

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 725 952**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/13 (2006.01)
A61K 31/21 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 33/00 (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A61P 25/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2015 PCT/FR2015/052371**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2016 WO16059307**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2015 E 15771190 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019 EP 3206714**

54 Título: **Medicamento para tratar una enfermedad relacionada con una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica**

30 Prioridad:

17.10.2014 FR 1459982

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.09.2019

73 Titular/es:

**L'AIR LIQUIDE SOCIÉTÉ ANONYME POUR
L'ETUDE ET L'EXPLOITATION DES PROCÉDÉS
GEORGES CLAUDE (50.0%)
75 Quai d'Orsay
75007 Paris, FR y
L'INSTITUT DU CERVEAU ET DE LA MOELLE
EPINIÈRE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MICHEL, PATRICK;
LAVAUUR, JÉRÉMIE;
HIRSCH, ETIENNE y
LEMAIRE, MARC**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 725 952 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

Medicamento para tratar una enfermedad relacionada con una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica

La invención se refiere a la utilización de xenón gaseoso como un medicamento inhalable, usado en combinación con un antagonista de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) del glutamato para tratar, es decir para curar, 5 ralentizar la evolución, atenuar o minimizar, una enfermedad del sistema nervioso central resultante de una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica que resulta de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica, en un paciente humano.

Los receptores/canales NMDA son entidades moleculares de la membrana plasmática de las células neuronales. Estos receptores son la diana de las moléculas de glutamato liberadas en el espacio sináptico y extra-sináptico, 10 siendo el glutamato un neurotransmisor excitador que garantiza la comunicación de una célula nerviosa con otra.

La transmisión dopaminérgica está alterada en cierto número de patologías o estados patológicos del sistema nervioso central, en particular enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, adicciones, depresiones profundas y trastornos del déficit de atención con o sin hiperactividad.

La memantina, la nitromemantina, la amantadina y el ifenprodil son compuestos que tienen una acción antagonista frente al receptor NMDA llevado por las neuronas, pero estas moléculas también son capaces de producir un efecto neurotrófico por medio de un mecanismo que implica a las células gliales de tipo astrocitario (Toyomoto et al., Neurosci Letters, 2005, Wu et al., Neuropsychopharmacology, 2009; Ossola et al., Neuropharmacology, 2009). Esto se traduce en una mejora de la transmisión nerviosa entre las células neuronales.

Sin embargo, este efecto positivo de los antagonistas de los receptores NMDA, en particular la memantina, es limitado porque estas moléculas no están desprovistas de efectos indeseables, tales como confusión, vértigos, somnolencia, cefaleas, insomnios, agitación, alucinaciones, vómitos, ansiedad..., que contrarrestan su efecto positivo.

El problema es por tanto proponer un medicamento que permita tratar, ralentizar o minimizar una enfermedad del sistema nervioso central generada o como resultado de una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica en el caso de ciertas patologías o estados patológicos, principalmente de la enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, depresión profunda y trastornos de déficit de atención, con o sin hiperactividad (Oades, Prog Brain Res, 2008; Beaulieu and Gainetdinov, Pharmacol Rev, 2011; Michel et al., Faseb J, 2013; Ferini-Strambi and Marelli, Expert Opin Pharmacother, 2014), limitando al tiempo los efectos indeseables antes mencionados relacionados con el uso de memantina.

El documento FR 2858233 describe combinaciones de xenón gaseoso y al menos un antagonista de los receptores NMDA gaseosos (protóxido de nitrógeno) para el tratamiento de conductas adictivas.

La solución según la presente invención es un medicamento que contiene xenón gaseoso para uso en asociación con al menos un antagonista de los receptores NMDA en forma líquida o sólida, para tratar una enfermedad del sistema nervioso central resultante de una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica que resulta de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica, en un paciente humano.

En el marco de la invención, el término «tratar» se entiende en sentido amplio y abarca no solo «curar», sino también «ralentizar la evolución», «atenuar» o «minimizar» la enfermedad. El tratamiento es por tanto total o parcial.

En otras palabras, la invención se refiere a una combinación medicamentosa que comprende xenón gaseoso y al menos un antagonista de los receptores NMDA en forma líquida o sólida para tratar una enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica resultante de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica, en un paciente humano.

