composición que comprende ghrelina puede incluir un conservante tal como ácido etilendiamintetraacético (EDTA) y cloruro de benzalconio. Los ejemplos no limitativos de disolventes adecuados para las composiciones de la presente invención incluyen agua, aceite vegetal y etanol. En algunas realizaciones, el uso de un inhalador nasal reduce la concentración requerida para tratar la mBI y prevenir efectos secundarios no deseados.
55

60 En algunas realizaciones, la administración nasal es un medio más práctico de administración en unas instalaciones militares o deportivas. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para mejorar el estándar de cuidados para prevenir o tratar la mBI en personal militar o atletas mediante un agente terapéutico intranasal profiláctico y post-agudo. En algunas realizaciones, el ingrediente activo del agente terapéutico es ghrelina. En algunas

realizaciones, la ghrelina puede ser parte de una formulación que se administra intranasalmente para facilitar el acceso y el uso en el campo y para minimizar la dosis requerida, limitando adicionalmente los efectos secundarios. El uso de ghrelina como agente terapéutico puede reducir la aparición de malos resultados tras la lesión, especialmente trastornos neuropsicológicos y neurodegenerativos que incluyen Encefalopatía Traumática Crónica (CTE) y Trastorno de Estrés Post-Traumático (PTSD) ligado a lesiones cerebrales repetitivas, una preocupación creciente hoy día para el personal militar y los atletas.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones que comprenden ghrelina que son aplicadas como gotas nasales, gotas oculares y sprays nasales. Para la aplicación nasal, se puede usar una disolución o suspensión que se aplica como spray, es decir, en la forma de una dispersión fina en aire o por medio de una botella o bomba de pulverización. Los vehículos no tóxicos farmacéuticamente aceptables adecuados para uso en un sistema de administración de fármacos para administración intranasal de ghrelina pueden incluir, aunque sin limitación, vehículos usados para formulaciones farmacéuticas nasales para otros esteroides, tal como estrógeno.

En algunas realizaciones, las formulaciones de la presente invención pueden contener un conservante y/o estabilizante. Éstos incluyen, aunque sin limitación, ácido etileno diamino tetraacético (EDTA) y sus sales alcalinas (por ejemplo, sales dialcalinas tales como sal disódica, sal cálcica, sal de calcio-sodio), p-hidroxibenzoatos de alquilo inferior, clorhexidina (por ejemplo, en la forma de acetato o gluconato) y borato de fenil mercurio. Otros conservantes adecuados son: compuestos de amonio cuaternario farmacéuticamente útiles, por ejemplo cloruro de cetilpiridinio, bromuro de tetradeciltrimetil amonio, generalmente conocido como "cetrimida", cloruro de N-bencil-N,N-dimetil-2-{2-[4-(2,4,4,-trimetilpentan-2-il)fenoxi]etoxi}etanaminio, generalmente conocido como "cloruro de bencetonio" y cloruro de miristil picolinio. Cada uno de estos compuestos puede usarse en una concentración de aproximadamente 0,002 a 0,05%, por ejemplo de aproximadamente 0,02% (peso/volumen en las formulaciones líquidas, en otros casos peso/peso). En algunas realizaciones, los conservantes entre los compuestos de amonio cuaternario son, aunque sin limitación, cloruro de alquilbencil dimetil amonio y mezclas de los mismos, por ejemplo, cloruro de benzalconio.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una estrategia de tratamiento para atletas que han sufrido una mBI que puede no solo reducir el tiempo requerido para el regreso seguro al juego, sino también proporcionar protección frente a futuras mBI.

Las administraciones intranasales (IN) pueden presentar menos efectos secundarios que las administraciones intraperitoneales (IP) debido a un cambio en la investigación farmacéutica de sprays, gotas y geles nasales: la ruta nasal de administración de fármacos continúa recibiendo una creciente atención de los científicos farmacéuticos y de los médicos debido a que esta ruta sorteando la eliminación de primer paso hepático asociada a la administración oral, es fácilmente accesible y adecuada para la auto-medicación. La administración intranasal también se adecúa particularmente a fármacos dirigidos al cerebro, ya que determinadas disoluciones de fármacos pueden sortear la barrera hematoencefálica (BBB) y alcanzar el sistema nervioso central (CNS) directamente desde la cavidad nasal – la captación de dichos fármacos depende de su peso molecular y su lipofiliidad. La administración intranasal aumenta los niveles cerebrales del fármaco, a la vez que reduce las concentraciones sistémicas y por tanto debería dar lugar a menos efectos secundarios dañinos.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para administrar profilácticamente una composición que comprende ghrelina a individuos que participan en actividades, tales como deportes de contacto o que sirven en las fuerzas armadas, en donde existe una posibilidad de que los individuos sufran una mBI. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar de forma precisa individuos que han sufrido una mBI. Para tratamientos agudos, la administración nasal de la composición que comprende ghrelina puede reducir el tiempo de captación y aumentar la concentración de ghrelina que alcanza la sangre o el cerebro.

