

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 266**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17	(2006.01)
A61K 38/49	(2006.01)
A61P 25/00	(2006.01)
A61P 9/10	(2006.01)
A61M 31/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.12.2012 PCT/IB2012/057259**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO13088382**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2012 E 12857611 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 2800575**

54 Título: **Terapia para hemorragia subaracnoidea e isquemia**

30 Prioridad:

13.12.2011 US 201161570264 P
15.12.2011 CA 2762338
28.03.2012 US 201261617001 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.11.2019

73 Titular/es:

NONO INC. (100.0%)
88 Strath Avenue
Toronto ON M8X 1R5, CA

72 Inventor/es:

TYMIANSKI, MICHAEL

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 731 266 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

Terapia para hemorragia subaracnoidea e isquemia

Antecedentes

5 Cada año, aproximadamente 800.000 personas en los EE. UU. sufren accidentes cerebrovasculares, con unos costos anuales directos e indirectos para la sociedad que superan los 40 mil millones de dólares americanos. El derrame cerebral ocupa el tercer lugar entre todas las causas de muerte. Actualmente, solo las terapias que inducen a la reperusión en cerebros isquémicos están ampliamente aprobadas como tratamientos para los accidentes cerebrovasculares agudos (p. ej., trombolisis con alteplasa (activador del plasminógeno tisular o rt-PA). Estas soluciones mejoran los resultados generales pero tienen el potencial de desarrollar complicaciones graves y además se encuentran infrautilizados. La neuroprotección farmacológica segura, el rescate cerebral mediante la mejora de la resistencia del cerebro a la isquemia podría aumentar drásticamente la cantidad de pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento del accidente cerebrovascular agudo. Sin embargo, a lo largo de las últimas décadas, la investigación no ha logrado desarrollar más de 1000 tratamientos neuroprotectores de utilidad en humanos desde su descubrimiento en células y roedores, y los ensayos clínicos de los supuestos neuroprotectores han fracasado. Esta crisis científica ha dado lugar a un paradigma prevaleciente de que la neuroprotección farmacológica no es factible ni practicable en seres humanos. Por lo tanto, existe una urgente necesidad no satisfecha de determinar si es posible o no la neuroprotección en humanos.

20 Un accidente cerebrovascular puede ser provocado por una isquemia o una hemorragia. Los accidentes cerebrovasculares hemorrágicos solo representan aproximadamente el 17% de los accidentes cerebrovasculares en total, sin embargo dan lugar a una relación desproporcionada de muertes y lesiones debilitantes. Los accidentes cerebrovasculares hemorrágicos se agravan, en vez de aliviarse con los únicos fármacos aprobados para los accidentes cerebrovasculares, tales como el tPA, que actúan para restaurar el flujo sanguíneo. Con demasiada frecuencia, el tiempo que se requiere para llevar a los sujetos a los hospitales, emitir el diagnóstico inicial y realizar la exploración cerebral para distinguir entre accidentes cerebrovasculares isquémicos y hemorrágicos es determinante para colocar al sujeto fuera de la ventana, en la cual el tPA puede ser efectivo. Por lo tanto, muchos sujetos con accidente cerebrovascular isquémico, que podrían beneficiarse del tPA, no llegan a recibirlo.

25 También pueden ocurrir hemorragias en el SNC, o cerca de éste, independientemente del accidente cerebrovascular isquémico, particularmente en hemorragias subaracnoideas, y hematomas duros o subduros y contusiones cerebrales. Estas hemorragias pueden surgir como resultado de traumas físicos, como caídas u otros golpes en la cabeza o por el síndrome del niño maltratado. Si bien los síntomas inmediatos de tales hemorragias pueden variar desde prácticamente leves hasta graves, todos pueden volverse graves y potencialmente mortales. Tales hemorragias son, por lo tanto, emergencias que ponen en peligro la vida, que incluso, con los mejores tratamientos actuales, a menudo acaban en muerte o lesiones debilitantes.

30 Las hemorragias subaracnoideas (HSA) se caracterizan por ser hemorragias que ocurren en el espacio subaracnoideo. Las HSA son eventos graves, agudos y potencialmente mortales que pueden provocar un debilitamiento crónico. En aproximadamente el 85% de los casos de HSA espontánea, la causa es la rotura de un aneurisma intracraneal, denominado HSA aneurismática. La HSA aneurismática afecta con mayor frecuencia a personas de entre 40 y 60 años, y es más probable que ocurra en mujeres. La incidencia de HSA aneurismática es de 10 en cada 100.000 individuos por año en los Estados Unidos. Otras causas menos comunes de HSA incluyen afecciones como las malformaciones vasculares. Los factores de riesgo adquiridos incluyen una presión arterial alta, abuso del alcohol, abuso de drogas, fumar y uso de anticonceptivos. Otros factores de riesgo incluyen aneurismas en otros vasos sanguíneos, displasia fibromuscular y otros trastornos del tejido conectivo, y antecedentes de enfermedad renal poliquística.

45 La HSA es un evento multifásico, con una lesión cerebral aguda que se produce en el momento de la hemorragia inicial, seguida de eventos secundarios potencialmente perjudiciales, como la isquemia, que se produce a partir del vasoespasmo cerebral y la hidrocefalia. En las lesiones agudas inducidas por HSA, la distribución de la sangre en el espacio subaracnoideo, la elevación de la presión intracraneal (ICP), la presión de perfusión cerebral reducida (CPP) y el flujo sanguíneo cerebral (CBF) inician una cascada de lesiones agudas que produce isquemia cerebral transitoria, traumas debido al impulso producido por el aumento repentino de la ICP y, en algunos casos, lesiones cerebrales debidas a la formación de hematomas intracerebrales. Además, estos eventos iniciales pueden conducir a lesiones microvasculares directas, taponamiento de vasos y liberación de sustancias vasoactivas por los agregados plaquetarios.

55 Los procesos isquémicos secundarios incluyen respiración celular anaeróbica, agotamiento, síntesis de proteínas alterada, excitotoxicidad, ataque de radicales libres, estrés neuronal, daño por ácido desoxirribonucleico (ADN), apoptosis y necrosis, alteraciones en las vías de óxido nítrico (NO)/óxido nítrico sintasa (NOS) y la peroxidación lipídica. Aunque existe un amplio acuerdo sobre la gama de procesos secundarios que pueden participar en la producción de lesiones cerebrales después de la HSA, la contribución precisa de los mecanismos individuales durante el período de lesión aguda sigue sin entenderse completamente.

La isquemia cerebral en la HSA es el resultado de vasoespasmos arteriales cerebrales, y complica el curso clínico en aproximadamente el 30% de los casos. La incidencia de vasoespasmos clínicamente relevantes en la HSA es mayor entre los días 5 y 12 después de la HSA. Sin embargo, esta complicación es bastante infrecuente en los primeros tres días después de una HSA. El resultado clínico final de un paciente después de una HSA probablemente depende de varios factores, incluidos factores demográficos como la edad y las comorbilidades, la gravedad de la HSA y las diversas complicaciones de la HSA, como la hidrocefalia y el vasoespasmos. Por lo tanto, la isquemia cerebral debida a vasoespasmos no es el único factor que contribuye a un resultado clínico adverso de la HSA, ya que los síntomas aparecen inmediatamente después de la ruptura.

Una forma diferente de tratamiento para el accidente cerebrovascular y sus afecciones relacionadas se encuentra en este momento en ensayos clínicos (ver WO 2010144721 y Aarts et al., Science 298, 846-850 (2002)). Este tratamiento utiliza TAT-NR2B9C, también conocido como Tat-NR2B9c (YGRKKR-RQRRRLSSIESDV; SEQ ID NO: 6), un agente que inhibe la unión de PSD-95 a miembros de la familia NMDAR 2, lo que reduce la excitotoxicidad inducida por la isquemia cerebral. Se ha demostrado que el tratamiento reduce el tamaño del infarto y los déficits funcionales en el accidente cerebrovascular isquémico y las lesiones cerebrales traumáticas.

15 Compendio de la invención reivindicada

La invención proporciona una materia tal como se define en las reivindicaciones.

Se describen métodos para tratar un efecto dañino de una hemorragia subaracnoidea en un sujeto, que comprende administrar un agente que inhibe la unión de PSD-95 a una subunidad NMDAR2 a un sujeto que tiene una hemorragia subaracnoidea. En algunos métodos, la hemorragia subaracnoidea es el resultado de un trauma físico. En algunos métodos, la hemorragia subaracnoidea se produce espontáneamente. En algunos métodos, la hemorragia subaracnoidea se debe a la rotura de un aneurisma. En algunos métodos, la hemorragia subaracnoidea se debe a una malformación arteriovenosa. En algunos métodos, el agente inhibe el desarrollo de déficits neurocognitivos en el sujeto. En algunos métodos, el agente inhibe el desarrollo de infartos detectables por MRI. En algunos métodos, el sujeto recibe cirugía endovascular para reparar un vaso sanguíneo con fugas que causa la hemorragia subaracnoidea. En algunos métodos, el agente reduce el dolor resultante de la cirugía endovascular. En algunos métodos, el dolor proviene de una vía que ha sido atravesada por un endoscopio utilizado en la realización de una cirugía endoscópica. En algunos métodos, el agente se administra el día 4 después de la ruptura y causa la hemorragia subaracnoidea. En algunos métodos, el agente se administra en múltiples ocasiones dentro de los doce días posteriores a la ruptura que causa la hemorragia subaracnoidea. En algunos métodos, el agente se administra dos veces al día durante al menos dos días o una vez al día durante al menos tres días. En algunos métodos, la dosis del agente es 1-3 mg/kg.

Además, se describen métodos para tratar los efectos dañinos de las hemorragias intracerebrales en un sujeto, que comprende administrar un agente que inhibe la unión de PSD-95 a la subunidad NMDAR2 a un sujeto que tiene una hemorragia intracerebral. En algunos métodos, la hemorragia intracerebral se debe a una presión arterial alta. En algunos métodos, la hemorragia intracerebral se debe a un medicamento. En algunos métodos, el fármaco es un anticoagulante. En algunos métodos, el agente inhibe el desarrollo de déficits neurocognitivos en el sujeto. En algunos métodos, el agente inhibe el desarrollo de infartos en el SNC detectable por MRI. En algunos métodos, el agente se administra antes, durante o después de una cirugía para reparar el vaso sanguíneo que causa la hemorragia. En algunos métodos, el agente se administra antes, durante o después de administrar otro efecto de un agente que reduce los efectos dañinos de la hemorragia intracerebral.

Se describe un agente que inhibe la unión de PSD-95 a una subunidad NMDAR2 para su uso en la reducción del efecto dañino de una isquemia o hemorragia en el SNC de un sujeto o que, de otra manera, afecta al mismo, y reduce el dolor en el sujeto de la cirugía para remediar la isquemia o hemorragia. En algunos métodos, la cirugía es la cirugía endovascular. En algunos métodos, el dolor es producido en una vía atravesada por un endoscopio utilizado en la realización de la cirugía endoscópica.

Además, se describe un método para reducir el dolor, que comprende administrar un agente que inhibe la unión de PSD-95 a una subunidad NMDAR2 a un sujeto que recibe cirugía endovascular, en donde el agente reduce el dolor en el sujeto que resulta de la cirugía endovascular. En algunos métodos, el dolor es producido en una vía atravesada por un endoscopio utilizado en la realización de una cirugía endoscópica.

Además, se describen métodos para inhibir el efecto dañino de una isquemia o hemorragia en el SNC, o que afecta de otro modo al SNC, en un sujeto que comprende administrar a un sujeto que tiene, o es sospechoso de tener isquemia o hemorragia en el SNC o que de otro modo afecta al régimen de un agente que inhibe la unión de PSD95 a una subunidad NMDAR2, en la que al sujeto no se le ha realizado una exploración para distinguir la isquemia de la hemorragia cuando se realiza la administración. En algunos métodos, el sujeto tiene una hemorragia en el SNC o que afecta de otra manera al SNC. En algunos métodos, el sujeto no está sujeto a terapia de reperusión.

Además, se describen métodos para tratar un efecto dañino de la isquemia o hemorragia en el sistema nervioso central, que comprende administrar un agente que inhibe la unión de PSD-95 a subunidades NMDAR2 a un sujeto que tiene isquemia o hemorragia o tiene riesgo de padecer éstas. En algunos métodos, el agente se administra junto

con la terapia de reperfusión. Algunos métodos tratan el efecto dañino del accidente cerebrovascular hemorrágico. En algunos métodos, el agente se administra antes, durante o después de la reparación endovascular de la hemorragia. En algunos métodos, el agente se administra antes, durante o después del tratamiento con otros medicamentos para el tratamiento de hemorragias que afectan el sistema nervioso central.

5 Además, se describe un agente que inhibe la unión de PSD95 a una subunidad NMDAR2 para su uso en el tratamiento de un accidente cerebrovascular isquémico que se transforma en un accidente cerebrovascular hemorrágico como resultado de la reperfusión, en donde el agente inhibe los efectos dañinos del accidente cerebrovascular isquémico y hemorrágico.

10 Además, se describen métodos para tratar una población de sujetos que presentan signos y/o síntomas de isquemia, que comprenden administrar un agente, agente que inhibe la unión del inhibidor de PSD-95 a una subunidad NDMAR2 o nNOS, a los sujetos; en el que los sujetos se analizan para determinar un riesgo inaceptable de efectos secundarios de la terapia de reperfusión, y los sujetos sin riesgo inaceptable de efectos secundarios reciben terapia de reperfusión y los sujetos con riesgo inaceptable de efectos secundarios no reciben terapia de reperfusión, opcionalmente en donde el agente es un péptido que inhibe la unión de PSD95 a una subunidad
15 NMDAR2 o nNOS, y el péptido está vinculado a un péptido de internalización o está lipidado para aumentar a través de una membrana celular o la barrera hematoencefálica.

20 En cualquiera de los métodos o agentes anteriores, el agente puede ser un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste o que comprende X1tSX2V (SEC ID NO: 7), en donde t y S son aminoácidos alternativos, se selecciona X1 de entre E, Q y A, o un análogo de los mismos, X2 se selecciona de entre A, Q, D, N, (N-metil)-A, (N-metil)-Q, (N-metil)-D, y (N-metil)-N o uno de sus análogos, y el péptido está unido en su aminoácido N-terminal a un péptido de internalización. En cualquiera de los métodos y agentes anteriores, el agente puede tener una secuencia de aminoácidos que consiste o que comprende YGRKKR-RQRRRKLSSIESDV (SEC ID NO: 6) o YGRKKRRQRRRKLSSIEDV (SEC ID NO: 37). En cualquiera de los métodos anteriores, el péptido u otro agente
25 puede estar unido a un péptido de internalización o lipidado facilitando así el paso del péptido a través de una membrana celular o la barrera hematoencefálica. Algunos péptidos u otros agentes están miristoilados. Los péptidos están preferiblemente miristoilados en el extremo N-terminal.