En efecto, en el marco de la presente invención, se ha demostrado que la asociación de xenón y un antagonista de los receptores NMDA, tal como la memantina, conduce a una acción sinérgica de estos productos, y que tal asociación puede constituir un tratamiento prometedor de las enfermedades del sistema nervioso central que resultan de una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica, en particular de la enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, una depresión profunda y trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad.

Dicha asociación se basa principalmente en los modos de acción de estos productos.

Así, el xenón posee propiedades inhibitorias de las vías de señalización glutamatérgicas excitadoras (Dinse et al., Br J Anaesth, 2005), por medio de su acción antagonista sobre los receptores NMDA, pero también sobre los

receptores α -amino-3-hidroxi-5-metilisoazol-4-propionato (AMPA), así como sobre los receptores kainato, que componen los receptores ionotrópicos del glutamato.

5 Por tanto, la asociación de xenón con un compuesto antagonista de los receptores NMDA, en particular memantina, nitromemantina, amantadina e ifenprodil, conduce a una acción sinérgica, sin el riesgo de aumentar los efectos indeseables del antagonista de los receptores NMDA, porque dicha asociación permite usar dosis más bajas del antagonista utilizado.

En otras palabras, el xenón permite reforzar los efectos beneficiosos del antagonista de los receptores NMDA, en particular de la memantina, debido a un efecto sinérgico, pero sin causar efectos indeseables, tales como confusión, vértigos, somnolencia, cefaleas, insomnios, agitación, alucinaciones, vómitos, ansiedad ...

10 En general, dicha asociación permite restablecer la transmisión sináptica de neuronas dopaminérgicas «enfermas» cuya función está alterada.

Dependiendo del caso, el medicamento gaseoso o la combinación medicamentosa según la invención pueden comprender una o varias de las siguientes características:

15 - el xenón está en forma administrable para inhalación, es decir que está destinado y es apto para ser inhalado por el paciente.

- el antagonista de los receptores NMDA está en forma sólida, en particular en forma de comprimido o cápsula de gelatina.

- el antagonista de los receptores NMDA se elige entre memantina, nitromemantina, amantadina e ifenprodil, o cualquier otro compuesto análogo.

20 - la enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica se selecciona entre enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, conductas adictivas, depresión grave y trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad.

25 - la enfermedad resulta o es causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica producida o resultante de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica.

- la dosis diaria de antagonista de los receptores NMDA administrada al paciente es inferior o igual a 20 mg/día.

30 - el xenón gaseoso se administra al paciente antes, simultáneamente o después de la administración del antagonista de los receptores NMDA, preferiblemente después de la administración del antagonista de los receptores NMDA.

- el xenón se mezcla con oxígeno, preferiblemente al menos 21% en volumen de oxígeno.

- el paciente es un hombre o una mujer, ya sea un adulto o un niño.

- el medicamento contiene una cantidad eficaz de xenón.

- el medicamento contiene una cantidad no anestésica de xenón, es decir, sub-anestésica.

35 - la proporción de xenón está comprendida entre 10 y 80% en volumen.

- la proporción de xenón está comprendida entre 15 y 80% en volumen.

- la proporción de xenón es al menos 20% en volumen.

- la proporción de xenón es como máximo 75% en volumen.

- la proporción de xenón es como máximo 60% en volumen.

40 - la proporción de xenón está comprendida entre 20 y 50% en volumen.

- la proporción de xenón está comprendida entre 20 y 40% en volumen.

- el xenón se mezcla con oxígeno justo antes o en el momento de su inhalación por el paciente o se presenta en forma de una mezcla gaseosa «lista para usar» premezclada con oxígeno, y contiene eventualmente otro compuesto gaseoso, por ejemplo nitrógeno.

45 - se utiliza una mezcla constituida por xenón y oxígeno.

- se utiliza una mezcla constituida por xenón, nitrógeno y oxígeno.

- la mezcla gaseosa se administra al paciente una o varias veces al día.

- la mezcla gaseosa se administra al paciente durante un tiempo de inhalación de algunos minutos a algunas horas, generalmente entre 15 minutos y 6 horas, preferiblemente menos de 4 horas.

5 - la duración, la posología y la frecuencia de administración son función de la evolución del estado neurológico del paciente considerado y preferiblemente serán determinados por el médico o el personal sanitario de acuerdo con el estado neurológico del paciente considerado.

10 - el xenón o la mezcla gaseosa se acondiciona en una botella para gas que tenga una capacidad (equivalente en agua) de hasta 50 litros, generalmente del orden de 0,5 a 15 litros y/o a una presión inferior o igual a 350 bares absolutos, típicamente una presión comprendida entre 2 y 300 bares.