Para administración oral, los excipientes incluyen, p.ej., grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato magnésico, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato magnésico, y otros similares. En polvos, el vehículo es un sólido dividido finamente, que está mezclado con el componente activo dividido finamente. En los comprimidos, el componente activo se mezcla con el vehículo que tiene la capacidad de unión necesaria en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseados. Los polvos y comprimidos contienen entre uno y aproximadamente setenta por ciento de componente activo. Los vehículos adecuados son carbonato magnésico, estearato magnésico, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de punto de fusión bajo, manteca de cacao, y otros similares. El término "preparación" pretende incluir una composición que comprende un compuesto activo descrito en la presente memoria con material encapsulante como vehículo que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin vehículos, está rodeado por un vehículo, que está en asociación con él. De forma similar, se incluyen pastillas y pastillas solubles. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, pastillas y pastillas solubles pueden estar como formas sólidas adecuadas para administración oral.

También se incluyen las preparaciones en forma sólida, que se pretende que se conviertan, poco antes del uso, en preparaciones en forma líquida para administración oral. Dichas formas líquidas incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromatizantes, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes, y otros similares.

Otras formas adecuadas para la administración oral incluyen preparaciones en forma líquida que incluyen emulsiones, jarabes, elixires, disoluciones acuosas, suspensiones acuosas, pasta de dientes, dentífrico en gel, chicle, o preparaciones en forma sólida que se pretende que se conviertan poco antes del uso en preparaciones en forma líquida. Las emulsiones se pueden preparar en disoluciones en disoluciones acuosas de propileno glicol, o pueden contener agentes emulsionantes tales como lecitina, monooleato de sorbitán o goma acacia. Las disoluciones acuosas se pueden preparar disolviendo el componente activo en agua y añadiendo colorantes, aromatizantes, agentes estabilizantes y espesantes adecuados. Las suspensiones acuosas se pueden preparar dispersando el componente dividido finamente en agua con material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, y otros agentes de suspensión bien conocidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones, y pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromatizantes, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes, y otros similares.

La administración de ghrelina se basa en regímenes de dosificación adecuados que tienen en cuenta factores bien conocidos en la técnica, que incluyen, p.ej., el tipo de sujeto que recibe la dosis; edad, peso, sexo y condición médica del sujeto; la ruta de administración; la función renal y hepática del sujeto; el efecto deseado; y el compuesto particular empleado. La precisión óptima para alcanzar las concentraciones de fármaco en el rango que da lugar a eficacia sin toxicidad requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad del fármaco en las zonas diana. Esto implica una consideración de la distribución, equilibrio y eliminación de un fármaco.

En algunas realizaciones, la composición de ghrelina se administra subcutáneamente. En algunas realizaciones, la composición de ghrelina se administra como un bolo, en donde la forma de administración puede ser cualquier forma parenteral adecuada.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles inyectables, acuosas y no acuosas, así como polvos estériles para ser reconstituídos en disoluciones o dispersiones inyectables estériles antes de su uso. Otras formas de administración adecuadas incluyen supositorios, sprays, pomadas, cremas, geles, inhalantes, parches dérmicos, implantes, píldoras, comprimidos, pastillas y cápsulas.

Una dosificación típica no limitativa está en una concentración equivalente a entre 10 ng y 10 mg de ghrelina por kg de peso corporal. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en una concentración equivalente a entre aproximadamente 0,1 µg y aproximadamente 1 mg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 0,5 µg y aproximadamente 0,5 mg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 1,0 µg y aproximadamente 0,1 mg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 1,0 µg y aproximadamente 50 µg de ghrelina por kg de peso corporal, tal como entre aproximadamente 1,0 µg y aproximadamente 10 µg de ghrelina por kg de peso corporal.

En algunas realizaciones, se emplea una inyección intravenosa de ghrelina. La ruta de administración debe asegurar que la forma bioactiva no degradada del péptido será la forma predominante en circulación, que alcanzará y estimulará los receptores de ghrelina a fin de obtener el máximo efecto del tratamiento con ghrelina de la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo de aproximadamente 30 minutos desde el incidente que produce la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 horas desde el incidente que produce la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 6 horas desde el incidente que produce la mBI. En algunas realizaciones, la ghrelina se administra en un plazo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 12 horas desde el incidente que produce la mBI.