30 Además, se describen métodos para seleccionar la actividad de un compuesto útil en el tratamiento o la profilaxis de un derrame cerebral o hemorragia en el SNC o que de otro modo afecten al SNC, que comprende administrar el compuesto a humanos que se someten a un procedimiento de reparación endovascular que afecta al sistema nervioso central y determinar si el compuesto reduce el número de infartos observados por resonancia magnética en comparación con un control negativo. En algunos métodos, las imágenes de MRI incluyen DWI MRI. En algunos métodos, la imagen de resonancia magnética incluye MRI FLAIR. En algunos métodos, la imagen de IRM incluye DWI y FLAIR La IRM y los infartos resultantes del procedimiento endovascular se determinan mediante la identificación de los infartos presentes en DWI y FLAIR MRI.

35 Además, se describe un péptido aislado que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste o que comprende X1tSX2V (SEC ID NO: 7), donde t y S son aminoácidos alternativos, X1 se selecciona de entre E, Q y A, X2 se selecciona entre A, Q, D, N, (N-metil)-A, (N-metil)-Q, (N-metil)-D, y (N-metil)-N, en donde el péptido se lipida en el aminoácido N-terminal. Algunos péptidos tienen una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en KLSSIESDV o KLSSI-ETDV.

40 Breve descripción de las figuras

45 Figura 1A. Muestra de imágenes de resonancia magnética de DWI y FLAIR de un solo paciente tomado en la inscripción (antes del procedimiento) y el día 2 después del procedimiento endovascular (posterior al procedimiento) Las flechas indican ejemplos de trazos embólicos positivos para DWI (amarillo; paneles superiores) y sus contrapartes positivas para FLAIR (rojo; paneles inferiores). Los paneles de la derecha (ROI) indican la selección de las regiones de interés utilizadas para contar los números y calcular los volúmenes de las lesiones isquémicas.

50 Figura 1B, C: Distribución de los números de lesiones detectables de IRM DWI y los volúmenes de lesiones para todos los pacientes asignados al azar que se sometieron a una IRM de 2 a 4 días (B; n = 184), y para pacientes cuyos accidentes cerebrovasculares fueron <10cc (C; n = 182). Debido a la distribución extremadamente sesgada de los datos, se espera que los medios y sus desviaciones estándar se vean muy afectados por los valores atípicos. Las inserciones en B proporcionan cortes representativos de imágenes de resonancia magnética de DWI de los dos pacientes que experimentaron grandes accidentes cerebrovasculares (> 10 cc) como resultado de complicaciones del procedimiento. Como los recuentos de lesiones son independientes del volumen, los recuentos son menos sensibles a los accidentes cerebrovasculares grandes.

55 Figura 2. Número de pacientes que fueron evaluados, asignados aleatoriamente a un grupo de estudio e incluidos en la población de protocolo. La población de intención a tratar modificada se definió como todos los pacientes que fueron reclutados y asignados al azar a un grupo de estudio y que recibieron el fármaco del estudio (TAT-NR2B9C o Placebo). La población por protocolo se definió como todos los pacientes asignados al azar que recibieron TAT-NR2B9C o placebo y que no fueron excluidos debido a violaciones importantes del protocolo, que incluyeron la

5 incapacidad de completar las exploraciones de IRM post-endovasculares del procedimiento (1 paciente, que murió antes de que se pudiera realizar una exploración), o la falta de asistencia a la visita de finalización del estudio de 30 días debido a muerte o a la negativa a regresar para el seguimiento. Sin embargo, de los 185 pacientes que fueron asignados al azar, 184 completaron sus escaneos MRI del día 2 a 4 después del procedimiento, y estos se incluyeron en el análisis.

Definiciones

Un "péptido quimérico" significa un péptido que tiene péptidos de dos componentes no asociados naturalmente entre sí, pero unidos entre sí como una proteína de fusión o por enlace químico.

10 Una proteína o polipéptido de "fusión" se refiere a un polipéptido compuesto, es decir, una única secuencia de aminoácidos contigua, formada por secuencias de dos (o más) polipéptidos heterólogos distintos que normalmente no se fusionan en una sola secuencia polipeptídica.

15 La expresión "dominio PDZ" se refiere a un dominio de proteína modular de aproximadamente 90 aminoácidos, caracterizado por una identidad de secuencia significativa (por ejemplo, al menos 60%) a la proteína sináptica del cerebro PSD-95, la proteína de unión septada de *Drosophila*. Discos grandes), y la proteína de unión estrecha epitelial ZO1 (ZO1). Los dominios PDZ también se conocen como repeticiones de homología de discos grandes ("DHRs") y repeticiones GLGF (SEQ ID NO: 68). Los dominios PDZ generalmente parecen mantener una secuencia de consenso central (Doyle, DA, 1996, Cell 85: 1067-76). Las proteínas que contienen el dominio PDZ y las secuencias de dominio PDZ ejemplares descritas en la solicitud de EE.UU. n° 10/714.537, que se incorpora al presente documento como referencia en su totalidad.

20 La expresión "proteína PL" o "proteína ligando PDZ" se refiere a una proteína natural que forma un complejo molecular con un dominio PDZ, o una proteína cuyo término carboxi, cuando se expresa por separado de la proteína de longitud completa (por ejemplo, como un fragmento peptídico de 3-25 residuos, por ejemplo 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 14 ó 16 residuos), forma tal complejo molecular. El complejo molecular puede observarse in vitro utilizando el "ensayo A" o el "ensayo G" descritos, por ejemplo, en la solicitud de patente de EE.UU. No. 10/714.537, o in vivo.

25 La expresión "receptor de NMDA", o "NMDAR", se refiere a una proteína asociada a la membrana que se sabe que interactúa con NMDA, incluidas las diversas formas de subunidades que se describen a continuación. Dichos receptores pueden ser humanos o no humanos (por ejemplo, ratón, rata, conejo, mono).

30 Un "motivo PL" se refiere a la secuencia de aminoácidos del extremo C-terminal de una proteína PL (por ejemplo, los 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 20 ó 25 residuos contiguos al extremo C-terminal) ("secuencia PL del C-terminal") o en una secuencia interna conocida por unirse a un dominio PDZ ("secuencia PL interna").

Un "péptido PL" es un péptido que comprende o consiste o está basado de otro modo en un motivo PL que se une específicamente a un dominio PDZ.

35 Los términos "aislado" o "purificado" significan que la especie objeto (por ejemplo, un péptido) se ha purificado a partir de contaminantes que están presentes en una muestra, tal como una muestra obtenida de fuentes naturales que contienen la especie objeto. Si una especie de objeto está aislada o purificada, ésta es la especie macromolecular predominante (por ejemplo, polipéptido) presente en una muestra (es decir, en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición), y preferiblemente la especie objeto comprende al menos aproximadamente el 50 por ciento (sobre una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. En general, una composición aislada, purificada o sustancialmente pura comprende más del 80 al 90 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en una composición. Más preferiblemente, la especie objeto se purifica hasta cierta homogeneidad esencial (es decir, las especies contaminantes no pueden detectarse en la composición mediante métodos de detección convencionales), en la que la composición consiste esencialmente en una sola especie macromolecular. El término aislado o purificado no excluye necesariamente la presencia de otros componentes destinados a actuar en combinación con una especie aislada. Por ejemplo, un péptido de internalización puede describirse como aislado a pesar de que esté unido a un péptido activo o combinado con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 Un "peptidomimético" se refiere a un compuesto químico sintético que tiene sustancialmente las mismas características estructurales y/o funcionales de un péptido que consiste en aminoácidos naturales. El peptidomimético puede contener análogos de aminoácidos totalmente naturales, no naturales, o puede ser una molécula química de aminoácidos peptídicos en parte naturales y análogos de aminoácidos en parte no naturales. El peptidomimético también puede incorporar cualquier cantidad de sustituciones conservativas de aminoácidos naturales siempre que dichas sustituciones no alteren sustancialmente la estructura mimética y/o la actividad inhibitoria o de unión.

55 Los residuos peptidomiméticos individuales se pueden unir mediante enlaces peptídicos, otros enlaces químicos o medios de acoplamiento, tales como, por ejemplo, glutaraldehído, ésteres de N-hidroxisuccinimida, maleimidias bifuncionales, N,N-diciclohexilcarbodiimida (DCC) o N,N-diisopropilcarbodiimida (DIC). Grupos que pueden ser una alternativa a las uniones del enlace amida tradicional ("enlace peptídico") incluyen, por ejemplo, cetometileno

(por ejemplo, $-C(=O)-CH_2-$ para $-C(=O)-NH-$), aminometileno (CH_2-NH), etileno, olefina ($CH=CH$), éter (CH_2-O), tioéter (CH_2-S), tetrazol (CN_4), tiazol, retroamida, tioamida o éster (ver, por ejemplo, Spatola (1983) en *Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins*, Vol. 7, páginas 267-357, A Peptide Backbone Modifications, Marcell Dekker, NY).

- 5 Los miméticos de los aminoácidos aromáticos se pueden generar reemplazándolos, por ejemplo, por D o L-naftilalanina; D- o L-fenilglicina; D- o L-2-tienilalanina; D- o L1,-2,3-, o A-pirenoilalanina; D- o L-3 tienilalanina; D- o L-(2-piridinil)alanina; D- o L-(3-piridinil)alanina; D- o L-(2-pirazinil)alanina; D- o L-(4-isopropil)-fenilglicina; D- (trifluorometil)-fenilglicina; D-(trifluorometil)-fenilalanina; D-p-fluorofenilalanina; D- o L-p-bifenilfenilalanina; K- o L-p-metoxibifenilfenilalanina; D- o L-2-indol(alquil)alaninas; y D-o L-alquilanilinas, donde el alquilo puede ser metilo, etilo, propilo, hexilo, butilo, pentilo, isopropilo, iso-butilo, sec-isobutilo, iso-pentilo, o un aminoácido no ácido sustituido o no sustituido. Los anillos aromáticos de un aminoácido no natural incluyen, por ejemplo, anillos aromáticos de tiazolilo, tiofenilo, pirazolilo, bencimidazolilo, naftilo, furanilo, pirrolilo y piridilo.

- 15 Los miméticos de los aminoácidos ácidos pueden generarse por sustitución, por ejemplo, con aminoácidos no carboxilatos mientras se mantiene una carga negativa; (fosfona)alanina; treonina sulfatada. Los grupos laterales de carboxilo (por ejemplo, aspartilo o glutamilo) también pueden modificarse selectivamente por reacción con carbodiimidas ($RNCNR=$) tales como, por ejemplo, 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4-etil)-carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentil)-carbodiimida. El aspartilo o el glutamilo también se pueden convertir en residuos de asparaginilo y glutaminilo por reacción con los iones de amonio.

- 20 Se pueden generar miméticos de aminoácidos básicos por sustitución, por ejemplo, con (además de lisina y arginina) los aminoácidos ornitina, citrulina o ácido (guanidino)-acético, o ácido (guanidino)-alquilacético, donde alquilo se define encima. El derivado de nitrilo (por ejemplo, que contiene el resto CN en lugar de COOH) puede sustituirse por asparagina o glutamina. Los residuos de asparaginilo y glutaminilo pueden desaminarse a los correspondientes residuos de aspartilo o glutamilo.

- 25 Los miméticos de residuos de arginina pueden generarse haciendo reaccionar arginilo, por ejemplo, con uno o más reactivos convencionales, que incluyen, por ejemplo, fenilgloxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona o ninhidrina, preferiblemente en condiciones alcalinas.

Los miméticos de residuos de tirosina pueden generarse haciendo reaccionar tirosilo, por ejemplo, con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. El N-acetilimidazol y el tetranitrometano se pueden usar para formar especies de O-acetil tirosilo y derivados de 3-nitro, respectivamente.

- 30 Los miméticos de residuos de cisteína pueden generarse haciendo reaccionar residuos de cisteinilo, por ejemplo, con alfa-haloacetatos tales como ácido 2-cloroacético o cloroacetamida y las aminas correspondientes para dar derivados de carboximetilo o carboxiamidometilo. Los miméticos de residuos de cisteína también se pueden generar haciendo reaccionar residuos de cisteinilo, por ejemplo, con bromo-trifluoroacetona, ácido alfa-bromo-beta-(5-imidozoi)-propiónico; fosfato de cloroacetilo, N-alquilmaleimidias, disulfuro de 3-nitro-2-piridilo; disulfuro de metil 2-
35 piridilo; p-cloromercuribenzoato; 2-cloromercuri-4 nitrofenol; o, cloro-7-nitrobenzo-oxa-1,3-diazol.

- Se pueden generar miméticos de lisina (y pueden alterarse los residuos amino terminales) haciendo reaccionar lisinilo con, por ejemplo, anhídridos de ácido succínico u otros ácidos carboxílicos. La lisina y otros miméticos de residuos que contienen alfa-amino también se pueden generar por reacción con imidoésteres, como el metil picolinimidato, piridoxal fosfato, piridoxal, cloroborohidruro, ácido trinitrobenzenosulfónico, O-metilsourea, 2,4,
40 pentanodiona y reacciones transamidasa-catalíticas con glioxilato.

Los miméticos de la metionina se pueden generar por reacción, por ejemplo, con sulfóxido de metionina. Los miméticos de prolina incluyen, por ejemplo, ácido piperídico, ácido tiazolidina carboxílico, 3- o 4-hidroxi-prolina, deshidroprolina, 3- o 4-metilprolina, o 3,3-dimetilprolina. Los miméticos de residuos de histidina pueden generarse haciendo reaccionar histidilo con, por ejemplo, dietilprocarbonato o bromuro de para-bromofenacilo.

- 45 Otros miméticos incluyen, por ejemplo, los generados por la hidroxilación de prolina y lisina; fosforilación de los grupos hidroxilo de los residuos serilo o treonilo; metilación de los grupos alfa-amino de lisina, arginina e histidina; acetilación de la amina N-terminal; metilación de los residuos de amida de la cadena principal o sustitución con N-metilaminoácidos; o amidación de grupos carboxilo C-terminales.