- el xenón o la mezcla gaseosa se acondiciona en una botella para gas equipada con una llave o una llave reguladora de la presión integrada que permite controlar el caudal y eventualmente la presión del gas suministrado.

- el xenón o la mezcla gaseosa se acondiciona en una botella para gases, de acero, aluminio o materiales compuestos.

15 - durante el tratamiento, la administración al paciente del xenón o de una mezcla gaseosa a base de xenón se realiza por inhalación mediante una máscara facial o nasal, gafas nasales o mediante cualquier otro sistema de administración de un gas inhalable.

20 La invención también se refiere a la utilización de xenón gaseoso y al menos un antagonista de los receptores NMDA, en forma líquida o sólida, para fabricar un medicamento utilizable para tratar una enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica resultante de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica, en un paciente humano.

Dependiendo del caso, la utilización según la invención puede comprender una o varias de las siguientes características técnicas:

25 - el medicamento gaseoso o la combinación medicamentosa comprende una o varias de las características descritas anteriormente.

- el antagonista de los receptores NMDA se elige entre memantina, nitromemantina, amantadina e ifenprodil.

30 - la enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica resultante de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica se selecciona entre enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, conductas adictivas, depresión grave y trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad.

35 Según otro aspecto, la invención se refiere igualmente a un método de tratamiento terapéutico para tratar o para ralentizar una enfermedad del sistema nervioso central resultante de una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica, en el que:

i) se identifica a un paciente humano que padece una enfermedad del sistema nervioso central resultante de una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica que resulta de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica,

ii) se administra por inhalación a dicho paciente un medicamento gaseoso que contiene xenón, y

40 iii) se administra a dicho paciente al menos un antagonista de los receptores NMDA, en forma líquida o sólida, para tratar dicha enfermedad del sistema nervioso central.

Según este método de tratamiento terapéutico, la asociación de xenón y el antagonista de los receptores NMDA conduce a una acción combinada de estos productos, lo que permite una restauración de la función sináptica normal, conduciendo así a un tratamiento, principalmente al menos a una ralentización de la enfermedad.

45 En particular, dicha enfermedad se selecciona entre enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, adicción, depresión profunda o trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad, en dicho paciente.

Preferiblemente, en la etapa i):

- el paciente humano es un hombre o una mujer, ya sea un adulto o un niño.
- la identificación del paciente es realizada por un médico o análogo.
- la identificación del paciente es realizada por examen técnico de reconocimiento.
- la anomalía de la función sináptica de las neuronas dopaminérgicas susceptible de producir una disfunción neurológica.

5 Preferiblemente, en la etapa ii):

- se administra, a dicho paciente, al menos un antagonista de los receptores NMDA en forma sólida.
- se administra, a dicho paciente, al menos un antagonista de los receptores NMDA, preferiblemente por vía enteral, es decir, por vía oral.

10 - se administra, a dicho paciente, al menos un antagonista de los receptores NMDA en forma de comprimido o cápsula de gelatina.

- se administra al paciente memantina, o un compuesto derivado de la memantina, como antagonista de los receptores NMDA.

- se administra al paciente nitromemantina como antagonista de los receptores NMDA.

15 - se administra al paciente amantadina o ifenprodil como antagonista de los receptores NMDA.

- se administra al paciente una dosis diaria de antagonista de los receptores NMDA inferior o igual a 20 mg/día.

- se administra, a dicho paciente, al menos un antagonista de los receptores NMDA antes, simultáneamente o después de la inhalación de xenón por el paciente.

20 Preferiblemente, en la etapa iii):

- la duración, la posología y la frecuencia de administración del xenón se eligen y/o se fijan en función de la evolución del estado neurológico del paciente considerado.

- se administra una cantidad eficaz de xenón.

- se administra una cantidad no anestésica de xenón.

25 - se administra de 10 a 75% en volumen de xenón, preferiblemente entre 20 y 50% en volumen de xenón.

- se mezcla el xenón con oxígeno antes o en el momento de su inhalación por el paciente, preferiblemente con al menos 21% en volumen de oxígeno.

- se administra una mezcla gaseosa lista para usar constituida por xenón y oxígeno (mezcla binaria).