Las composiciones de ghrelina se pueden formular para administración parenteral (p.ej., mediante inyección, por ejemplo inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en formas de dosis unitaria en ampollas, jeringas pre-rellenadas, infusión de volumen pequeño o en recipientes multi-dosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos, por ejemplo disoluciones en polietileno glicol acuoso. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo, obtenido mediante aislamiento aséptico de un sólido estéril o mediante liofilización desde disolución para constitución antes de su uso con un vehículo adecuado, p.ej., agua estéril, libre de pirógeno. Las disoluciones acuosas deberían estar tamponadas de forma adecuada si es necesario, y el diluyente líquido debe hacerse primero isotónico con sustrato salino o glucosa. Las disoluciones acuosas son particularmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. Los medios acuosos estériles empleados se encuentran todos fácilmente disponibles mediante técnicas estándar conocidas por los especialistas en la técnica.

Las formas de dosificación farmacéutica adecuadas para inyección o infusión pueden incluir disoluciones o dispersiones acuosas estériles que comprenden el ingrediente activo, que se adaptan para administración mediante encapsulación en liposomas. En todos los casos, la forma de dosificación final debe ser estéril, fluida y estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. Las disoluciones estériles inyectables se preparan incorporando ghrelina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los ingredientes adicionales enumerados anteriormente, según sea requerido, seguido, p.ej., de esterilización por filtración.

Los compuestos de ghrelina también pueden administrarse tópicamente. Las regiones para administración tópica incluyen la superficie de la piel y también los tejidos de membrana mucosa del recto, nariz, boca y garganta. Las composiciones para administración tópica a través de la piel y de las membranas mucosas no deberían dar lugar a signos de irritación, tal como hinchamiento o rojez.

5 Los compuestos de ghrelina pueden incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable adaptado para administración tópica. De esta manera, la composición puede adoptar la forma de, por ejemplo, una suspensión, disolución, pomada, loción, crema, espuma, aerosol, spray, supositorio, implante, inhalante, comprimido, cápsula, polvo seco, jarabe, bálsamo o pastilla. Los métodos para preparar dichas composiciones son bien conocidos en la industria farmacéutica.

10 Los compuestos de ghrelina se pueden administrar transdérmicamente, lo que implica la administración de un agente farmacéutico mediante pasaje percutáneo del fármaco a la circulación sistémica del paciente. Las zonas de la piel incluyen regiones anatómicas para administrar transdérmicamente el fármaco e incluyen el antebrazo, el abdomen, el pecho, la espalda, las nalgas, y otros similares. La administración transdérmica se lleva a cabo exponiendo una fuente del compuesto activo a la piel de un paciente durante un periodo de tiempo extendido. Los parches transdérmicos pueden añadir la ventaja de proporcionar una administración controlada de un compuesto complejo para el cuerpo.

15 Dichas formas de dosis pueden prepararse disolviendo, dispersando o incorporando de otro modo el compuesto de ghrelina en un medio apropiado, tal como un material de matriz elastomérica. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o un gel.

20 Kits

Las composiciones de ghrelina se pueden administrar solas o en combinación con vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables, tanto en dosis individuales como en dosis múltiples. Las formulaciones pueden presentarse de forma conveniente en forma de dosificación unitaria mediante métodos conocidos por los especialistas en la técnica. Los compuestos se pueden proporcionar en un kit. Dicho kit típicamente contiene un compuesto activo

25 en formas de dosificación para administración. El kit comprende una cantidad de unidades de dosificación que corresponde al régimen de dosificación relevante. En alguna realización, el kit comprende una composición farmacéutica que comprende un compuesto de ghrelina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable, presentando dicho kit múltiples unidades de dosificación. Las unidades de dosificación comprenden una cantidad de ghrelina o de una sal de la misma equivalente a entre

30 aproximadamente 0,3 µg y aproximadamente 600 mg de ghrelina, tal como entre aproximadamente 2,0 µg y aproximadamente 200 mg de ghrelina, tal como entre aproximadamente 5,0 µg y aproximadamente 100 mg de ghrelina, tal como entre aproximadamente 10 µg y aproximadamente 50 mg de ghrelina, tal como entre aproximadamente 10 µg y aproximadamente 5 mg de ghrelina, tal como entre aproximadamente 10 µg y aproximadamente 1,0 mg de ghrelina.

35 El kit contiene instrucciones que indican el uso de la forma de dosificación para alcanzar un efecto deseable y la cantidad de forma de dosificación a tomar a lo largo de un periodo de tiempo especificado. Por consiguiente, en una realización el kit comprende instrucciones para administrar la composición farmacéutica. En particular, dichas instrucciones pueden incluir instrucciones que se refieren a la administración de dicha composición farmacéutica tras la mBI o el traumatismo craneoencefálico, o como mucho aproximadamente 12 horas después del incidente que causó

40 la mBI o el traumatismo craneoencefálico, tal como mucho aproximadamente 6 horas después del incidente que causó la mBI o el traumatismo craneoencefálico, tal como mucho aproximadamente 3 horas después del incidente que causó la mBI o el traumatismo craneoencefálico, tal como mucho aproximadamente 1 hora después del incidente que causó la mBI o el traumatismo craneoencefálico, tal como mucho aproximadamente 30 minutos después del incidente que causó la mBI o el traumatismo craneoencefálico, tal como mucho aproximadamente 10 minutos después del incidente

45 que causó la mBI o el traumatismo craneoencefálico, tal como mucho aproximadamente 5 minutos después del incidente que causó la mBI o el traumatismo craneoencefálico.