- Los peptidomiméticos de la invención también pueden incluir un residuo mimético estructural, particularmente un residuo que induce o imita estructuras secundarias, tales como un giro beta, lámina beta, estructuras de hélice alfa, giros gamma y similares. Por ejemplo, la sustitución de residuos de aminoácidos naturales con D-aminoácidos; aminoácidos N-alfa-metilo; aminoácidos C-alfa-metilo; o los ácidos deshidroamino dentro de un péptido pueden inducir o estabilizar giros beta, giros gamma, láminas beta o conformaciones de hélice alfa. Las estructuras miméticas de giro beta han sido descritas, por ejemplo, por Nagai (1985) Tet. Lett. 26: 647-650; Feigl (1986) J. Amer. Chem. Soc. 108: 181-182; Kahn (1988) J. Amer. Chem. Soc. 110: 1638-1639; Kemp (1988) Tet. Lett. 29: 5057-5060; Kahn (1988) J. Molec. Recognition 1: 75-79. Las estructuras miméticas de la lámina beta se han descrito, por ejemplo, en Smith (1992) J. Amer. Chem. Soc. 114: 10672-10674. Por ejemplo, Beusen (1995) Biopolymers 36: 181-200 describe un giro beta de tipo VI inducido por un sustituto de amida cis, tetrazol disustituido

- 5 en 1.5. Banerjee (1996), *Biopolymers* 39: 769-777, describe la incorporación de los omega-aminoácidos aquirales para generar unidades de polimetileno como una sustitución de los enlaces amida. Las estructuras secundarias de los polipéptidos se pueden analizar, por ejemplo, en 1H RMN de alto campo o espectroscopia de RMN 2D, ver, por ejemplo, Higgins (1997) *J. Pept. Res.* 50: 421-435. Ver también, Hruby (1997) *Biopolymers* 43: 219-266, Balaji, et al., Patente de EE.UU. N° 5.612.895.
- 10 Los peptidomiméticos pueden contener cualquier combinación de componentes estructurales no naturales, que suelen ser de tres grupos estructurales: a) grupos de enlaces de residuos distintos de los enlaces del enlace amida natural ("enlace peptídico"); b) residuos no naturales en lugar de residuos de aminoácidos naturales; o c) residuos que inducen un mimetismo estructural secundario, es decir, para inducir o estabilizar una estructura secundaria, por ejemplo, un giro beta, un giro gamma, una lámina beta, una conformación de hélice alfa y similares. En un peptidomimético de un péptido quimérico que comprende un péptido activo y un péptido de internalización, el resto activo o el resto de internalización o ambos pueden ser un peptidomimético.
- 15 La expresión "unión específica" se refiere a la unión entre dos moléculas, por ejemplo, un ligando y un receptor, caracterizado por la capacidad de una molécula (ligando) para asociarse con otra molécula específica (receptor) incluso en presencia de muchas otras moléculas diversas, es decir, que muestra la unión preferencial de una molécula por otra en una mezcla heterogénea de moléculas. La unión específica de un ligando a un receptor también se evidencia por la unión reducida de un ligando marcado de manera detectable al receptor en presencia de un exceso de ligando no marcado (es decir, un ensayo de competición de unión).
- 20 La excitotoxicidad es el proceso patológico por el cual las neuronas se dañan y destruyen por la sobreactivación de los receptores para el neurotransmisor excitador glutamato, como los receptores NMDA, por ejemplo, NMDAR2B.
- El término "sujeto" incluye seres humanos y animales veterinarios, como los mamíferos, así como modelos de animales de laboratorio, como ratones o ratas utilizados en estudios preclínicos.
- El término "agente" incluye cualquier compuesto que incluya compuestos con o sin actividad farmacéutica, compuestos naturales, compuestos sintéticos, moléculas pequeñas, péptidos y peptidomiméticos.
- 25 La expresión "agente farmacológico" significa un agente que tiene una actividad farmacológica. Los agentes farmacológicos incluyen compuestos que son fármacos conocidos, compuestos para los cuales se ha identificado una actividad farmacológica pero que se someten a una evaluación terapéutica adicional en modelos animales o ensayos clínicos. Un agente quimérico comprende un agente farmacológico unido a un péptido de internalización. Se puede describir que un agente tiene actividad farmacológica si muestra una actividad en un sistema de detección que indica que el agente activo es o puede ser útil en la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad. El sistema de selección puede ser in vitro, celular, animal o humano. Se puede describir que los agentes tienen actividad farmacológica a pesar de que se requieren pruebas adicionales para establecer la utilidad profiláctica o terapéutica real en el tratamiento de una enfermedad.
- 30 Un péptido tat significa un péptido que comprende o consiste en GRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 1), en el que no se eliminan, sustituyen o insertan más de 5 residuos dentro de la secuencia, que conserva la capacidad de facilitar la captación de un péptido unido u otro agente en las células. Preferiblemente, cualquier cambio de aminoácido son sustituciones conservativas. Preferiblemente, cualquier sustitución, eliminación o inserción interna en el agregado deja el péptido con una carga catiónica neta, preferiblemente similar a la de la secuencia anterior. Esto se puede lograr al no sustituir o eliminar los residuos R y K. Los aminoácidos de un péptido tat se pueden derivar con biotina o una molécula similar para reducir una respuesta inflamatoria.
- 35 La administración conjunta de un agente farmacológico significa que los agentes se administran de manera suficientemente cercana para que las cantidades detectables de los agentes se presenten en el plasma simultáneamente y/o los agentes ejerzan un efecto de tratamiento en el mismo episodio de la enfermedad o los agentes actúen conjuntamente operativa o sinérgicamente en el tratamiento del mismo episodio de enfermedad. Por ejemplo, un agente antiinflamatorio actúa en cooperación con un agente que incluye un péptido tat cuando los dos agentes se administran de manera suficientemente próxima en el tiempo que el agente antiinflamatorio puede inhibir una respuesta inflamatoria inducible por el péptido de internacionalización.
- 40 Estadísticamente significativo se refiere a un valor de p que es <0,05, preferiblemente <0,01 y lo más preferiblemente <0,001.
- 45 Un episodio de una enfermedad significa un período en el que los signos y/o síntomas de la enfermedad están presentes intercalados por flanqueados por periodos más largos en los que los signos y/o síntomas están ausentes o se presentan en menor medida.
- 55 El SNC se utiliza de acuerdo con la convención para indicar el cerebro y/o la médula espinal. La isquemia o la hemorragia pueden afectar el SNC si ocurre en el SNC, inmediatamente proximal al SNC, como una hemorragia subaracnoidea o más distalmente dentro de un vaso sanguíneo que suministra al SNC. La isquemia o hemorragia afecta el SNC, si es de un tipo cuando no se trata, causa patología detectable en el SNC o un déficit neurocognitivo.

En condiciones como la HSA resultante de la ruptura, se considera que la ruptura ocurre el día 1. Por lo tanto, por ejemplo, si la ruptura ocurre un lunes y el tratamiento ocurre dentro de los cuatro días posteriores a la ruptura, el tratamiento ocurre al final del viernes. El tratamiento que se realiza entre los días 5 y 12 después de la ruptura ocurre dentro del período del sábado al viernes siguiente.

- 5 La invención también proporciona métodos para tratar un efecto dañino de la hemorragia subaracnoidea en una población de sujetos, que comprende: administrar un agente que inhibe la unión de PSD-95 a una subunidad NMDAR2 a sujetos que tienen una hemorragia subaracnoidea, en donde el efecto dañino se reduce en la población administrada en comparación con los sujetos control que no recibieron el agente. El efecto dañino que se reduce puede ser la muerte de las células neuronales o un déficit cognitivo.

10 Descripción detallada

I. General

La presente solicitud proporciona datos de un ensayo clínico de un inhibidor de PSD-95 en sujetos que se someten a una reparación endovascular de un aneurisma en el SNC o que de otra manera afectan al SNC. Los sujetos se estratificaron según si el aneurisma se rompía antes de realizar la cirugía endovascular. La ruptura se asocia con una mayor mortalidad o un mayor debilitamiento si un sujeto sobrevive. El resultado se evaluó por el número y el volumen de los infartos y las medidas neurocognitivas. El ensayo proporcionó pruebas de un beneficio significativo en los sujetos que albergaban un aneurisma intracraneal que necesitaba de reparación endovascular ya sea que el aneurisma se rompiera o no antes de la cirugía endovascular realizada, y mostró efectos secundarios mínimos. Sorprendentemente, sin embargo, los sujetos que más se beneficiaron del tratamiento, según lo juzgado tanto por la patología como por el resultado neurocognitivo, fueron aquellos en los que el aneurisma se había roto antes del procedimiento endovascular que causaba la hemorragia subaracnoidea. Estos datos constituyen una prueba de que el inhibidor de PSD-95 es beneficioso no solo en accidentes cerebrovasculares isquémicos y hemorrágicos, sino en formas de hemorragias en el SNC o que afectan al SNC, ya sea como resultado de un accidente cerebrovascular, incluyendo hemorragia cerebral, hemorragia intracerebral, hemorragia intracraneal (ICH), neurotrauma, lesión cerebral traumática y hemorragias subdurales y epidurales y, en particular, hemorragias subaracnoideas (HSA). Que el tratamiento con un inhibidor de PSD-95 sea efectivo en lesiones tanto isquémicas como hemorrágicas en el SNC, y que tenga efectos secundarios mínimos, significa que se puede administrar un inhibidor de este tipo a cualquier sujeto que presente signos de apoplejía o hemorragia que afecten al SNC sin demorar el tratamiento realizando primero un trabajo de diagnóstico detallado, típicamente una exploración del cerebro, para distinguir entre isquemia y hemorragia. El ensayo también mostró que el inhibidor de la PSD-95 era eficaz en reducir el dolor asociado a veces con la cirugía endovascular a lo largo de la vía de la punción de la ingle necesaria para insertar los catéteres endovasculares en el sistema arterial y atravesar su sitio de acción, en este caso, una vía desde el área de la ingle hasta el área del cerebro (p. ej., pierna, ingle, área abdominal, pecho, cuello y cabeza). Si bien los inhibidores de PSD-95 se han reportado como efectivos en el tratamiento de algunas formas de dolor, el resultado es que la misma administración del inhibidor de PSD-95 tiene una doble acción para inhibir el daño que resulta de la reparación endovascular de un aneurisma y el tipo de dolor causado por la propia cirugía endovascular no se conocía.

II. Agentes inhibidores de PSD-95

Dichos agentes inhiben las interacciones entre PSD-95 y uno o más NMDAR, por ejemplo, mediante la unión específica a PSD-95. Preferiblemente, la inhibición es de un NMDAR2 (por ejemplo, 2A, 2B, 2C o 2D). La referencia a tales agentes puede referirse a los agentes solos o más típicamente en el caso de agentes peptídicos, los agentes vinculados a un péptido de internalización como un péptido quimérico. Dichos agentes son útiles para reducir uno o más efectos dañinos del accidente cerebrovascular y otras afecciones neurológicas mediadas, al menos en parte, por la excitotoxicidad de NMDAR. Dichos agentes incluyen péptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que incluye o se basa en el resto PL de un receptor de NMDA o dominio PDZ de PSD-95. Dichos péptidos también pueden inhibir las interacciones entre PSD-95 y nNOS y otros receptores de glutamato (p. ej., receptores de kainito o receptores de AMPA), tales como KV1-4 y GluR6. Los péptidos preferidos inhiben la interacción entre los dominios PDZ 1 y 2 de la proteína de la densidad postsináptica 95 (PSD-95) (secuencia de aminoácidos humana proporcionada por Stathakism, Genomics 44 (1): 71-82 (1997)) y la secuencia C terminal PL de una o más subunidades del receptor de NMDA 2, incluida la subunidad NR2B del receptor neuronal de N-metil-D-aspartato (Mandich et al., Genomics 22, 216-8 (1994)). NMDAR2B tiene GenBank ID 4099612, un resto C terminal de 20 aminoácidos FNGSSNGHVYEKLSIESDV (SEQ ID NO: 11) y un resto PL ESDV (SEQ ID NO: 12). Los péptidos preferidos inhiben las formas humanas de PSD-95 y los receptores NMDAR humanos. Sin embargo, la inhibición también se puede mostrar a partir de variantes de especies de las proteínas. A continuación, se muestra una lista de los receptores de NMDA y de glutamato que se pueden usar:

55

Tabla 1: Receptores de NMDA Con Secuencias PL

Nombre	No. de G l o Acc	C-terminal 20 mer	Secuencia C terminal de 4mer	PL?
NMDAR1	307302	HPTDITGPLNLSDPVSTVV (SEC ID N°: 13)	STVV (SEQ ID NO: 27)	X
NMDAR1-1	292282	HPTDITGPLNLSDPVSTVV (SEC ID N°: 13)	STVV (SEQ ID NO: 27)	X
NMDAR1-4	472845	HPTDITGPLNLSDPVSTVV (SEC ID N°: 13)	STVV (SEQ ID NO: 27)	X
NMDAR1-3b	2343286	HPTDITGPLNLSDPVSTVV (SEC ID N°: 13)	STVV (SEQ ID NO: 27)	X
NMDAR1-4b	2343288	HPTDITGPLNLSDPVSTVV (SEC ID N°: 13)	STVV (SEQ ID NO: 27)	X
NMDAR1-2	11038634	RRAIEREEGQLQLCSRHRES (SEC ID NO: 14)	HRES (SEQ ID NO: 28)	
NMDAR1-3	11038636	RRAIEREEGQLQLCSRHRES (SEC ID NO: 14)	HRES (SEQ ID NO: 28)	
NMDAR2C	6006004	TQGFPGPCTWRRISSESEV (SEC ID NO: 15)	ESEV (SEQ ID NO: 29)	X
NMDAR3	560546	FNGSSNGHVYEKLSIESDV (SEC ID N°: 11)	ESDV (SEQ ID NO: 12)	X
NMDAR3A	17530176	AVSRKTELEEYQRTSRTCES (SEC ID N°: 16)	TCES (SEQ ID NO: 30)	
NMDAR2B	4099612	FNGSSNGHVYEKLSIESDV (SEC ID N°: 11)	ESDV (SEQ ID NO: 12)	X
NMDAR2A	558748	LNSCSNRRVYKKMPSIESDV (SEC ID N°: 17)	ESDV (SEQ ID NO: 12)	X
NMDAR2D	4504130	GGDLGTRRGS AHFSSLESEV (SEC ID NO: 18)	ESEV (SEQ ID NO: 29)	X
Receptor de glutamato delta 2	AF009014	QPTPTLGLNLGNDPDRGTSI (SEC ID N°: 19)	GTSI (SEQ ID NO: 31)	X
Receptor de glutamato 1	I28953	MQSIPCMSSHSGMPLGATGL (SEC ID N°: 20)	ATGL (SEQ ID NO: 32)	X
Receptor de glutamato 2	L20814	QNFATYKEGYNVYGIESVKI (SEC ID N°: 21)	SVKI (SEQ ID NO: 33)	X
Receptor de glutamato 3	AF167332	QNYATYREGYNVYGTESVKI (SEC ID N°: 22)	SVKI (SEQ ID NO: 33)	X
Receptor de glutamato 4	U16129	HTGTAIRQSSGLAVIASDLP (SEC ID N°: 23)	SDLP (SEQ ID NO: 34)	
Receptor de glutamato 5	U16125	SFTSILTCHQRRTQRKETVA (SEC ID N°: 24)	ETVA (SEQ ID NO: 35)	X
Receptor de glutamato 6	U16126	EVINMHTFNDRRLPGKETMA (SEC ID N°: 25)	ETMA (SEQ ID NO: 36)	X

5 Algunos péptidos inhiben las interacciones entre PSD-95 y múltiples subunidades NMDAR. En tales casos, el uso del péptido no requiere necesariamente un entendimiento de las contribuciones respectivas de los diferentes NMDAR a la neurotransmisión excitadora. Otros péptidos son específicos para un solo NMDAR.

10 Los péptidos pueden incluir o estar basados en un resto PL del extremo C de cualquiera de las subunidades anteriores y tener una secuencia de aminoácidos que comprende [S/T]-X-[V/L]. Esta secuencia aparece preferiblemente en el extremo C de los péptidos de la invención. Los péptidos preferidos tienen una secuencia de aminoácidos que comprende [E/D/N/Q]-[S/T]-[D/E/Q/N]-[V/L] (SEQ ID NO: 38) en su extremo C. Los péptidos ejemplares comprenden: ESDV (SEQ ID NO: 12), ESEV (SEQ ID NO: 29), ETDV (SEQ ID NO: 39), ETEV (SEQ ID NO: 40), DTDV (SEQ ID NO: 41) y DTEV (SEQ ID NO: 42) como los aminoácidos C-terminales. Dos péptidos particularmente preferidos tienen una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en KLSSIESDV (SEC ID

NO: 5) y KLSSIETDV (SEC ID NO: 43). Dichos péptidos tienen habitualmente 3-25 aminoácidos (sin un péptido de internalización), se prefieren longitudes de péptido de 5-10 aminoácidos, y particularmente 9 aminoácidos (también sin un péptido de internalización). En algunos de dichos péptidos, todos los aminoácidos son del extremo C de un receptor de NMDA (sin incluir los aminoácidos de un péptido de internalización). También se describen los peptidomiméticos de estos y otros péptidos descritos en el presente documento.