30 - se administra una mezcla gaseosa lista para usar constituida por xenón, oxígeno y nitrógeno (mezcla ternaria).

- se administra el xenón gaseoso una o varias veces al día al paciente.

- se administra el xenón gaseoso al paciente durante un período de inhalación de algunos minutos a algunas horas, típicamente entre 15 minutos y 6 horas, preferiblemente menos de 4 horas.

35 - se administra el xenón gaseoso por medio de una máscara facial o nasal, gafas nasales o por medio de cualquier otro sistema o dispositivo de administración de gases a un paciente.

Ejemplos

40 Con el fin de demostrar el efecto sinérgico de la combinación de xenón y un antagonista de los receptores NMDA según la presente invención, se ha establecido un modelo celular en el que la disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica es espontánea.

Esta disfunción se caracteriza por un desgaste del cuerpo celular, una disminución de la arborización neurítica, así como por una reducción de la función sináptica, en las condiciones de cultivo utilizadas (Wu et al., Neuropsychopharmacology, 2009).

La técnica utilizada se describe a continuación y los resultados obtenidos se dan en las Tablas 1 y 2 y se ilustran en las Figuras 1 y 2 adjuntas que muestran los efectos sinérgicos del xenón asociado a la memantina en un modelo celular que simula un desgaste neuronal relacionado con una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica.

Protocolo para la obtención de cultivos primarios del mesencéfalo

- 5 Los cultivos se preparan a partir del mesencéfalo de embriones de ratas, extraídos de ratas Wistar, el día 15,5 de gestación.

El procedimiento de obtención de cultivos del mesencéfalo comprende la obtención de una suspensión celular homogénea por disociación mecánica, es decir no enzimática, del tejido embrionario, utilizando medio L15 de Leibovitz (Sigma Aldrich).

- 10 Se añaden partes alícuotas de esta suspensión a placas Nunc de 48 pocillos, que se han revestido previamente con una fina capa de polietilenimina (1 mg/mL, tampón de borato pH 8,3) para permitir la adhesión de las células neuronales (Toulorge et coll., Faseb J, 2011).

La densidad de siembra está comprendida entre aproximadamente 80.000 y 100.000 células/cm².

- 15 Los cultivos del mesencéfalo se mantienen en el medio de cultivo Minimum Essential Medium (MEM), que contiene 1 g/l de glucosa, L-glutamina 2 mM, piruvato de sodio 1 mM, aminoácidos no esenciales y un cóctel de penicilina/estreptomicina. La primera semana de cultivo, este medio se complementa con 10% de suero fetal de bovino y 10% de suero de caballo. A partir de la segunda semana, las concentraciones séricas se reducen al 2% (Gao et al., J Neurosci, 2002).

- 20 Hasta el momento en que se evalúan los efectos de los gases de interés, los cultivos se colocan en un recinto convencional termostatzado a 37°C, en el que el CO₂ se mantiene al 5% en volumen y donde la atmósfera está saturada de agua.

El proceso de disfunción de la neurona dopaminérgica que se produce de forma espontánea, resulta del desgaste neuronal y de la reducción de la arborización neurítica.

Tratamientos farmacológicos de los cultivos

- 25 Un bloqueador de los receptores NMDA, es decir memantina, se añade a los cultivos justo antes de aplicar la atmósfera gaseosa controlada y se prolonga el tratamiento hasta la fijación de los cultivos.

Mantenimiento de los cultivos bajo atmósfera gaseosa controlada

- 30 Una vez efectuados los tratamientos farmacológicos, las cajas multi-pocillos que contienen las células en cultivo y la caja utilizada para humidificar el compartimento interno de la cámara, se colocan sobre una base metálica que recibe la cámara de incubación de plexiglás. La base y la cámara de plexiglás se unen por atornillamiento, de manera contigua.

A continuación se inyecta una mezcla gaseosa de interés que comprende (% en volumen): 20% de O₂, 5% de CO₂ y 75% de gas de ensayo en la cámara de incubación, con las válvulas de entrada y salida abiertas, controlando mientras el caudal de salida por medio de un caudalímetro. Los gases de ensayo son nitrógeno (N₂) y xenón (Xe).

- 35 El caudal de salida de referencia, ajustado para aire a 10 litros/min, se corrige en función de la densidad de la mezcla utilizada. Cuando la medición de CO₂ alcanza el 5% en la salida, se detiene la inyección de la mezcla gaseosa y la cámara se hace completamente estanca cerrando las válvulas de entrada y salida. La cámara de exposición se coloca luego en un recinto a 37°C durante los 7 días del protocolo experimental.