EJEMPLOS

Los siguientes Ejemplos pretenden ilustrar adicionalmente determinadas realizaciones de la descripción y no se pretende que limiten su alcance.

50 EJEMPLO 1

La administración de ghrelina reduce el estallido oxidativo en células inflamatorias tras una mBI. Puesto que no existe un modelo animal bien aceptado para los traumatismos craneoencefálicos, como modelo de la mBI se usa una lesión cerebral muy pequeña que imite estrechamente la mBI. Se administra 0,3 mg/kg de buprenorfina a ratones C57/B6 anestesiados con un 5% de isoflurano en oxígeno (1,7 L/min) subcutáneamente para analgesia antes de infligir la

55 lesión cerebral leve. La anestesia se evaluó mediante reflejo de pinchazo en la zarpa. Tras crear un agujero limpio a través de la dura con un taladro dental, se usa una lesión con un impactador cortical controlado (CCI) para crear una herida 1 mm lateral y posterior al bregma (5,0 mm/s a una profundidad de 1,0 mm).

Los animales son separados en tres grupos de tratamiento: 1) simulados, 2) mBI, y 3) mBI más ghrelina. Se puede ensayar una variedad de dosis dependiendo de la ghrelina particular. La ghrelina se puede obtener por ejemplo en Phoenix Pharmaceuticals, Inc. (Burlingame, CA). Por ejemplo, de 1 a 50 μg en uno o más puntos temporales. A modo de ejemplo, el tratamiento con ghrelina subcutánea: 1 dosis de 10 μg tras la mBI y una dosis adicional de 10 μg 1 hora después. Se recolectó el tejido cerebral a 2-8 horas, preferiblemente aproximadamente 6 horas post-lesión. Se miden las especies de oxígeno reactivo (ROS) a través del estallido oxidativo de neutrófilos en leucocitos aislados del tejido cerebral como se muestra en la Fig. 1, que presenta el principio de ensayo de estallido oxidativo dentro de las células inflamatorias. La dihidrorrodamina 123 (DHR 123) se difunde a través de la membrana celular. Cuando se encuentra con especies de oxígeno reactivas (ROS), la DHR 123 es oxidada y fluoresce en verde. Entonces se mide la fluorescencia y se presenta como unidades de fluorescencia arbitrarias (AFU), en donde una mayor intensidad significa un mayor estallido oxidativo y, por lo tanto, una mayor concentración o cantidad de ROS. Las células cerebrales son aisladas (por ejemplo mediante colagenasa Dispasa/ADNasa y un gradiente Percoll con resuspensión de la partícula usando 100 μL de HBSS). El estallido oxidativo, que es un marcador para ROS, se puede medir mediante citometría de flujo (p.ej., canal FL1 con un láser de 488 nm).

El estallido oxidativo aumenta en los animales tras mBI en comparación con el control. El número de animales fue de tres en cada grupo ($n=3$ animales en cada grupo). El tratamiento con ghrelina redujo el estallido oxidativo en comparación con el animal no tratado con mBI (Fig. 2). La Fig. 2 muestra que la ghrelina subcutánea reduce el estallido oxidativo en células inflamatorias tras mBI. Se puede cuantificar el impacto en la mBI cuando se administra la ghrelina, por ejemplo, a través de unidades de fluorescencia arbitrarias (AFU) (Fig. 3). La Fig. 3 muestra la cuantificación del estallido oxidativo de cerebro entero ipsilateral tras una BI leve. El estallido oxidativo aumentó en los animales tras la mBI en comparación con el control. El tratamiento con la ghrelina redujo el estallido oxidativo en comparación con la mBI no tratada (Fig. 2 y Fig. 3).

Tal como se cuantifica en la Fig. 3, el estallido oxidativo aumentó en los animales tras la mBI en comparación con el control simulado ($7963 \text{ AFU} \pm 2900$ (BI leve) frente a $4624 \text{ AFU} \pm 1858$ (simulado); $n=5$ animales en cada grupo). El tratamiento con ghrelina redujo el estallido oxidativo en comparación con mBI ($7963 \text{ AFU} \pm 2900$ (BI leve) frente a $3257 \text{ AFU} \pm 1031$ (BI leve + ghrelina (2 dosis)); valor-p de 0,048 usando el test de t de Student).