Otros péptidos que inhiben las interacciones entre PSD95 y NDMAR incluyen péptidos del dominio 1 y/o 2 de PDZ de PSD-95 o un subfragmento de cualquiera de estos que inhibe las interacciones entre PSD-95 y un receptor NMDA, como NR2B. Dichos péptidos activos comprenden al menos 50, 60, 70, 80 o 90 aminoácidos del dominio 1 de PDZ y/o el dominio 2 de PDZ de PSD-95, que se producen dentro de aproximadamente los aminoácidos 65-248 de PSD-95 proporcionados por Stathakism, Genomics 44 (1): 71-82 (1997) (secuencia humana) o NP_031890.1, GI: 6681195 (secuencia de ratón) o regiones correspondientes de otras variantes de especies.

Los péptidos y peptidomiméticos de la invención pueden contener residuos de aminoácidos modificados, por ejemplo, residuos que están alquilados en N. Las modificaciones de alquilo N-terminal pueden incluir, p. ej., N-metilo, N-etilo, N-propilo, N-butilo, N-ciclohexilmetilo, N-ciclohexiletilo, N-bencilo, N-feniletilo, N-fenilpropilo, N-(3,4-diclorofenil)propilo, N-(3,4-difluoropenil)propilo y N-(naftalen-2-il)etilo).

Bach, J. Med. Chem. 51, 6450-6459 (2008) y WO 2010/004003 han descrito una serie de análogos de NR2B9c (SEQ ID NO: 6). La actividad de unión a PDZ es exhibida por péptidos que tienen solamente tres aminoácidos C-terminales (SDV). Bach también informa de análogos que tienen una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en X₁tSX₂V (SEQ ID NO: 7), en donde t y S son aminoácidos alternativos, X₁ se selecciona entre E, Q y A, o un análogo de los mismos, X₂ se selecciona entre A, Q, D, N, N-Me-A, N-Me-Q, N-Me-D y N-Me-N o un análogo de los mismos. Opcionalmente, el péptido se alquila en N en la posición P3 (tercer aminoácido desde el extremo C, es decir, la posición ocupada por tS). El péptido puede estar alquilado en N con un ciclohexano o sustituyente aromático, y comprende además un grupo espaciador entre el sustituyente y el grupo amino terminal del péptido o análogo de péptido, en donde el espaciador es un grupo alquilo, preferiblemente seleccionado entre metileno, etileno, propileno y butileno. El sustituyente aromático puede ser un resto naftalen-2-ilo o un anillo aromático sustituido con uno o dos grupos halógeno y/o alquilo.

También se pueden incorporar otras modificaciones sin afectar adversamente la actividad y estas incluyen la sustitución de uno o más de los aminoácidos en la forma isomérica L natural con aminoácidos en la forma isomérica D. Por lo tanto, cualquier aminoácido que aparezca naturalmente en la configuración L (que también puede referirse como R o S, dependiendo de la estructura de la entidad química) puede reemplazarse con el aminoácido del mismo tipo estructural químico o un peptidomimético, pero de la quiralidad opuesta, generalmente referido como el D-aminoácido, pero que adicionalmente se puede referir como la forma R o S. Por lo tanto, un peptidomimético puede incluir 1, 2, 3, 4, 5, al menos el 50%, o todos los residuos de D-aminoácidos. Un peptidomimético que contiene algunos o todos los residuos D se refiere a veces como un péptido "inverso".

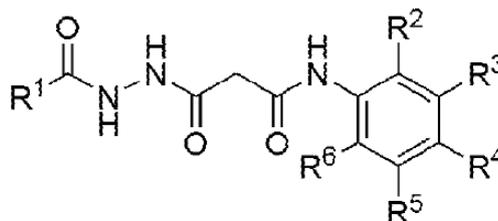
Los peptidomiméticos también incluyen retro péptidos. Un retro péptido tiene una secuencia de aminoácidos inversa. Los peptidomiméticos también incluyen péptidos retro inversos en los que se invierte el orden de los aminoácidos, de modo que el aminoácido C-terminal originalmente aparece en el extremo N y se usan los D-aminoácidos en lugar de los L-aminoácidos. El documento WO 2008/014917 describe un análogo retro inverso de Tat-NR2B9c que tiene la secuencia de aminoácidos vdseisslk-rrrqrkkrgyin (SEQ ID NO: 8) (indicando las letras minúsculas D aminoácidos), e informa que es un inhibidor efectivo de la isquemia cerebral. Otro péptido efectivo descrito en la presente memoria es Rv-Tat-NR2B9c (RRRQRRKRGYKLSSIESDV; SEQ ID NO: 9).

Se puede usar un enlazador, p. ej., un enlazador de polietilenglicol, para dimerizar el resto activo del péptido o del peptidomimético para aumentar su afinidad y selectividad hacia proteínas que contienen dominios PDZ en tándem. Véase, p. ej., Bach et al., (2009) Angew. Chem. Int. Ed. 48: 9685-9689 y el documento WO 2010/004003. Un péptido que contiene un resto PL se dimeriza preferiblemente mediante la unión del extremo N de dos de dichas moléculas, dejando el extremo C libre. Bach informa además que un péptido pentámero IESDV (SEC ID NO: 10) del término C de NMDAR2B fue eficaz en inhibir la unión de NMDAR2B a PSD-95. Opcionalmente, aproximadamente 2-10 copias de un PEG se pueden unir en tándem como un enlazador.

La actividad farmacológica apropiada de los péptidos, peptidomiméticos u otro agente puede confirmarse, si se desea, usando modelos de accidente cerebrovascular en ratas previamente descritos antes del ensayo en primates y ensayos clínicos descritos en la presente solicitud. Los péptidos, peptidomiméticos u otros agentes también pueden analizarse para determinar su capacidad para inhibir las interacciones entre PSD-95 y NMDAR2B utilizando los ensayos descritos en, por ejemplo, el documento US 20050059597, que se incorpora como referencia. Los péptidos, peptidomiméticos u otros agentes útiles tienen típicamente valores de CI50 de menos de 50 μM, 25 μM, 10 μM, 0,1 μM o 0,01 μM en tal ensayo. Los péptidos preferidos tienen típicamente un valor de CI50 de entre 0,001-1 mM, y más preferiblemente 0,05-0,5 o de 0,05 a 0,1 mM. Cuando un péptido, peptidomimético u otro agente se caracteriza como que inhibe la unión de una interacción, p. ej., la interacción de PSD-95 con NMDAR2B, dicha descripción no excluye que el péptido o el agente también inhiba otra interacción, por ejemplo, la inhibición de la unión de PSD-95 a nNOS.

Los péptidos tales como los que se acaban de describir pueden derivatizarse opcionalmente (p. ej., acetilarse, fosforilarse y/o glicosilarse) para mejorar la afinidad de unión del inhibidor, para mejorar la capacidad del inhibidor para ser transportado a través de una membrana celular o para mejorar la estabilidad. Como un ejemplo específico, para los inhibidores en los que el tercer residuo desde el extremo C es S o T, este residuo puede ser fosforilado antes del uso del péptido.

Los agentes farmacológicos también incluyen moléculas pequeñas que inhiben las interacciones entre PSD-95 y NMDAR2B, y/u otras interacciones descritas anteriormente. Los inhibidores de moléculas pequeñas adecuados se describen en el documento WO/2009/006611. Una clase ejemplar de compuestos adecuados son de la fórmula:



10 en donde R^1 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en ciclohexilo sustituido con 0-4 R^7 , fenilo sustituido con 0-4 R^7 , $-(CH_2)_u-(CHR^8R^9)$, un alquilo C_{1-6} ramificado (isopropilo, isobutilo, 1-isopropil-2-metil-butilo, 1-etilpropilo) y $-NH-C(O)-(CR^{10}R^{11})_vH$;

cada R^7 es independientemente un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , $-C(O)R^{12}$, OH, COOH, $-NO$, indolina N-sustituida y un péptido de translocación de la membrana celular;

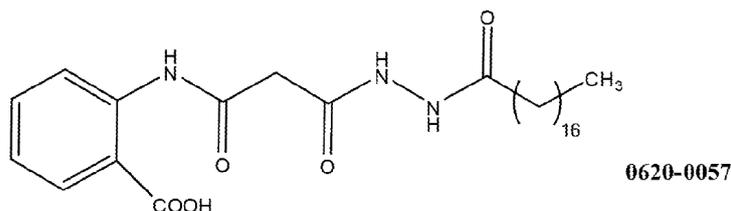
15 cada R^8 y R^9 se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, OH, ciclohexano, ciclopentano, fenilo, fenilo sustituido y ciclopentadieno;

cada R^{10} y R^{11} se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, ciclohexano, fenilo y un péptido de translocación de la membrana celular;

20 R^{12} es un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo C_{1-6} y arilo; y cada uno de u y v son independientemente de 0 a 20;

en donde uno de R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 es $-COOH$, y en donde el resto de R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en F, H, OCH_3 y CH_3 .

Uno de estos compuestos es 0620-0057, cuya estructura es:



25 Un agente farmacológico puede estar ligado a un péptido de internalización para facilitar la captación en las células y/o a través de la barrera hematoencefálica. Cualquiera de los agentes farmacológicos anteriores se puede vincular a cualquiera de los péptidos de internalización descritos a continuación. Los péptidos de internalización son una clase muy conocida de péptidos relativamente cortos que permiten que muchas proteínas celulares o virales atraviesen las membranas. Los péptidos de internalización, también conocidos como péptidos de transducción de
 30 membrana celular o péptidos que penetran en la célula, pueden tener, p. ej., 5-30 aminoácidos. Dichos péptidos tienen típicamente una carga catiónica de una representación normal anterior (relativa a las proteínas en general) de residuos de arginina y/o lisina que se cree que facilita su paso a través de las membranas. Algunos de dichos péptidos tienen al menos 5, 6, 7 u 8 residuos de arginina y/o lisina. Los ejemplos incluyen la proteína antenapedia (Bonfanti, Cancer Res. 57, 1442-6 (1997)) (y variantes de la misma), la proteína tat del virus de la inmunodeficiencia humana, la proteína VP22, el producto del gen UL49 del virus del herpes simple tipo 1, Penetratina, SynBI y 3, Transportano, Anfipático, gp41NLS, poliArg, y varias toxinas proteicas bacterianas y de plantas, como la ricina, abrina, modicina, toxina de la difteria, toxina del cólera, toxina del ántrax, toxinas lábiles al calor y exotoxina A de Pseudomonas aeruginosa (ETA). Otros ejemplos se describen en las siguientes referencias (Temsamani, Drug
 35 Discovery Today, 9 (23): 1012-1019, 2004; De Coupade, Biochem J., 390: 407-418, 2005; Saalik Bioconjugate Chem. 15: 1246-1253, 2004; Zhao, Medicinal Research Reviews 24 (1): 1-12, 2004; Deshayes, Cellular and Molecular Life Sciences 62: 1839-49, 2005); Gao, ACS Chem. Biol. 2011, 6, 484-491, SG3 (RLSGMNEVLSFRWL (todos ellos incorporados por referencia).
 40

Un péptido de internalización preferido es tat del virus del VIH. Un péptido tat informado en un trabajo previo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos estándar YGRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 2) encontrada en la proteína Tat del VIH. Por lo tanto, dos agentes preferidos que incorporan este péptido tat son los péptidos que comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRKLSSIESDV, SEC ID NO: 6 (también conocida como Tat-NR2B9c o TAT-NR2B9C) o YGRKKRRQRRKLSSI-ETDV (SEQ ID NO. 37). Si están presentes residuos adicionales que flanquean dicho resto tat (además del agente farmacológico), los residuos pueden ser, por ejemplo, aminoácidos naturales que flanquean este segmento de una proteína tat, aminoácidos espaciadores o enlazadores de un tipo usado típicamente para unir dos dominios peptídicos, p. ej., gly(ser)4 (SEQ ID NO: 44), TGEKP (SEQ ID NO: 45), GGRRGGGS (SEQ ID NO: 46), o LRQRDGERP (SEQ ID NO: 47) (véase, p. ej., Tang et al. (1996), J. Biol. Chem. 271, 15682-15686; Hennecke et al. (1998), Protein Eng. 11, 405-410)), o puede ser cualquier otro aminoácido que no reduzca significativamente la capacidad para conferir la captación de la variante sin los residuos flanqueantes. Preferiblemente, el número de aminoácidos flanqueantes distintos de un péptido activo no excede de diez a cada lado de YGRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 2). Un péptido tat adecuado que comprende residuos de aminoácidos adicionales que flanquean el extremo C de YGRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 2) es YGRKKRRQRRRPQ (SEQ ID NO: 48). Sin embargo, preferiblemente, no están presentes aminoácidos flanqueantes. Otros péptidos tat que se pueden usar incluyen GRKKRRQRRRPQ (SEQ ID NO: 4) y GRKKRRQRRRP (SEQ ID NO: 26).

Las variantes del péptido tat anterior que tienen una capacidad reducida para unirse a los canales de calcio de tipo N se describen por el documento WO/2008/109010. Dichas variantes pueden comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos XGRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 49), en la que X es un aminoácido distinto de Y o nada (en cuyo caso G es un residuo N-terminal libre). Un péptido tat preferido tiene el residuo Y N-terminal sustituido con F. Por lo tanto, se prefiere un péptido tat que comprende o que consiste en FGRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 3). Otra variante preferida del péptido tat consiste en GRKKRRQRRR (SEQ ID NO: 1). Otro péptido tat preferido comprende o consiste en RRRQRRKKRG o RRRQRRKKRGY (aminoácidos 1-10 o 1-11 de la SEQ ID NO: 9). Otros péptidos derivados de tat que facilitan la captación de un agente farmacológico sin inhibir los canales de calcio de tipo N incluyen los que se presentan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

X-FGRKKRRQRRR (F-Tat) (SEQ ID NO: 69)
X-GKKKKKQKKK (SEQ ID NO: 50)
X-RKKRRQRRR (SEQ ID NO: 51)
X-GAKKRRQRRR (SEQ ID NO: 52)
X-AKKRRQRRR (SEQ ID NO: 53)
X-GRKARRQRRR (SEQ ID NO: 54)
X-RKARRQRRR (SEQ ID NO: 55)
X-GRKKARQRRR (SEQ ID NO: 56)
X-RKKARQRRR (SEQ ID NO: 57)
X-GRKKRRQARR (SEQ ID NO: 58)
X-RKKRRQARR (SEQ ID NO: 59)
X-GRKKRRQRAR (SEQ ID NO: 60)
X-RKKRRQRAR (SEQ ID NO: 61)
X-RRPRRPRRPRR (SEQ ID NO: 62)
X-RRARRARRARR (SEQ ID NO: 63)
X-RRRARRRARR (SEQ ID NO: 64)
X-RRRPRRPRR (SEQ ID NO: 65)
X-RRPRRPRR (SEQ ID NO: 66)
X-RRARRARR (SEQ ID NO: 67)

X puede representar un extremo amino libre, uno o más aminoácidos, o un resto conjugado. Los péptidos de internalización pueden usarse en forma inversa o retro o retro inversa con o sin el péptido unido o el peptidomimético en dicha forma. Por ejemplo, un péptido químico preferido tiene una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en RRRQRRKKRGYKLSSIESDV (SEC ID NO: 9) o que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende o que consiste en RRRQR-RKKRGY-KLSSIETDV (SEC ID NO: 37).