Inmunodetección de la proteína tirosina-hidroxilasa (TH) y recuentos celulares

- 40 Después de romper la estanqueidad abriendo las válvulas de entrada y salida y desatornillando la cámara de su base, los cultivos se fijan con 4% de formaldehído en PBS durante 12 minutos y luego se incuban a 4°C con un anticuerpo monoclonal anti-TH (ImmunoStar; dilución 1:5000) durante 2 días, de forma que se revele la presencia de neuronas dopaminérgicas.

- 45 La revelación de este anticuerpo se obtiene con un anticuerpo secundario anti-ratón acoplado a Alexa Fluor 555 (Life Technologies; dilución 1:300 en PBS).

La adquisición de imágenes y el recuento de las neuronas dopaminérgicas (TH⁺) se realizan con un generador de imágenes automático de tipo Arrayscan XTI y el programa informático de análisis de imágenes HCS Studio (ThermoFischer Scientific). Este análisis nos permite tener una estimación del número de neuronas TH⁺/pocillos de cultivo.

Medición de neuritas transportadas por las neuronas dopaminérgicas

Los cultivos utilizados para el recuento de neuronas dopaminérgicas también sirven para medir la longitud de las neuritas transportadas por las neuronas TH⁺ dopaminérgicas.

Este parámetro se evalúa con el mismo programa informático HCS Studio.

5 Medición de la recaptación de dopamina tritiada

La medición de la recaptación de dopamina se efectúa utilizando dopamina tritiada (30-60 Ci/mmol, PerkinElmer), según un protocolo descrito previamente por Toulorge y colaboradores (Faseb J, 2011). La medición de la recaptación se efectúa en cultivos producidos al mismo tiempo y en las mismas condiciones que los utilizados para los estudios de recuento de células. Para cada pocillo de cultivo, el nivel de recaptación de dopamina tritiada se relaciona con el valor medio estimado del número de neuronas dopaminérgicas TH⁺ en cada condición de tratamiento.

Los resultados obtenidos en este modelo celular de disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica se resumen en las Tablas 1 y 2 siguientes y se representan en las Figuras 1 y 2, que se adjuntan a continuación.

Tabla 1: Recaptación de dopamina tritiada por neurona dopaminérgica

Cultivos de mesencéfalo el día 14		
Tratamientos D 7 - D 14 (7 días)	Mezcla gaseosa (20% O ₂ + 5% CO ₂ + 75 % gas de ensayo); % en volumen	Recaptación de dopamina/neurona TH ⁺
Grupo de control	N ₂	-
Grupo con memantina (10 μM)	N ₂	+
Grupo con xenón solo	Xe	++
Grupo con xenón + memantina (10 μM)	Xe	+++

15

Tabla 2: Longitud de las neuritas/neurona dopaminérgica

Cultivos de mesencéfalo el día 14		
Tratamientos D 7 - D 14 (7 días)	Mezcla gaseosa (20% O ₂ + 5% CO ₂ + 75 % gas de ensayo); % en volumen	Neuritas/neurona TH ⁺
Grupo de control	N ₂	-
Grupo con memantina (10 μM)	N ₂	++
Grupo con xenón solo	Xe	+
Grupo con xenón + memantina (10 μM)	Xe	+++

En las dos tablas anteriores, una respuesta favorable, sinónimo de un aumento en la recaptación de dopamina por la neurona TH⁺ (Tabla 1) o de un aumento en la longitud de las neuritas por la neurona TH⁺ (Tabla 2), en presencia de tratamientos de interés, se designa con un signo « + », « ++ », « +++ », dependiendo de la importancia de esta respuesta.

A la inversa, una ausencia de respuesta está representada por un signo « - ».

En vista de los resultados obtenidos ilustrados en las figuras adjuntas, se observa que la combinación de xenón y memantina, que es un antagonista de los receptores NMDA, conduce a un efecto sinérgico significativamente superior al producido por cada molécula, tomada por separado, cualquiera que sea el parámetro medido, la recaptación de dopamina tritiada/TH⁺ o la longitud de neuritas/neurona TH⁺.

La memantina ejerce un efecto significativo en este modelo celular y respecto a los dos parámetros estudiados, cuando se aplica solo a 10 μM, bajo una atmósfera que contiene 75% de nitrógeno. El xenón también posee una

actividad igualmente significativa cuando reemplaza al nitrógeno. Además, el xenón potencia los efectos obtenidos en presencia de memantina.