EJEMPLO 2

La capacidad de unión de la ghrelina a GHS-R puede determinarse a través de un ensayo de unión. Se preparan células de línea celular de ovario de hámster chino, CHO-K1, para expresar el receptor de GHS recombinante humano.

Las células se pueden preparar mediante cualquier método adecuado. Uno de tales métodos puede incluir: el ADNc correspondiente a receptor de secretagogo de hormona del crecimiento humano (hGHS-R1a, o receptor de ghrelina) es clonado mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) usando ARN de cerebro humano como plantilla (Clontech, Palo Alto, Calif.), cebadores específicos de gen flanqueando la secuencia codificadora de longitud completa de hGHS-R, (S: 5'-ATGTGGAACGCGACGCCAGCGAAGAG-3' (SEQ ID NO: 2) y AS: 5'-TCATGTATTAATACTAGATTCTGTCCA-3' (SEQ ID NO: 3), y el kit de PCR Advantage 2 (Clontech). El producto de la PCR es clonado en el vector pCR2.1 usando el kit de clonación Original TA (Invitrogen, Carlsbad, Calif.). El GHS-R humano de longitud completa es subclonado en el vector de expresión de mamífero pcDNA 3.1 (Invitrogen). El plásmido es transferido a la línea celular de ovario de hámster chino, CHO-K1 (American Type Culture Collection, Rockville, Md.), mediante el método de fosfato cálcico (Wigler, M. et al., Cell 11, 223, 1977). Los clones de célula individual que expresan de forma estable hGHS-R se obtienen seleccionando las células transfectadas crecidas en anillos de clonación en medio RPMI 1640 suplementado con un 10% de suero bovino fetal y piruvato sódico 1 mM que contenía 0,8 mg/mL de G418 (Gibco, Grand Island, N.Y.).

El ensayo de unión de GHS-R se lleva a cabo homogeneizando las células CHO-K1 que expresan el receptor GHS recombinante humano en 20 mL de Tris-HCl 50 mM enfriado en hielo con un Brinkman Polytron (Westbury, N.Y.). Los homogenatos se lavan dos veces mediante centrifugación (39.000 g/10 min), y las partículas finales son resuspendidas en Tris-HCl 50 mM, que contenía MgCl_2 2,5 mM, y un 0,1% de BSA. Para el ensayo de unión a GHS-R, se incuban alícuotas (0,4 mL) con (^{125}I)ghrelina 0,05 nM (~2000 Ci/mmol, Perkin Elmer Life Sciences, Boston, Mass.), con y sin 0,05 mL de péptidos de ensayo competitivo no marcados. Después de una incubación de 60 min (4°C), la (^{125}I)ghrelina ligada es separada de la libre mediante filtración rápida a través de filtros GF/C (Brandel, Gaithersburg, Md.), que habían sido empapados previamente en polietilenimina al 0,5%/BSA al 0,1%. Los filtros se lavan a continuación tres veces con alícuotas de 5 mL de Tris-HCl 50 mM y albúmina de suero bovino al 0,1%, y se realiza el conteo de la radioactividad ligada atrapada en los filtros mediante espectrometría gamma (Wallac LKB, Gaithersburg, Md.). La unión específica se define como la (^{125}I)ghrelina total ligada menos la ligada en presencia de ghrelina 1000 nM.

EJEMPLO 3

La actividad funcional de la ghrelina es examinada usando ensayos de actividad funcional de GHS-R *in vitro* e *in vivo*. La unión de ghrelina a receptor GSH puede mediar en la movilización intracelular de iCa^{2+} *in vitro*. También se puede evaluar la ghrelina para determinar su capacidad para estimular o suprimir la liberación de hormona del crecimiento (GH) *in vivo*.

- 5 Se pueden usar células que expresan receptor GSH humano. Por ejemplo, las células CHO-K1 que expresan el receptor GSH humano son recolectadas incubando en una disolución salina tamponada de EDTA al 0,3%/fosfato (25°C), y son lavadas dos veces mediante centrifugación. Las células lavadas son resuspendidas en disolución salina tamponada de Hank (HBSS) para carga del indicador de Ca^{2+} fluorescentes Fura-2AM. Se incubaron suspensiones celulares de aproximadamente 10^6 células/mL con Fura-2AM 2 μM durante 30 min a aproximadamente 25°C. El Fura-2AM no cargado es eliminado mediante centrifugación dos veces en HBSS, y las suspensiones finales son transferidas a un espectrofluorómetro (Hitachi F-2000) equipado con un mecanismo de agitación magnética y un recipiente cubeta de temperatura regulada. Tras equilibrar a 37°C, se añade la ghrelina para la medida de la movilización de Ca^{2+} intracelular. Las longitudes de onda de excitación y emisión pueden ser, por ejemplo, 340 y 510 nm, respectivamente.
- 10 La ghrelina puede ser evaluada en términos de su capacidad para estimular o suprimir la liberación de hormona del crecimiento (GH) *in vivo* (Deghenghi, R., et al., *Life Sciences*, 1994, 54, 1321-1328; Solicitud de Patente Internacional n° WO 02/08250). Así, por ejemplo, a fin de determinar la capacidad de la ghrelina para estimular la liberación de GH *in vivo*, el compuesto puede ser inyectado subcutáneamente en ratas de 10 días de edad con una dosis de, p.ej., 300 mg/kg. La GH en circulación se puede determinar, p.ej., a los 15 minutos de la inyección y compararse con los niveles
- 15 de GH en ratas inyectadas con un control de disolvente.