Los péptidos de internalización pueden unirse a agentes farmacológicos por métodos convencionales. Por ejemplo,

los agentes pueden unirse a péptidos de internalización por enlace químico, por ejemplo, a través de un agente de acoplamiento o conjugación. Numerosos de dichos agentes están disponibles comercialmente y están revisados por S. S. Wong, *Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking*, CRC Press (1991). Algunos ejemplos de reactivos de reticulación incluyen 3-(2-piridilditio) propionato de J-succinimidilo (SPDP) o N,N'-(1,3-fenileno) bismaleimida; N,N'-etilen-bis-(yodoacetamida) u otro reactivo de este tipo que tenga puentes de metileno de 6 a 11 carbonos (lo que es relativamente específico para los grupos sulfhidrilo); y 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno (que forma enlaces irreversibles con grupos amino y tirosina). Otros reactivos de reticulación incluyen p,p'-difluoro-m,m'-dinitrodifenilsulfona (que forma enlaces cruzados irreversibles con grupos amino y fenólicos); adipimidato de dimetilo (que es específico para grupos amino); cloruro de fenol-1,4-disulfonilo (que reacciona principalmente con grupos amino); hexametilendiisocianato o diisotiocianato, o azofenil-p-diisocianato (que reacciona principalmente con grupos amino); glutaraldehído (que reacciona con varias cadenas laterales diferentes) y disdiazobencidina (que reacciona principalmente con tirosina e histidina).

Para agentes farmacológicos que son péptidos, la unión a un péptido de internalización se puede lograr generando una proteína de fusión que comprende la secuencia peptídica fusionada, preferiblemente en su extremo N, a un péptido de internalización.

En lugar de o así como la unión de un péptido (u otro agente) que inhibe PSD-95 a un péptido de internalización, dicho péptido se puede unir a un lípido (lipidación) para incrementar la hidrofobicidad del conjugado en relación con el péptido solo y así facilitar el paso del péptido unido a través de las membranas celulares y/o a través de la barrera cerebral. La lipidación se realiza preferiblemente en el aminoácido N-terminal, pero también puede realizarse en aminoácidos internos, siempre que la capacidad del péptido para inhibir la interacción entre PSD-95 y NMDAR 2B no se reduzca en más del 50%. Preferiblemente, la lipidación se realiza en un aminoácido distinto de uno de los cuatro aminoácidos más C-terminales. Los lípidos son moléculas orgánicas más solubles en éter que en agua e incluyen ácidos grasos, glicéridos y esteroides. Las formas adecuadas de lipidación incluyen miristoilación, palmitoilación o unión de otros ácidos grasos, preferiblemente con una cadena con una longitud de 10 a 20 carbonos, tales como ácido láurico y ácido esteárico, así como geranilación, geranylgeranilación e isoprenilación. Se prefieren las lipidaciones de un tipo que se producen en la modificación posterior a la traducción de proteínas naturales. También se prefiere la lipidación con un ácido graso a través de la formación de un enlace amida con el grupo alfa-amino del aminoácido N-terminal del péptido. La lipidación puede ser por síntesis peptídica que incluye un aminoácido prelipidado, puede realizarse enzimáticamente *in vitro* o por expresión recombinante, por reticulación química o derivación química del péptido. Los aminoácidos modificados por miristoilación y otras modificaciones lipídicas están disponibles comercialmente.

La lipidación facilita preferiblemente el paso de un péptido unido (p. ej., KLSSIESDV (SEQ ID NO: 5) o KLSSIETDV (SEQ ID NO: 43)) a través de una membrana celular y/o la barrera hematoencefálica sin causar una reducción transitoria de la presión sanguínea como se ha encontrado cuando un péptido tat estándar se administra a una dosis alta (p. ej., a 3 mg/kg o más), o al menos con una reducción menor que la del mismo péptido unido a un péptido tat estándar.

Los péptidos farmacológicos, opcionalmente fusionados con los péptidos tat, pueden sintetizarse mediante síntesis en fase sólida o métodos recombinantes. Los peptidomiméticos pueden sintetizarse usando una variedad de procedimientos y metodologías descritas en la bibliografía científica y de patentes, p. ej., *Organic Syntheses Collective Volumes*, Gilman et al. (Eds) John Wiley & Sons, Inc., NY, al-Obeidi (1998) *Mol. Biotechnol.* 9: 205-223; Hruby (1997) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1: 114-119; Ostergaard (1997) *Mol. Divers.* 3: 17-27; Ostresh (1996) *Methods Enzymol.* 267: 220-234.

III. Agentes y métodos de reperfusión

El tratamiento de los accidentes cerebrovasculares isquémicos con un inhibidor de PSD-95 se puede combinar con la terapia de reperfusión. Dicha reperfusión se puede lograr mediante la administración intravenosa o intraarterial de agentes trombolíticos como el tPA, estreptoquinasa o uroquinasa, usando medios mecánicos para volver a abrir las arterias bloqueadas, o por otros medios para mejorar la circulación colateral a un área cerebral isquémica. Al administrar el inhibidor de PSD-95, hay más tiempo disponible para realizar una exploración cerebral para determinar la presencia de un accidente cerebrovascular isquémico, y luego administrar tPA o administrar otra terapia de reperfusión si es apropiado. Por lo tanto, más sujetos con accidente cerebrovascular isquémico pueden beneficiarse del tratamiento con tPA o de otra terapia que mejore la reperfusión cerebral y, al mismo tiempo, se beneficien del tratamiento con un inhibidor de la PSD-95.

Las placas, los coágulos de sangre o cualquier otro material particulado (conocido colectivamente como embolias) que causan isquemia se pueden disolver o eliminar por medios farmacológicos y físicos. La disolución, eliminación de embolias u otras obstrucciones al flujo sanguíneo y la consiguiente restauración del flujo sanguíneo se conoce como reperfusión. Una clase de agentes actúa por trombólisis. Estos agentes actúan estimulando la fibrinólisis por plasmina a través de la infusión del activador tisular del plasminógeno (tPA). La plasmina limpia la malla de fibrina reticulada (la estructura de un coágulo), lo que hace que el coágulo sea soluble y se someta a una proteólisis adicional por parte de otras enzimas, y restaura el flujo sanguíneo en los vasos sanguíneos ocluidos. Los ejemplos de agentes trombolíticos incluyen el activador tisular del plasminógeno t-PA, alteplasa (Activase®), reteplasa

(Retavase®), tenecteplasa (TNKase®), anistreplasa (Eminase®), estreptoquinasa (Kabikinase®, Streptase®) y urocinasa (Abbokinase®).

Otra clase de medicamentos que se pueden usar para la reperfusión son los vasodilatadores. Estas drogas actúan relajando y abriendo los vasos sanguíneos permitiendo que la sangre fluya alrededor de una obstrucción. Algunos ejemplos de tipos de antagonistas vasodilatadores alfa-adrenoceptores (alfa-bloqueantes), bloqueadores de los receptores de angiotensina (ARBs), agonistas beta2-adrenérgicos (beta2-agonistas), bloqueadores de los canales de calcio (BCC), simpaticolíticos de actuación central, vasodilatadores de acción directa, antagonistas de los receptores de la endotelina, bloqueadores ganglionares, nitrodilatadores, inhibidores de la fosfodiesterasa, abridores de los canales de potasio e inhibidores de la renina.

Los métodos mecánicos de reperfusión incluyen angioplastia, cateterización y cirugía de injerto de bypass arterial, colocación de stent, embolectomía o endarterectomía. Dichos procedimientos restauran el flujo de placa mediante la eliminación mecánica de una placa, manteniendo un vaso sanguíneo abierto, para que la sangre pueda fluir alrededor de una placa o evitando una placa. Otros métodos para mejorar la reperfusión incluyen dispositivos adyuvantes, como los globos intraaórticos (CoAxia NeuroFlo™) que desvían el flujo cardíaco de la sangre a la circulación cerebral, lo que aumenta la perfusión colateral en el área isquémica (consúltese la página www.tralestals.gov/ct2/show/NC00119717).

IV. Accidente cerebrovascular

Un accidente cerebrovascular es una afección que resulta de un flujo sanguíneo deficiente en el SNC, independientemente de la causa. Las posibles causas incluyen embolia, hemorragia y trombosis. Algunas células neuronales mueren inmediatamente como resultado de la alteración del flujo sanguíneo. Estas células liberan sus moléculas componentes, incluido el glutamato, que a su vez activa los receptores de NMDA, que elevan los niveles de calcio intracelular, y los niveles de enzimas intracelulares que dan lugar consecuentemente a una muerte de las células neuronales (la cascada de excitotoxicidad). La muerte del tejido del SNC se conoce como infarto. El volumen de infarto (es decir, el volumen de células neuronales muertas a causa de un accidente cerebrovascular en el cerebro) se puede usar como un indicador de la extensión del daño patológico resultante del accidente cerebrovascular. En algunos casos, los accidentes cerebrovasculares pueden surgir debido a múltiples embolias o por una arteriopatía generalizada. En el primer caso, las embolias pueden surgir del corazón, como en el caso de la endocarditis, fibrilación auricular o enfermedad valvular cardíaca. En el último, la arteriopatía puede comprender una arteritis (una inflamación infecciosa o autoinmune de las arterias). En tales casos, pueden surgir múltiples accidentes cerebrovasculares en el cerebro, a veces debido a muchas embolias pequeñas. En tales casos, otro medio para medir la extensión del daño patológico resultante del accidente cerebrovascular es contar el número de lesiones isquémicas. Esto se aplica especialmente en el caso de accidentes cerebrovasculares inducidos por procedimientos, como los accidentes cerebrovasculares después de la reparación endovascular de un aneurisma cerebral. En este caso, la manipulación intravascular puede liberar múltiples embolias que pueden producir muchos accidentes cerebrovasculares en el cerebro. El efecto sintomático depende tanto del volumen del infarto como del lugar donde se encuentra en el cerebro. El índice de discapacidad se puede usar como una medida del daño sintomático, tal como la Escala Modificada de Rankin para los accidentes cerebrovasculares (Rankin, Scott Med J; 2: 200-15 (1957)) y el Índice de Barthel. La escala de Rankin se basa en evaluar directamente las condiciones globales de un paciente de la siguiente manera.

Tabla 3

0	Sin síntomas en absoluto
1	No hay discapacidad significativa a pesar de los síntomas; capaz de realizar todos los deberes y actividades habituales.
2	Discapacidad leve; incapaz de llevar a cabo todas las actividades anteriores pero capaz de cuidar de sus propios asuntos sin ayuda.
3	Discapacidad moderada que requiere ayuda, pero que puede caminar sin ayuda
4	Discapacidad de moderada a severa; incapaz de caminar sin ayuda e incapaz de atender sus propias necesidades corporales sin ayuda.
5	Discapacidad severa; postrado en la cama, incontinente, y que requiere atención y cuidados de enfermería constantes.

El Índice de Barthel se basa en una serie de preguntas sobre la capacidad del paciente para realizar 10 actividades básicas de la vida diaria que dan como resultado una puntuación entre 0 y 100, indicando una calificación más baja más discapacidad (Mahoney et al, Maryland State Medical Journal 14:56-61 (1965)).

Alternativamente, la gravedad/resultados de los accidentes cerebrovasculares se pueden medir usando la escala de accidentes cerebrovasculares del NIH, disponible en el sitio web mundial

ninds.nih.gov/doctors/NIH_Stroke_Scale_Booklet.pdf.

La escala se basa en la capacidad de un paciente para llevar a cabo 11 grupos de funciones que incluyen evaluaciones del nivel de conciencia del paciente, funciones motoras, sensoriales y del lenguaje.

5 Un accidente cerebrovascular isquémico se refiere más específicamente a un tipo de accidente cerebrovascular
causado por un bloqueo del flujo sanguíneo al cerebro. La afección subyacente para este tipo de bloqueo lo más
comúnmente es el desarrollo de depósitos de grasa que revisten las paredes de los vasos. Esta afección se llama
aterosclerosis. Estos depósitos grasos pueden causar dos tipos de obstrucción. La trombosis cerebral se refiere a un
10 trombo (coágulo de sangre) que se desarrolla en la parte obstruida del vaso. "Embolia cerebral" se refiere
generalmente a un coágulo de sangre que se forma en otra ubicación en el sistema circulatorio, habitualmente en el
corazón y las arterias grandes del tórax superior y cuello. Una porción del coágulo de sangre se suelta, entra en el
torrente sanguíneo y viaja a través de los vasos sanguíneos del cerebro hasta que llega a vasos demasiado
pequeños que no lo dejan pasar. Una segunda causa importante de las embolias es un latido irregular, conocido
15 como fibrilación arterial. Crea afecciones en las que los coágulos pueden formarse en el corazón, desplazarse y
viajar al cerebro. Las causas potenciales adicionales del accidente cerebrovascular isquémico son hemorragia,
trombosis, disección de una arteria o vena, un paro cardíaco, choque de cualquier causa, incluida hemorragia y
causas iatrogénicas, tales como lesión quirúrgica directa en vasos sanguíneos del cerebro o vasos que conducen al
cerebro o cirugía cardíaca. El accidente cerebrovascular isquémico representa aproximadamente el 83 por ciento de
20 todos los casos de accidentes cerebrovasculares. Otra causa de los coágulos de sangre es la estasis intravascular
de la sangre debido a lesiones vasculares como los aneurismas cerebrales, debido a la introducción intravascular de
herramientas endovasculares, o debido a la trombosis debida a la introducción intravascular de herramientas
endovasculares.

Los ataques isquémicos transitorios (AIT) son accidentes cerebrovasculares menores o de advertencia. En un AIT,
existen condiciones indicativas de un accidente cerebrovascular isquémico y se desarrollan los signos típicos de
25 advertencia del accidente cerebrovascular. Sin embargo, la obstrucción (coágulo de sangre) se produce durante un
corto tiempo y tiende a resolverse a través de mecanismos normales. Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca
tienen un riesgo particular de ataque isquémico cerebral transitorio.