Los resultados ilustrados en las Figuras 1 y 2 muestran los efectos sinérgicos del xenón y de la memantina en el modelo celular de disfunción sináptica dopaminérgica.

- 5 Estos resultados se obtuvieron en cultivos de mesencéfalo de rata que habían estado desde el día 7 del cultivo hasta el día 14 en atmósfera que contenía 75% de nitrógeno (N₂ 75) o 75% de xenón (Xe 75) en presencia o no de memantina (MEM), ensayada a 10 µM.

En la Figura 1, la recaptación de dopamina tritiada, considerada como un índice de la función sináptica y de la diferenciación de las neuronas dopaminérgicas, se mide en cultivos vivos el día 14.

- 10 El número de neuronas TH⁺ dopaminérgicas se estima en cultivos hermanos, que se producen a partir de una misma suspensión celular de partida y se fijan el D14.

Los niveles de recaptación de dopamina por la neurona TH⁺ se expresan en % (± SEM) de cultivos no tratados, cultivados en una atmósfera que contiene 75% de nitrógeno (condición de control).

- 15 Por tanto, el estudio estadístico realizado por un ANOVA (*ANalysis Of VAriance*) de Kruskal-Wallis por rangos, seguido de un ensayo de Student-Newman-Keuls (n = 9 para cada punto experimental) demuestra que:

- el xenón solo cuando reemplaza al nitrógeno, la memantina sola en nitrógeno y la memantina en el xenón producen un efecto significativamente superior al observado en la condición de nitrógeno solo (* p<0,05, aumentado frente a cultivos de control el D14 bajo 75% de nitrógeno).

- 20 - el xenón cuando se combina con memantina, produce un efecto sinérgico y conduce a un resultado significativamente superior al observado en las condiciones de xenón solo o memantina bajo nitrógeno (§ p<0,05, aumentado el D14 frente a los cultivos expuestos al xenón solo o a la memantina en una atmósfera que contiene nitrógeno).

En la Figura 2, la longitud de las neuritas por la neurona TH⁺, una medida del potencial de las neuronas dopaminérgicas para poder formar conexiones sinápticas con otras neuronas, se realiza en cultivos fijados el D14.

- 25 Los resultados se expresan en % (± SEM) de cultivos no tratados, mantenidos en una atmósfera de control que contiene 75% de nitrógeno (condición de control).

Por tanto, el estudio estadístico realizado por un ANOVA (*ANalysis Of VAriance*) de Kruskal-Wallis por rangos, seguido de un ensayo de Student-Newman-Keuls (n = 9 para cada punto experimental) demuestra que:

- 30 - el xenón solo cuando reemplaza al nitrógeno, la memantina sola en nitrógeno y la memantina en xenón ejercen un efecto significativamente superior al observado en la condición de control, nitrógeno solo (* p<0,05, aumentado frente a cultivos de control el D14, bajo 75% de nitrógeno).

- el xenón cuando se combina con la memantina, ejerce un efecto significativamente superior al observado en las condiciones de xenón solo o memantina bajo nitrógeno (§ p<0,05, aumentado el D14 frente a cultivos expuestos al xenón solo o a la memantina en una atmósfera que contiene nitrógeno).

- 35 Los ensayos anteriores se realizaron con memantina como antagonista de los receptores NMDA. Sin embargo, estos resultados similares se obtendrían con compuestos del mismo tipo, análogos o similares, tal como nitromemantina, amantadina o ifenprodil.

- 40 El xenón conduce por tanto, cuando está asociado con un antagonista de los receptores NMDA, tal como memantina, nitromemantina, amantadina o ifenprodil, a un efecto sinérgico en el tratamiento, principalmente la ralentización de la evolución, de enfermedades asociadas a una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica, tales como enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, adicción, depresión cuando es profunda y trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad.