LISTA DE SECUENCIAS

- <110> Bansal, Vishal
- 5 <120> MÉTODO DE TRATAMIENTO DE LESIÓN CEREBRAL LEVE
- <130> 30423.43US01
- <150> US 61/936,143
- 10 <151> 05-02-2014
- <160> 9
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1
- <211> 28
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- 20 <220>
- <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- <222> (2)..(2)
- <223> acilado con un grupo octanoilo (-CO-(CH₂)₆-CH₃)
- 25 <220>
- <221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
- <222> (3)..(3)
- <223> acilado con un grupo octanoilo (-CO-(CH₂)₆-CH₃)
- 30 <400> 1
- | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Ser | Ser | Phe | Leu | Ser | Pro | Glu | His | Gln | Arg | Val | Gln | Gln | Arg | Lys |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
-
- | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Ser | Lys | Lys | Pro | Pro | Ala | Lys | Leu | Gln | Pro | Arg |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | |
- <210> 2
- <211> 27
- <212> DNA
- 35 <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> cebador específico de gen flanqueando la secuencia codificadora de longitud completa de hGHS-R
- 40 <400> 2
- atgtggaacg cgacgcccag cgaagag 27
- <210> 3
- <211> 27
- 45 <212> DNA
- <213> Secuencia Artificial
- <220>
- <223> cebador específico de gen flanqueando la secuencia codificadora de longitud completa de hGHS-R
- 50 <400> 3
- tcatgtatta atactagatt ctgtcca 27
- <210> 4
- 55 <211> 20
- <212> PRT
- <213> Tilapia mossambica
- <220>

ES 2 714 911 T3

<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (3)..(3)
<223> acilado con un grupo octanoilo(-CO-(CH₂)₆-CH₃)

5 <400> 4
Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Ser Gln Lys Pro Gln Asn Lys Val Lys
1 5 10 15

Ser Ser Arg Ile
20

<210> 5
<211> 28
<212> PRT
<213> Mus musculus

10

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (3)..(3)
<223> acilado con un grupo octanoilo(-CO-(CH₂)₆-CH₃)

15

<400> 5
Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Gln Arg Lys
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

20

<210> 6
<211> 28
<212> PRT
<213> Sus barbatus

25

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (3)..(3)
<223> acilado con un grupo octanoilo(-CO-(CH₂)₆-CH₃)

30

<400> 6
Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Val Gln Gln Arg Lys
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Ala Ala Lys Leu Lys Pro Arg
20 25

35

<210> 7
<211> 28
<212> PRT
<213> Platyrhinus helleri

40

<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (3)..(3)
<223> acilado con un grupo octanoilo(-CO-(CH₂)₆-CH₃)

<400> 7
Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Ala Gln Gln Arg Lys
1 5 10 15

45

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

ES 2 714 911 T3

5
<210> 8
<211> 26
<212> PRT
<213> Gallus gallus

10
<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (3)..(3)
<223> acilado con un grupo octanoilo(-CO-(CH2)6-CH3)

<400> 8
Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Thr Tyr Lys Asn Ile Gln Gln Gln Lys
1 5 10 15

Asp Thr Arg Lys Pro Thr Ala Arg Leu His
20 25

15
<210> 9
<211> 28
<212> PRT
<213> Canis familiaris

20
<220>
<221> CARACTERÍSTICA MISCELÁNEA
<222> (3)..(3)
<223> acilado con un grupo octanoilo(-CO-(CH2)6-CH3)

<400> 9
Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Leu Gln Gln Arg Lys
1 5 10 15