El accidente cerebrovascular hemorrágico representa aproximadamente el 17 por ciento de los casos de accidentes
cerebrovasculares. Es el resultado de un vaso debilitado que se rompe y sangra en el cerebro circundante. La
sangre se acumula y comprime el tejido cerebral circundante. Los dos tipos generales de accidentes
30 cerebrovasculares hemorrágicos son la hemorragia intracerebral y la hemorragia subaracnoidea. El accidente
cerebrovascular hemorrágico es el resultado de la ruptura de los vasos sanguíneos debilitados. Las posibles causas
de ruptura de un vaso sanguíneo debilitado incluyen una hemorragia hipertensiva, en la que la presión sanguínea
alta causa la ruptura de un vaso sanguíneo, u otra causa subyacente de vasos sanguíneos debilitados, tal como una
malformación vascular cerebral dañada, incluido un aneurisma cerebral, una malformación arteriovenosa (AVM) o
35 malformación cavernosa. Los accidentes cerebrovasculares hemorrágicos también pueden surgir de una
transformación hemorrágica de un accidente cerebrovascular isquémico que debilita los vasos sanguíneos en el
infarto, o de una hemorragia de tumores primarios o metastásicos en el SNC que contienen vasos sanguíneos
anormalmente débiles. El accidente cerebrovascular isquémico también se puede transformar en un accidente
cerebrovascular hemorrágico como resultado de la reperfusión. El accidente cerebrovascular hemorrágico también
40 puede surgir de causas iatrogénicas, tales como una lesión quirúrgica directa en un vaso sanguíneo cerebral. Un
aneurisma es una dilatación de una región debilitada de un vaso sanguíneo. Si no se trata, el aneurisma continúa
debilitándose hasta que se rompe y sangra en el cerebro. Una malformación arteriovenosa (AVM) es una agrupación
de vasos sanguíneos anormalmente formados. Una malformación cavernosa es una anomalía venosa que puede
causar una hemorragia por estructuras venosas debilitadas. Cualquiera de estos vasos puede romperse, lo que
45 también causa sangrado en el cerebro. El accidente cerebrovascular hemorrágico en una parte del cerebro puede
dar lugar a un accidente cerebrovascular isquémico en otra, por la escasez de sangre perdida en el accidente
cerebrovascular hemorrágico.

En pacientes con aneurismas no rotos, los accidentes cerebrovasculares que están relacionados con el
procedimiento surgen como resultado de la embolización de las embolias por la cirugía endovascular (la más
50 común), o debido a otras complicaciones de la cirugía endovascular, como la perforación del aneurisma (que
produce un accidente cerebrovascular hemorrágico) u oclusión involuntaria de un vaso parental debido a una mala
colocación de las bobinas o stents endovasculares, u oclusión inadvertida de un vaso parental debido a una lesión
en el vaso que produce trombosis, disección o perforación.

En pacientes con aneurismas rotos cuyos aneurismas se tratan por medios endovasculares, los accidentes
cerebrovasculares relacionados con el procedimiento pueden surgir por las mismas razones que en los pacientes
55 con aneurismas no rotos. Sin embargo, estos pacientes también pueden sufrir lesiones cerebrales isquémicas o
hemorrágicas adicionales porque los aneurismas rotos son más frágiles que los no rotos, por lo que el riesgo de
ruptura del aneurisma antes o durante el procedimiento es mayor. El aumento de la presión intracraneal debido a la
ruptura del aneurisma original que causa inflamación del cerebro (edema), o debido a la acumulación intracerebral
de la sangre que se filtra, o ambos, o isquemia retardada debido al fenómeno del "vasoespasma" pueden resultar en
60 otras lesiones. En la hemorragia subaracnoidea, el riesgo de vasoespasmos es mayor entre los días 5 y 12 después

de la ruptura del aneurisma, y es el resultado de la liberación de sustancias vasoactivas por el coágulo sanguíneo que rodea las arterias cerebrales. El vasoespasmo puede ser responsable del retraso de los accidentes cerebrovasculares isquémicos en estos pacientes. El daño también puede surgir de alteraciones en el flujo sanguíneo cerebral debido a la pérdida de la autorregulación vascular cerebral debido a un aumento repentino de la presión intracraneal inmediatamente después de la ruptura.

V. Sujetos susceptibles de tratamiento

El ensayo clínico proporciona evidencia de que un inhibidor de PSD-95 es eficaz para reducir los infartos y los déficits neurocognitivos en sujetos que se someten a una reparación endovascular de aneurismas no rotos y rotos. Los sujetos con un aneurisma no roto están predominantemente en riesgo de accidente cerebrovascular isquémico o hemorragia subaracnoidea. Los sujetos con aneurismas rotos también tienen riesgo de accidente cerebrovascular isquémico, pero tienen un riesgo adicional de accidente cerebrovascular hemorrágico, en particular de hemorragia subaracnoidea. Debido al riesgo adicional de accidente cerebrovascular hemorrágico, los sujetos con aneurismas rotos tienen el mayor riesgo de muerte o lesiones debilitantes como resultado del aneurisma. Sorprendentemente, los datos actuales muestran que estos pacientes obtienen el mayor beneficio del inhibidor de PSD-95 determinado por la patología (número y volumen de infartos) y las pruebas neurocognitivas. Estos resultados indican que no solo se puede usar el inhibidor de la PSD95 para tratar el accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico, sino que proporcionan evidencias de que dicho inhibidor se puede usar para el tratamiento de sujetos con hemorragias en el SNC o que de otra manera afectan el SNC, ya sea que se produzca o no un derrame cerebral. Esto es sorprendente porque en general se ha pensado que los inhibidores de PSD-95 actúan a través de la reducción de la isquemia, lo que conduce a mejores resultados. En la HSA, los inhibidores de la PSD-95, como el Tat-NR2B9c, se administraron en las 72 horas posteriores a la ruptura, cuando generalmente no hay isquemia, pero mostraron beneficios. La isquemia en pacientes con HSA generalmente ocurre después del vasoespasmo y generalmente se presenta entre el día 5 y el día 12 después de la ruptura. Tat-NR2M9c tiene una vida media corta en plasma (unos 20 minutos) y una vida media corta en el cerebro (alrededor de 5 horas), lo que sugiere que TAT-NR2B9c actúa al menos en parte a través de un mecanismo diferente al de reducir la isquemia para proporcionar el beneficio observado en los ejemplos a continuación. Sin embargo, la práctica de la invención no depende de una comprensión del mecanismo.

Las hemorragias más comunes en el SNC o que de otro modo afectan al SNC son la hemorragia cerebral, la hemorragia intracerebral, la hemorragia intracraneal (HIC) (cada una ocurre dentro del cerebro) y las hemorragias subdurales y epidurales, y la hemorragia subaracnoidea (HSA) (cada una ocurre dentro del cráneo pero fuera el propio cerebro). Estas hemorragias se conocen como accidentes cerebrovasculares hemorrágicos si se producen espontáneamente, como cuando se rompe un aneurisma o se filtran vasos sanguíneos por hipertensión o drogas como los anticoagulantes o la cocaína, pero se les llama simplemente hemorragia si son traumas físicos. tales como una caída, golpe o síndrome del bebé maltratado. Los métodos actuales son particularmente adecuados para el tratamiento de la hemorragia subaracnoidea porque esta forma de hemorragia estaba presente en los sujetos que obtuvieron el mayor beneficio del ensayo clínico.

Los sujetos susceptibles de tratamiento incluyen sujetos con signos y/o síntomas de isquemia o hemorragia en el SNC, o inmediatamente en las proximidades de éste, como en el caso de las hemorragias subaracnoideas, subdurales o epidurales o en cualquier otra parte del cuerpo, pero que, aún así, de otra manera, afectan al SNC, como cuando afectan a un vaso sanguíneo cuya obstrucción puede impedir el flujo de sangre a través del cerebro, o en el cual la hemorragia puede causar lesiones por edema, presión de acumulación de sangre u otras formas. Estos sujetos incluyen sujetos con signos y/o síntomas de accidente cerebrovascular, isquemia miocárdica, embolia pulmonar, isquemia de las extremidades, renal o isquemia retiniana o hemorragia en el cerebro o cerca de éste (por ejemplo, hemorragia subaracnoidea). Dichos sujetos incluyen sujetos en los que se sospecha tal condición pero no se pueden excluir otras, así como sujetos que han sido diagnosticados de acuerdo con criterios generalmente reconocidos, por ejemplo, DSM IV TR.

Los sujetos susceptibles de tratamiento también incluyen sujetos con riesgo de isquemia o hemorragia, pero en los que aún no se ha producido la isquemia o hemorragia. Un sujeto está en riesgo si él o ella tiene un mayor riesgo de desarrollar isquemia o hemorragia que una población de control. La población control, por ejemplo, puede comprender uno o más individuos seleccionados al azar de la población general (p. ej., con concordancia de edad, sexo, raza y/o etnicidad) que no hayan sido diagnosticados o tengan un historial familiar del trastorno. Un sujeto puede ser considerado en riesgo para un trastorno si se encuentra que un "factor de riesgo" asociado con ese trastorno está asociado con ese sujeto. Un factor de riesgo puede incluir cualquier actividad, rasgo, evento o propiedad asociada con un trastorno dado, por ejemplo, a través de estudios estadísticos o epidemiológicos en una población de sujetos. Por lo tanto, un sujeto puede clasificarse como en riesgo de padecer un trastorno, incluso si los estudios que identifican los factores de riesgo subyacentes no incluyeron específicamente al sujeto. Por ejemplo, un sujeto sometido a cirugía cardíaca está en riesgo de ataque isquémico cerebral transitorio debido a que la frecuencia del ataque isquémico cerebral transitorio aumenta en la población de sujetos que se han sometido a una cirugía cardíaca en comparación con la población de sujetos que no lo han hecho.

Los sujetos con riesgo de isquemia en el SNC o que afectan a éste incluyen aquellos que se someten a un procedimiento quirúrgico en el cerebro o SNC, como la cirugía endovascular, el recorte, la colocación de stents o la microcateterización. Dichos sujetos también incluyen a aquellos sometidos a cirugía en otras partes del cuerpo que

afectan a un vaso sanguíneo que abastece al cerebro (es decir, que conecta el cerebro con el corazón, por ejemplo, arterias carótidas y venas yugulares) o en una arteria que suministra sangre a la retina, riñón, médula espinal o extremidades. Los sujetos con riesgo de hemorragia que afectan el SNC también incluyen a aquellos que se someten a un procedimiento quirúrgico en el cerebro. Otros sujetos en riesgo incluyen aquellos que han tenido una
 5 lesión en la cabeza como una caída o un golpe, o que han sufrido cambios repentinos en la velocidad, tales como en el síndrome del bebé maltratado o en accidentes de tráfico. Otros sujetos con riesgo de hemorragia son aquellos con hipertensión, trastornos de coagulación, malformación arteriovenosa o aneurisma. Una clase preferida de sujetos son aquellos que se someten a cirugía endovascular para tratar un aneurisma cerebral con o sin ruptura.

VI. Métodos combinados de tratamiento

10 Para las indicaciones isquémicas, se puede administrar un inhibidor de PSD-95 y una forma de reperfusión a un sujeto susceptible de tratamiento (véase el documento US 61/501117, presentado el 24 de junio de 2011, incorporado a todos los efectos como referencia). El inhibidor y la reperfusión de PSD-95 pueden administrarse en cualquier orden o al mismo tiempo. Por lo general, el inhibidor de PSD-95 y la reperfusión se administran al mismo tiempo, solapados o próximos (es decir, dentro de un intervalo de 15 minutos) o el inhibidor de PSD-95 se administra
 15 primero.

Para el tratamiento de las isquemias que no se pueden predecir de antemano, el inhibidor de la PSD-95 se puede administrar tan pronto como sea práctico después del inicio de la isquemia. Por ejemplo, el inhibidor de PSD-95 puede administrarse dentro de un período de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 ó 6, 12 ó 24 horas o cualquier otro momento que quede suficiente circulación colateral para mantener una penumbra isquémica después del inicio de la isquemia.
 20 Para las isquemias o hemorragias que se pueden predecir de antemano, o son posibles causas de los síntomas, el inhibidor de PSD-95 se puede administrar antes, al mismo tiempo o después del inicio de la isquemia. Por ejemplo, para una isquemia o hemorragia resultante de una cirugía, el PSD-95 a veces se administra de forma rutinaria en un período que comienza 30 minutos antes de comenzar la cirugía y finaliza una hora después de la cirugía sin importar si se ha desarrollado o no la isquemia. Debido a que PSD-95 carece de efectos secundarios graves, puede administrarse cuando se sospecha que va a aparecer un accidente cerebrovascular u otras afecciones isquémicas o
 25 afecciones hemorrágicas sin que se haya hecho un diagnóstico según criterios reconocidos en la técnica. Por ejemplo, el inhibidor de PSD-95 puede administrarse en la ambulancia que transporta al sujeto al hospital. El inhibidor de PSD-95 también se puede administrar de manera segura a un sujeto con riesgo de accidente cerebrovascular u otra condición isquémica o condición hemorrágica antes del inicio, que puede o no desarrollar la condición. El inhibidor de la PSD-95 también puede administrarse en la sala de operaciones o en la suite endovascular a un paciente anestesiado en el diagnóstico presuntivo de isquemia cerebral continua o inminente u otra lesión.
 30

Después de la administración del inhibidor de la PSD-95, o en ocasiones antes, el sujeto que presenta signos o síntomas de la isquemia puede ser sometido a una evaluación diagnóstica adicional para determinar si el sujeto
 35 tiene isquemia o si afecta al SNC y determinar si el sujeto tiene una hemorragia o es susceptible de padecerla. Más particularmente, en sujetos que presentan síntomas de apoplejía u otro trastorno agudo que afecta el SNC, las pruebas intentan distinguir si el sujeto tiene una hemorragia. Las pruebas de diagnóstico pueden incluir una exploración de uno o más órganos, como una exploración por TAC, una resonancia magnética o una tomografía PET. El o los órganos escaneados incluyen cualquier sospecha de ser el sitio de isquemia (p. ej., cerebro, corazón, extremidades, columna vertebral, pulmones, riñón, retina), así como cualquier sospecha de ser la fuente de una hemorragia. Una exploración del cerebro es el procedimiento habitual para distinguir entre condiciones isquémicas y hemorrágicas. La evaluación diagnóstica también puede incluir tomar o revisar el historial médico de un sujeto y realizar otras pruebas. La presencia de cualquiera de los siguientes factores, solos o en combinación, se puede usar para evaluar si la terapia de reperfusión presenta un riesgo inaceptable: los síntomas del sujeto son leves o mejoran rápidamente, el sujeto tuvo un ataque al inicio del accidente cerebrovascular, el sujeto tuvo otro accidente cerebrovascular o un traumatismo craneal grave los últimos 3 meses, el sujeto se sometió a una cirugía mayor en los últimos 14 días, el sujeto tiene un historial conocido de hemorragia intracraneal, el sujeto ha mantenido una presión arterial sistólica > 185 mmHg, el sujeto ha tenido una presión arterial diastólica > 110 mmHg, es necesario un tratamiento agresivo para disminuir la presión sanguínea del sujeto, el sujeto tiene síntomas sugestivos de hemorragia subaracnoidea, el sujeto tuvo una hemorragia gastrointestinal o del tracto urinario en los últimos 21 días, el sujeto tuvo una punción arterial en el sitio no comprimible en los últimos 7 días, el sujeto recibió heparina durante las últimas 48 horas y tiene elevado el PTT, el tiempo de protrombina (TP) del sujeto es > 15 segundos, el recuento de plaquetas del sujeto es <100.000 μ L, la glucosa sérica del sujeto es <50 mg/dL o > 400 mg/dL, el sujeto es hemofílico o tiene otras deficiencias de coagulación.
 40
 45
 50

55 La investigación diagnóstica adicional determina, de acuerdo con los criterios reconocidos o, al menos, con mayor probabilidad que antes de la investigación, si el sujeto tiene una condición isquémica y si el sujeto tiene una hemorragia, hay un riesgo inaceptable de hemorragia o si está excluido de recibir tratamientos de reperfusión debido a que existe un riesgo inaceptable de efectos secundarios. Los sujetos en los que se confirma un diagnóstico de afecciones isquémicas dentro del SNC o que pueden afectar de otro modo al SNC y no tienen un riesgo inaceptable de efectos secundarios pueden ser sometidos a terapia de reperfusión. Preferiblemente, la terapia de reperfusión se realiza tan pronto como sea práctico después de completar cualquier procedimiento de diagnóstico. En algunos
 60 sujetos, la terapia de reperfusión se inicia más de 1, 2, 3, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 15, 18 ó 24 horas después del

inicio de la isquemia. En algunos sujetos, la terapia de reperfusión se inicia 1-6, 1-12, 1-18 ó 1-24 horas después del inicio de la isquemia. En algunos sujetos, la terapia de reperfusión se inicia fuera de la ventana habitual de 3-4,5 horas en la que hasta ahora se ha considerado que la terapia de reperfusión es efectiva. Por ejemplo, en algunos sujetos, la terapia de reperfusión se inicia más de 3 horas o más de 4,5 horas después del inicio de la isquemia y hasta 24 ó 48 horas después del inicio de la isquemia. En algunos sujetos, la terapia de reperfusión se inicia después de 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 horas y hasta 24 ó 48 horas después del inicio de la isquemia. En algunos sujetos, la terapia de reperfusión se inicia a partir de 275-390 minutos después del inicio de la isquemia.