REIVINDICACIONES

1. Combinación medicamentosa que comprende xenón gaseoso y al menos un antagonista de los receptores NMDA, en forma líquida o sólida, para tratar una enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica resultante de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución en la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica, en un paciente humano, en la que:
5 - el antagonista de los receptores NMDA se elige entre memantina, nitromemantina, amantadina e ifenprodil, y
 - la enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica se elige entre enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la
10 Tourette, conductas adictivas, depresión grave y trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad.
2. Combinación medicamentosa según la reivindicación anterior, caracterizada por que la proporción de xenón está comprendida entre 10 y 80% en volumen.
3. Combinación medicamentosa según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que el antagonista de los receptores NMDA está en forma sólida, en particular en forma de comprimido o cápsula de
15 gelatina.
4. Combinación medicamentosa según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que el xenón está mezclado con oxígeno.
5. Combinación medicamentosa según la reivindicación 4, caracterizada por que el xenón está mezclado con al menos 21% en volumen de oxígeno.
- 20 6. Combinación medicamentosa según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que el xenón está mezclado con oxígeno o con oxígeno y nitrógeno.
7. Combinación medicamentosa según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que la proporción de xenón es al menos 20% en volumen.
8. Combinación medicamentosa según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que la
25 proporción de xenón es como máximo 75% en volumen.
9. Combinación medicamentosa según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que la proporción de xenón es como máximo 60% en volumen.
10. Utilización de xenón gaseoso y al menos un antagonista de los receptores NMDA, en forma líquida o sólida, para fabricar un medicamento para tratar una enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica
30 dopaminérgica resultante de un desgaste del cuerpo celular, de una disminución de la arborización neurítica o de una reducción de la función sináptica, en un paciente humano, en la que:
 - el antagonista de los receptores NMDA se elige entre memantina, nitromemantina, amantadina e ifenprodil, y
 - la enfermedad causada por una disfunción de la transmisión sináptica dopaminérgica se elige entre
35 enfermedad de Parkinson, discinesias, esquizofrenia, síndrome de piernas inquietas, síndrome de Gilles de la Tourette, conductas adictivas, depresión grave y trastornos de déficit de atención con o sin hiperactividad.

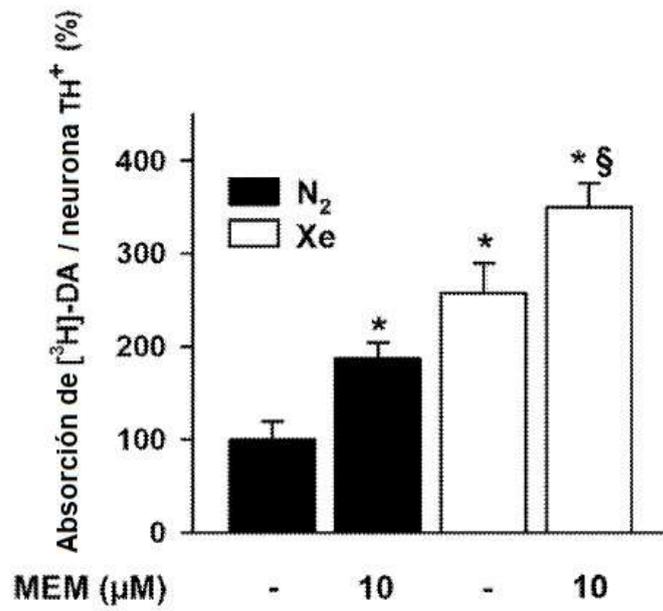


Figura 1

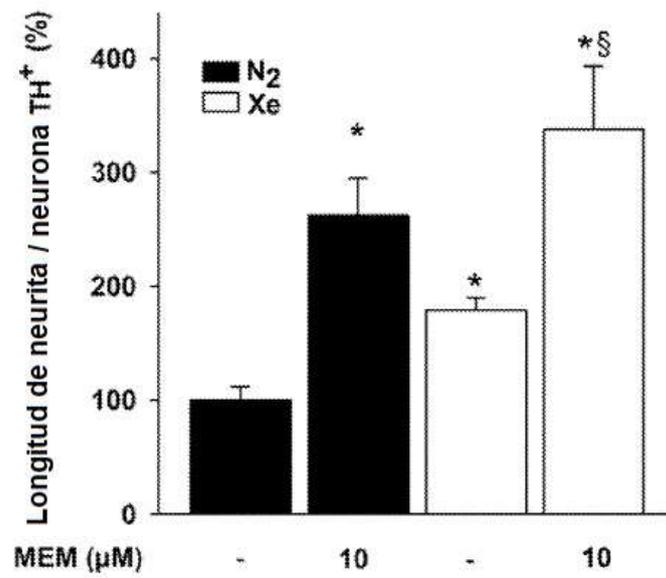


Figura 2