25
Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg
20 25

REIVINDICACIONES

1. Ghrelina para uso en el tratamiento de un traumatismo craneoencefálico en un sujeto, en donde la ghrelina se administra al sujeto en una cantidad suficiente para tratar el traumatismo craneoencefálico, en donde cuando se administra, no se administra un modulador de receptor de andrógeno selectivo.
- 5 2. Ghrelina para uso en el tratamiento de lesión cerebral traumática leve (mTBI) en un sujeto, en donde la ghrelina se administra al sujeto en una cantidad suficiente para tratar la mTBI en el sujeto, en donde cuando se administra, no se administra un modulador de receptor de andrógeno selectivo.
- 10 3. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1 o 2, en donde la ghrelina se administra en una cantidad suficiente para proporcionar niveles en sangre de ghrelina que son al menos 1,5 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto.
- 15 4. La ghrelina para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde cuando se administra la ghrelina es el único agente activo administrado al sujeto.
- 5 5. La ghrelina para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la ghrelina tiene la secuencia de Gly-Ser-Ser-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg (SEQ ID NO. 1).
- 20 6. La ghrelina para el uso de la reivindicación 5, en donde la ghrelina es modificada con uno o más ácidos grasos, preferiblemente en donde el ácido graso es un ácido octanoico.
7. La ghrelina para el uso de la reivindicación 5, en donde la ghrelina está modificada en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 de la SEQ ID NO. 1, preferiblemente en donde la ghrelina está modificada en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 con un ácido octanoico.
- 25 8. La ghrelina para el uso de la reivindicación 7, en donde la modificación de la ghrelina es acilación de ghrelina en la serina de la posición de aminoácido 2 y/o en la serina de la posición de aminoácido 3 con un ácido octanoico, preferiblemente en donde la ghrelina así modificada es una octanoil-ghrelina con una acilación en la serina de la posición de aminoácido 3 con el ácido octanoico.
- 30 9. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1, en donde el sujeto es un mamífero.
10. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1, 2 o 3, en donde la ghrelina se administra en un plazo no superior a aproximadamente 24 horas desde el traumatismo craneoencefálico o mTBI, preferiblemente en donde la ghrelina se administra en un plazo no superior a aproximadamente 8 horas desde el traumatismo craneoencefálico o mTBI.
- 35 11. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1 o 3, en donde la ghrelina se administra en una cantidad que da como resultado niveles en sangre de ghrelina que al menos 1,5 veces, al menos dos veces, o al menos de 1,5 a 100 veces superiores a los niveles en sangre de ghrelina endógenos del sujeto.
12. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1, en donde la ghrelina se administra en una única dosis.
13. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1, en donde la ghrelina se administra en una dosificación de entre 10 ng/kg al día y 10 mg/kg al día, preferiblemente 2 µg/kg al día.
- 40 14. La ghrelina para el uso de la reivindicación 11, en donde la cantidad administrada da como resultado un nivel en sangre de al menos 55 picogramos/mL.
15. La ghrelina para el uso de la reivindicación 1, en donde el sujeto está libre de hipertensión intracraneal, permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica, necrosis del tejido cerebral, daño tisular o celular masivo en el cerebro asociado a lesión cerebral, inflamación neuronal grave o edema celular o vasogénico significativo en la cabeza del sujeto, o cambios anatómicos grandes asociados a lesiones en el cerebro del sujeto.