El tiempo de reperfusión también se puede medir a partir de la administración del inhibidor de PSD-95. El intervalo puede ser, por ejemplo, de 5 minutos a 24 horas. El intervalo puede ser, por ejemplo, de 30 minutos a 6 horas o de 1 a 3 horas.

Los sujetos en los que no se confirma una afección isquémica o se consideran poco probables de padecerla, generalmente no se les administra terapia de reperfusión, en particular la terapia farmacológica de reperfusión. Los sujetos en los que se confirma o se considera probable una afección isquémica, pero que se consideran con un riesgo inaceptable de efectos secundarios de la terapia de reperfusión farmacológica, no se les administra la terapia de reperfusión farmacológica. Dichos sujetos pueden haber obtenido el beneficio del inhibidor de PSD-95, pero se ahorraron el riesgo de efectos secundarios inaceptables de la terapia de reperfusión.

Tanto el tratamiento con un inhibidor de PSD-95 como la terapia de reperfusión tienen la capacidad de reducir el tamaño del infarto y los déficits funcionales debido a la isquemia. Cuando se usan en combinación, la reducción en el tamaño del infarto y/o los déficits funcionales son preferiblemente mayores que en el uso de cualquiera de los agentes solos administrados bajo un régimen comparable distinto al de la combinación. Más preferiblemente, la reducción en el tamaño del infarto y/o los déficits funcionales es, al menos, aditivo o preferiblemente más que aditivo de las reducciones logradas por los agentes solos bajo un régimen comparable, excepto por la combinación. En algunos regímenes, la terapia de reperfusión es eficaz para reducir el tamaño del infarto y/o los tiempos funcionales en un momento posterior al inicio de la isquemia (p. ej., más de 4,5 horas) cuando sería ineficaz pero para la administración concurrente o anterior del inhibidor PSD-95. Dicho de otra manera, cuando a un sujeto se le administra un inhibidor de PSD-95 y una terapia de reperfusión, la terapia de reperfusión es preferiblemente al menos tan efectiva como lo sería si se administrara en un momento anterior sin el inhibidor de PSD-95. Por lo tanto, el inhibidor de PSD-95 aumenta efectivamente la eficacia de la terapia de reperfusión al reducir uno o más efectos dañinos de la isquemia antes o cuando la terapia de reperfusión hace efecto. El inhibidor de PSD-95 puede así compensar la demora en la administración de la terapia de reperfusión ya sea que la demora se deba a una demora en el sujeto que reconoce el peligro de sus síntomas iniciales, demora en el transporte de un sujeto a un hospital u otra institución médica o demoras en la realización de procedimientos diagnósticos para establecer la presencia de isquemia y/o ausencia de hemorragias o un riesgo inaceptable de las mismas. Los efectos combinados estadísticamente significativos del inhibidor de PSD-95 y la terapia de reperfusión, incluidos los efectos aditivos o sinérgicos, pueden demostrarse entre poblaciones en un ensayo clínico o entre poblaciones de modelos animales en trabajos preclínicos.

Los sujetos en los que se confirman las hemorragias en el SNC o que afectan de otro modo a éste, o que no pueden excluirse con una seguridad aceptable para el médico, generalmente no reciben tratamiento farmacológico de reperfusión, pero pueden someterse a otros tratamientos combinados, tanto quirúrgicos como farmacológicos. El tratamiento con inhibidores anti-PSD-95 también puede realizarse en combinación con otros fármacos, tratamientos o intervenciones útiles para las indicaciones asociadas con hemorragias en el SNC o que de otra manera afectan al SNC, incluidas la HSA y la HIC. Las hemorragias en el SNC, o que de otra manera afectan al SNC, pueden tratarse mediante intervención quirúrgica y, según los diagnósticos, los tratamientos o las terapias, como, por ejemplo, los medicamentos antihipertensivos, Factor VIIa u otros factores de coagulación, manitol u otros medicamentos para elevar la presión intracraneal, acetaminofeno u otros AINE para reducir los dolores de cabeza y evitar la hipertermia, el plasma congelado, la vitamina K, la protamina, las transfusiones de plaquetas, la fosfenitina o los anticonvulsivos si se presentan convulsiones o para la hemorragia lobar, los antagonistas H2 o los inhibidores de la bomba de protones para la profilaxis de úlceras por estrés relacionadas con la HIC o los corticosteroides para reducir la hinchazón. Debido a que no se observaron interacciones de seguridad o relacionadas con los medicamentos en un ensayo clínico en humanos del inhibidor de la PSD-95 Tat-NR2B9c, se espera que dichos tratamientos combinados sean efectivos.

En otros métodos, en los que a un sujeto que tiene una isquemia o que está en riesgo de padecerla en el SNC, o que afecta de otra manera al SNC, a dicho sujeto se le administra un inhibidor de PSD95 sin la administración conjunta de otro tratamiento farmacológico para tratar o efectuar la profilaxis de la isquemia. En algunos métodos, a un sujeto de este tipo se le administra un inhibidor de PSD95 sin administrar otro tratamiento farmacológico para tratar o efectuar la profilaxis de la isquemia y sin realizar una terapia de reperfusión mecánica. En algunos métodos, un sujeto que tiene una hemorragia en el SNC, o que de otro modo le afecta al SNC, o que corre el riesgo de sufrirla, se le administra un inhibidor de PSD95 sin ningún otro tratamiento farmacológico para tratar o efectuar la profilaxis de la hemorragia.

Regímenes efectivos de administración

Se administra un inhibidor de PSD-95 en una cantidad, frecuencia y vía de administración eficaces para reducir, inhibir o retrasar uno o más efectos dañinos de la isquemia o hemorragia en el SNC y preferiblemente el dolor asociado con la isquemia o hemorragia o tratamiento quirúrgico del mismo. A menos que se indique lo contrario, las dosis para los inhibidores que son agentes quiméricos, incluido un agente farmacológico vinculado a un péptido de internalización, se refieren al agente completo en lugar de solo al componente del agente farmacológico del agente quimérico. Una cantidad efectiva significa una cantidad de agente suficientemente significativa para reducir, inhibir o retrasar la aparición de uno o más efectos dañinos de la isquemia o hemorragia y, preferiblemente, también el dolor en una población de sujetos (o modelos animales) que padecen la enfermedad tratada con un agente de la invención relacionada con el daño en una población de control de sujetos (o modelos animales) que padecen esa enfermedad o afección que no se tratan con el agente. La población de control puede tratarse simultáneamente con un placebo o puede ser un control histórico. La cantidad también se considera efectiva si un paciente individual tratado logra un resultado más favorable que el resultado medio en una población control de pacientes comparables no tratados por los métodos de la invención. Un régimen efectivo implica la administración de una dosis efectiva a una frecuencia y ruta de administración necesarias para lograr el propósito pretendido.

El resultado del tratamiento de un accidente cerebrovascular o hemorragia que afecta al SNC puede determinarse por el volumen del infarto, la cantidad de infartos o el índice de discapacidad. Se puede reconocer que un régimen es efectivo si un sujeto tratado individualmente muestra una discapacidad de dos o menos en la escala de Rankin y 75 o más en la escala de Barthel, ver Lees et al., N. Engl. J. Med. 354: 588-600 (2006) o si una población de sujetos tratados muestra una distribución significativamente mejorada (es decir, menos discapacidad) de las puntuaciones en cualquier accidente cerebrovascular, discapacidad u otra escala apropiada (por ejemplo, Barthel, Rankin, NIH Stroke Scale) que una población no tratada comparable, o si una población de sujetos tratados muestra un tamaño o número de infartos significativamente menor en comparación con una población no tratada comparable. Una dosis única de agente es habitualmente suficiente para el tratamiento del accidente cerebrovascular.

Los infartos en un ensayo clínico o en un paciente individual se evalúan preferiblemente por MRI, particularmente FLAIR (recuperación de inversión atenuada por el fluido) y/o DWI (imágenes ponderadas por difusión). FLAIR es más sensible pero DWI es más específico para los nuevos infartos. La identificación de infartos presentes en la misma ubicación espacial por FLAIR y DWI proporciona una detección sensible y selectiva de nuevos infartos que resultan de un episodio actual de accidente cerebrovascular o hemorragia. Otras secuencias de MRI se pueden usar solas o en combinación con DWI y/o FLAIR.

Dependiendo del agente, la administración puede ser parenteral, intravenosa, nasal, oral, subcutánea, intraarterial, intracraneal, intratecal, intraperitoneal, tópica, intranasal o intramuscular. Se prefiere la administración intravenosa para agentes peptídicos.

Para agentes quiméricos que incluyen un péptido de internalización, particularmente un péptido tat del VIH que comprende la secuencia de aminoácidos, la administración del agente puede o no combinarse con un agente antiinflamatorio para reducir la liberación o la histamina y sus efectos posteriores asociados con altos niveles del péptido de internalización. Los agentes preferidos para la administración conjunta son inhibidores de la desgranulación de los mastocitos, como la cromolina o la yodoxamida o cualquier otro listado en este documento. También se pueden usar antihistamínicos o corticosteroides, particularmente en combinaciones o dosis más altas (ver los documentos WO2009/076105, y WO2010/14474261).

Para la administración a seres humanos, una dosis preferida de agente quimérico Tat-NR2B9c es 2-3 mg/kg y más preferiblemente 2,6 mg/kg. Debe entenderse que las dosificaciones indicadas incluyen el margen de error inherente a la exactitud con la que se pueden medir las dosificaciones en un entorno hospitalario típico. Se prefiere la dosis porque es la dosis máxima con la que se puede administrar el agente sin la liberación de cantidades significativas de histamina y las secuelas resultantes en la mayoría de los sujetos. Aunque la liberación de histamina a dosis más altas se puede controlar mediante la administración conjunta de un antiinflamatorio como se analizó anteriormente y, en cualquier caso, generalmente se resuelve espontáneamente sin eventos adversos, es mejor evitarlo manteniendo la dosis por debajo de 3 mg/kg y preferiblemente a 2-3 mg/kg, más preferiblemente 2,6 mg/kg. Otro nivel de dosis preferido es 1-3 mg/kg, por ejemplo, 1,5 mg/kg. Dichas cantidades son para la administración de dosis únicas, es decir, una dosis por episodio de enfermedad o la administración de dosis múltiples.

Las dosis indicadas anteriormente son para el agente quimérico Tat-NR2B9c (YGRKKRRQRRRKLSSIESDV; SEC ID NO: 6). Las dosificaciones equivalentes para otros agentes para lograr el mismo efecto pueden determinarse mediante varios enfoques. Para las variantes cercanas de ese agente en el que uno o unos pocos aminoácidos están sustituidos, insertados o eliminados y el peso molecular sigue siendo el mismo en aproximadamente el +/- 25%, las dosis anteriores siguen siendo una buena guía. Sin embargo, en general, para otros agentes, las dosis equivalentes pueden variar dependiendo del peso molecular del agente con y sin péptido de internalización si está presente, su Kd para su objetivo y sus parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos. Para algunos agentes, se pueden calcular dosis equivalentes para administrar una cantidad equimolar del agente farmacológico. Para otro agente, se realiza un ajuste adicional para tener en cuenta las diferencias en Kd o parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos. Para algunos agentes, las dosis equivalentes se determinan empíricamente a partir de la dosis

lograda para alcanzar el mismo punto final en un modelo animal o en un ensayo clínico.

Los agentes activos, tales como Tat-NR2B9c, se administran preferiblemente por infusión en un vaso sanguíneo, más preferiblemente por infusión intravenosa. Para el agente quimérico Tat-NR2B9c, un tiempo de infusión preferido que proporciona un equilibrio entre estas consideraciones es 5-15 minutos y más preferiblemente 10 minutos. Se debe entender que los tiempos indicados incluyen una marca de error de +/- 10%. Los tiempos de infusión no incluyen ningún tiempo adicional para que una difusión de lavado elimine las gotas remanentes de una difusión inicial que, de otro modo, ha transcurrido hasta la compleción. Los tiempos de infusión para Tat-NR2B9c también pueden servir como una guía para otros agentes farmacológicos, opcionalmente vinculados a péptidos de internalización, particularmente variantes cercanas de Tat-NR2B9c, como se discutió anteriormente.

También se pueden usar regímenes de dosis múltiples de Tat-NR2B9c u otro inhibidor de PSD95. Por ejemplo, los regímenes de dosis múltiples pueden usarse para tratar hemorragias subaracnoideas u otras hemorragias del SNC. Los regímenes de dosis múltiples pueden implicar la administración de un inhibidor de la PSD95 una o dos veces al día (o más) por hasta 12 días a partir del día de la hemorragia. En un régimen preferido, el inhibidor se administra una vez al día durante al menos tres días. En otro régimen preferido, el inhibidor se administra dos veces al día durante al menos dos días. En algunos regímenes, al menos una dosis se administra dentro de los 4 días de la ruptura (es decir, en el 4 o antes del día 4, siendo la ruptura el día 1). En algunos regímenes, una dosis se administra el día 5 o después de la ruptura. En algunos regímenes, una dosis se administra en uno o todos los días 1-4 y otra dosis en uno o todos los días 5-12. En algunos regímenes, una dosis se administra en los días 1 a 4 y otra dosis en los días 5 a 12. Las dosis pueden ser, por ejemplo, 1-3 mg/kg, preferiblemente 2-3 mg/kg o 2,6 mg/kg.