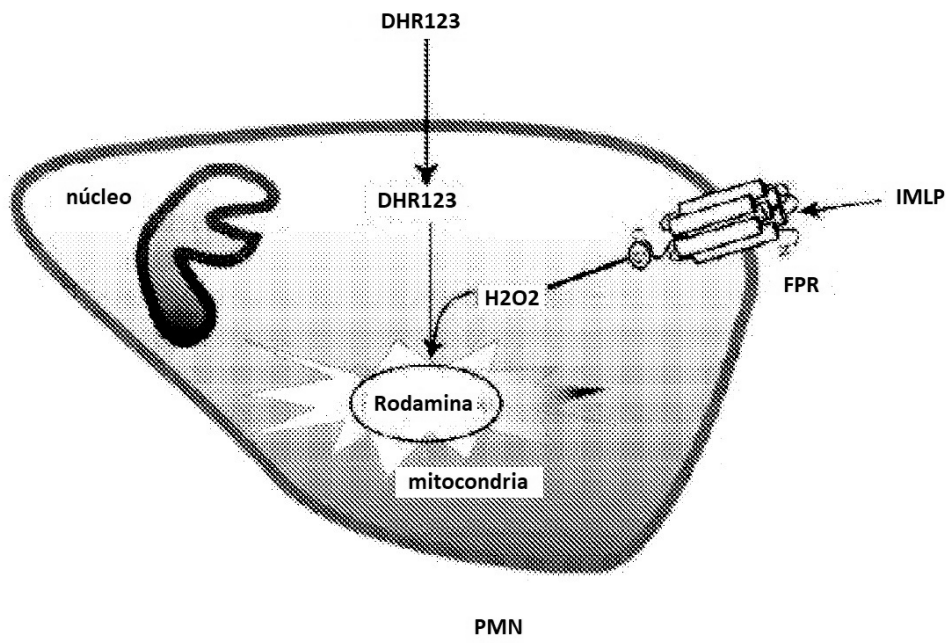


FIG. 1

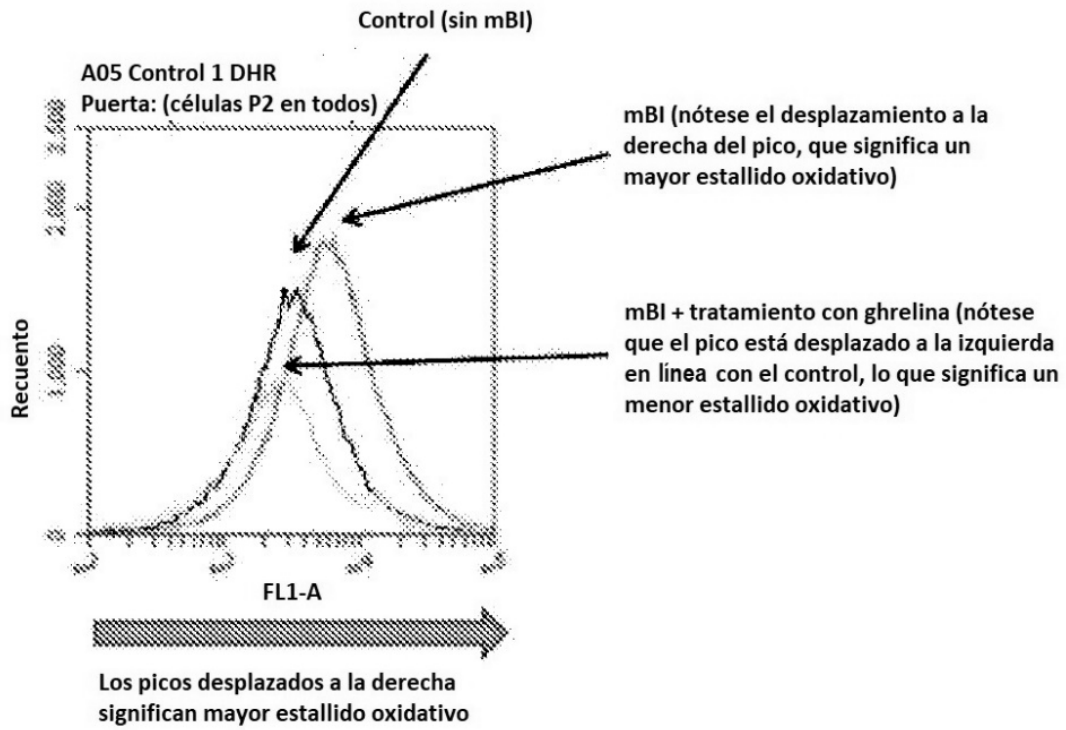


FIG. 2

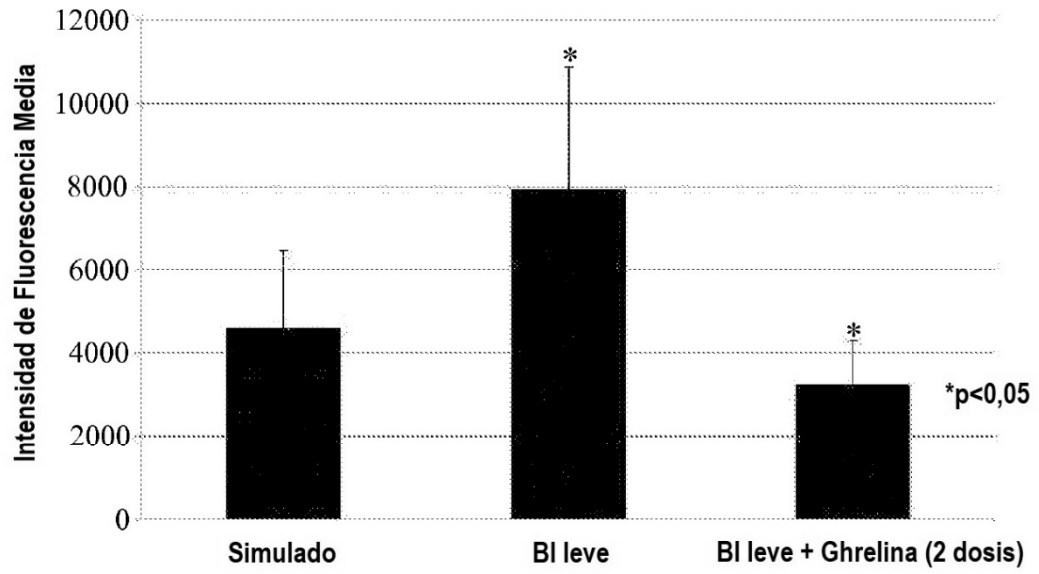


FIG. 3