El inhibidor de PSD-95 se puede administrar en forma de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas se fabrican típicamente bajo condiciones GMP. Las composiciones farmacéuticas para la administración parenteral son preferentemente estériles (por ejemplo, esterilización por filtración de péptidos) y libres de pirógenos. Las composiciones farmacéuticas se pueden proporcionar en forma de dosis unitaria (es decir, la dosis para una administración única). Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de manera convencional usando uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento de agentes quiméricos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

Una formulación ejemplar del agente quimérico Tat-NR2B9c contiene el péptido en solución salina normal (0,8-1,0% y preferiblemente solución salina al 0,9%) o solución salina tamponada con fosfato a una concentración de 10-30 mg/ml, por ejemplo 16-20 o 18 mg/ml. Cuando se almacena congelado, dicha composición es estable (degradación insignificante o agregación del péptido) por un período de dos o más años. Aunque se pueden agregar excipientes adicionales, la solución salina normal o solución salina tamponada con fosfato sin tales excipientes es suficiente para obtener esta estabilidad. Para su uso, dicha composición se descongela y se diluye en un volumen mayor de solución salina normal para perfusión en un vaso sanguíneo.

Muchos ejemplos de agentes farmacológicos para la reperfusión están en uso clínico. Dichos agentes pueden usarse en los presentes métodos de combinación de acuerdo con sus formulaciones convencionales, dosis, vías de administración y frecuencia de administración (consulte la Physician's Desk Reference y los prospectos correspondientes del paquete). Asimismo, los métodos mecánicos de reperfusión pueden emplearse de acuerdo con la práctica convencional.

Ejemplos

Ejemplo 1: Neuroprotección por tat-nr2b9c después de un accidente cerebrovascular isquémico o hemorragia cerebral

Diseño del estudio

Se llevó a cabo un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, en el que los pacientes se inscribieron desde septiembre de 2008 hasta marzo de 2011 en 14 hospitales de Canadá y Estados Unidos. El ensayo fue aprobado por las juntas de revisión institucional local y nacional, y se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes o de sustitutos legalmente aceptables. Los criterios de inclusión y exclusión se resumen en la Tabla 4. Todos los pacientes recibieron tratamiento de su aneurisma y, en el caso de una ruptura de aneurisma, de su hemorragia subaracnoidea, de acuerdo con las prácticas de tratamiento institucional local.

Tabla 4: Principales criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión
Aneurisma cerebral roto o no roto que se considera adecuado para la reparación mediante técnicas neuroendovasculares que involucran bobinas de platino desmontables, enrollamiento asistido con stent, stents desviadores de flujo, enrollamiento asistido con balón, stents recubiertos, dispositivos de puente de cuello o cualquier otro dispositivo complementario
Retroceso o re-tratamiento del aneurisma previamente tratado

Si se rompe un aneurisma, la reparación endovascular debe realizarse dentro de las 72 horas posteriores a la hemorragia ictal.
El sujeto debe ser WFNS
Grado I-III
Peso corporal menor o igual a 180 kg.
Resultados normales o anormales, pero no clínicamente significativos en el examen físico no neurológico, ECG de 12 derivaciones y signos vitales
Ausencia de síntomas isquémicos en curso, como AIT, accidentes cerebrovasculares menores, accidente cerebrovascular en evolución o evidencia clínica de vasoespasma cerebral en las 2 semanas anteriores a la aleatorización
Criterios de inclusión
MRI cerebral 2 semanas antes de la reparación endovascular
Hombre o mujer con edad mínima de 18 años.
Las mujeres en edad fértil deben tener una prueba de embarazo negativa y estar dispuestas a usar un método anticonceptivo durante los 3 meses posteriores a la finalización de la dosis.
Los varones no quirúrgicamente estériles o los varones con parejas en edad fértil deben estar dispuestos a usar condones con espermicida durante 3 meses
Consentimiento informado firmado y disponibilidad del sujeto para todo el período de estudio
Criterios de exclusión
Aneurisma cerebral disecante o micótico
Sacrificio de vasos endovasculares planificado como modalidad primaria para el tratamiento de aneurismas
Historia conocida de reacción alérgica potencialmente mortal a cualquier medicamento.
Enfermedad renal crónica definida como una creatinina sérica basal > 150 µmol/L
Mujeres que están amamantando
Cualquier enfermedad psiquiátrica o psicológica clínicamente significativa que impida que el sujeto complete el protocolo
Puntuación de la escala de Rankin modificada (estimada) premórbida de > 2
Lesión cerebral traumática previa seria que podría impedir que el sujeto completara el protocolo o impedir el análisis de IRM de pequeños accidentes cerebrovasculares
Sujetos que no pueden realizarse una resonancia magnética por cualquier motivo.
Participación en otro ensayo clínico con un fármaco en investigación en los primeros 30 días de este estudio, incluido ENACT o la recepción previa de TAT-NR2B9C
Cualquier otra afección médica que ponga al sujeto en un riesgo excesivo de participación en el estudio, o una esperanza de vida esperada <1 año o que resulte en la incapacidad de recopilar resultados clínicos en el Día 30

Evaluaciones clínicas y de resonancia magnética

5 Todas las evaluaciones clínicas y de RM fueron realizadas por individuos que desconocían la asignación del tratamiento. Cada paciente inscrito se sometió a una exploración por MRI en un escáner 1.5T (mínimo) en las 2 semanas previas al procedimiento endovascular y de 24 a 96 horas después. Cada escaneo incluyó las siguientes secuencias mínimas: un FLAIR axial: 3 mm, sin espacio, un DWI axial: 3 mm, sin espacio y una secuencia de eco de gradiente ponderada 3D T1 axial de 2,0 mm (por ejemplo, FSPGR en máquina GE).

10 Los pacientes fueron evaluados en el momento de la inscripción, después del procedimiento y durante un período de estudio de 30 días como se detalla en la Tabla 5. Las evaluaciones iniciales incluyeron un examen físico, una neuroimagen, una puntuación de referencia en la Escala de Accidentes Cerebrovasculares de los Institutos Nacionales de la Salud (NIHSS) y la escala de Rankin modificada (mRS) y una batería neurocognitiva (que se detalla en la Tabla 6). Para los pacientes con aneurismas rotos, se omitieron las pruebas neurocognitivas iniciales, se asignó un grado de Fisher a la hemorragia subaracnoidea (HSA) y se calificó su gravedad clínica de acuerdo con el sistema de calificación de la Federación Mundial de Sociedades de Neurocirugía (WFNS). El NIHSS es una

15 escala de 15 ítems que mide el nivel de deterioro neurológico.

Los puntajes varían de 0 a 42, con un puntaje más alto que indica una mayor severidad del golpe. La mRS es una medida de discapacidad que varía de 0 (sin síntomas) a 6 (muerte); un puntaje de 5 indica una discapacidad grave (el paciente está postrado en cama e incontinente y requiere atención y cuidados constantes de enfermería). El

5 sistema WFNS (grados 1 a 5) clasifica la condición clínica de un paciente con HSA según la puntuación de coma de Glasgow (GCS), donde el grado 1 es normal y el grado 5 es GCS <7. El sistema de clasificación de Fisher clasifica la aparición de hemorragias subaracnoideas en una tomografía computarizada para predecir el riesgo de vasoespasmos cerebrales. Los examinadores estaban capacitados y certificados en el uso de todas las escalas. Las evaluaciones clínicas posteriores al procedimiento y la infusión de fármacos se centraron principalmente en la seguridad cardiorrespiratoria, la función neurológica y la neurocognición. Para los pacientes con aneurismas rotos, los estudios neurocognitivos solo se realizaron en el día 30.

Tabla 5: Diagrama de flujo de evaluación clínica, bioquímica y RMN.

	Periodo de estudio			
Procedimiento	Inscripción	Dosificación día 1	Días 2-4	Final de Estudio
	(Dentro de 14d del día 1)		(24-96 horas)	(Día 30 ± 7d)
Consentimiento informado	X			
Historia médica y quirúrgica	X			
Demografía	X			
WFNS y escala de Fisher (solo pacientes con aneurisma roto)	X			
Escala de Rankin Modificada (mRS)	X		X	X
Escala de accidentes cerebrovasculares del NIH (NIHSS)	X	X ¹	X	X
Batería cognitiva ²	X		X	X
Examen físico/neurológico	X	X ³		X
Medición de los signos vitales ⁴	X ⁵	X ⁶	X ⁷	X ⁷
Altura	X			
Peso	X		X ⁸	
ECG	X	X ⁹	X ¹⁰	
Colección de muestras de histamina ¹¹		X		
Colección de muestras bioanalíticas ¹²		X		
Bioquímica, Hematología, Análisis de orina	X	X ¹³	X ¹³	X
Prueba β-hCG en suero ¹⁴	X	X		X
Pruebas de embarazo en orina ¹⁴		X		
Muestra de plasma para almacenamiento (para posibles pruebas de inmunogenicidad)		X ¹⁵		X

¹1- 4 horas después de la salida de la suite de angiografía

²La inscripción y la evaluación de los días 2-4 se omiten en pacientes con un aneurisma roto (realizado solo en el día 30).

³Post-dosis.

⁴El monitoreo cardíaco se realizó el día 1 de 0 a 2 horas después de la dosis.

⁵Presión arterial, frecuencia cardíaca, temperatura, SaO₂.

⁶Los signos neurovitales se realizaron al menos cada 4 horas hasta 24 horas después de la administración y luego según lo determinado por el médico o los médicos tratantes. BP, HR y saturación de O₂ se midieron antes del procedimiento (es decir, la inducción previa a la anestesia) y después del procedimiento (inmediatamente antes de la dosis). BP y FC: 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 16, 20 y 24 horas después de la dosis. Temperatura medida una vez 12-24 horas después de la dosis. Saturación de O₂: 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 después de la dosis, pero podría suspenderse después de la finalización y recuperación de la anestesia, y no fue necesario más de 6 horas después de la dosis.

⁷Presión arterial, frecuencia cardíaca, temperatura.

⁸Peso que se mide en todos los pacientes en la Inscripción y en el Día 2-4. En el caso de pacientes con rotura de aneurisma cuyo peso debe estimarse en el momento de la inscripción (siguiendo la práctica clínica), el peso real debe medirse en el día 2-4.

⁹Pre-dosis de ECG de 12 derivaciones, 4-6 horas y 12 horas después de la dosis. Si la inscripción y el día 1 se producen el mismo día, se puede realizar un ECG de 12 derivaciones para servir como el ECG de inscripción y el día 1 antes de la dosis. El anestesiólogo y/o el personal de la sala de recuperación postoperatoria realizarán un monitoreo de ECG de (mínimo) 3 derivaciones desde el inicio de la administración hasta al menos 2 horas después de la dosis.

¹⁰ECG de 12 derivaciones 24 horas después de la dosis

¹¹Dos muestras tomadas antes de la dosis y 10 minutos después de la finalización de la infusión del fármaco del estudio.

¹²Dos muestras consecutivas para el análisis de PK, tomadas entre 5 y 10 minutos después del inicio de la infusión del fármaco del estudio.

¹³Según los patrones de práctica institucional en el tratamiento de pacientes con aneurismas cerebrales post-tratamiento endovascular.

¹⁴Solo para mujeres en edad fértil; se pueden realizar pruebas de orina o suero antes del día 1. Véase la sección 8.5.2 para más detalles.

¹⁵Predosis

Tabla 6: Resultados neurocognitivos del día 30

Todos los sujetos aleatorizados Día 30				
Prueba	Dirección*	Media Placebo ± SD N =	Media TAT-NR2B9C ± SD N =	Valor de p
Registros A	↓	48,10 ± 34,20	37,55 ± 18,50	0,083
Registros B	↓	115,27 ± 77,80	101,12 ± 75,10	0,402
Fluidez verbal fonética	↑	36,20 ± 13,10	34,80 ± 12,00	0,469
Fluidez verbal semántica	↑	17,78 ± 5,48	16,36 ± 4,91	0,075
Símbolo de dígitos	↑	65,04 ± 22,40	60,58 ± 21,10	0,186
Recuperación total de HVLT-R	↑	23,22 ± 5,24	22,70 ± 6,26	0,555
HVLT-R Retrasado Recuerdo	↑	8,09 ± 2,59	7,37 ± 3,25	0,109
Retención HVLT-R%	↑	85,10 ± 18,70	76,61 ± 26,90	0,017
HVLT-R RDI	↑	10,02 ± 1,69	9,63 ± 2,61	0,240
MMSE	↑	28,50 ± 1,68	28,50 ± 2,62	1,000

Puntuación de gravedad NPI-Q	↓	3,48 ± 4,73	1,80 ± 2,32	0,014
Puntuación de emergencia NPI-Q	↓	3,23 ± 5,23	1,56 ± 2,49	0,026
CES-D	↓	11,62 ± 11,20	10,75 ± 8,11	0,556
Todos los sujetos sin rotura Día 30				
Prueba	Dirección*	Media Placebo ± SD N =	Media TAT-NR2B9C ± SD N =	Valor de p
Registros B	↓	107,86 ± 72,36	96,601 ± 73,48	0,517
Fluidez verbal fonética	↑	37,67 ± 12,00	34,68 ± 12,40	0,146
Fluidez verbal semántica	↑	18,32 ± 4,58	16,13 ± 4,72	0,006
Símbolo de dígitos	↑	66,88 ± 21,70	62,12 ± 21,10	0,196
Recuperación total de HVLT-R	↑	23,70 ± 4,96	23,12 ± 6,00	0,528
HVLT-R Retrasado Recuerdo	↑	8,33 ± 2,54	7,43 ± 3,15	0,063
Retención HVLT-R%	↑	86,71 ± 18,20	76,17 ± 25,7	0,005
HVLT-R RDI	↑	10,01 ± 1,75	9,68 ± 2,64	0,370
MMSE	↑	28,50 ± 1,73	28,71 ± 2,33	0,661
Puntuación de gravedad NPI-Q	↓	2,95 ± 4,19	1,57 ± 2,02	0,046
Puntuación de riesgo NPI-Q	↓	2,62 ± 4,39	1,31 ± 2,07	0,068
CES-D	↓	11,35 ± 11,00	9,57 ± 7,81	0,272
Todos los sujetos con rotura Día 30				
Prueba	Dirección*	Media Placebo ± SD N =	Media TAT-NR2B9C ± SD N =	Valor de p
Prueba	Dirección*	Placebo Media ± SD N =	TAT-NR2B9C Media ± SD N =	Valor de p
Registros A	↓	61,60 ± 45,50	45,14 ± 13,70	0,3807
Registros B	↓	168,60 ± 103,00	123,71 ± 85,10	0,4272
Fluidez verbal fonética	↑	27,92 ± 16,30	35,29 ± 10,90	0,1498
Fluidez verbal semántica	↑	14,77 ± 8,68	17,22 ± 5,63	0,3473
Símbolo de dígitos	↑	54,85 ± 24,10	54,94 ± 20,70	0,9904
Recuperación total de HVLT-R	↑	20,54 ± 6,13	21,11 ± 7,13	0,8169
HVLT-R Retrasado Recuerdo	↑	6,77 ± 2,55	7,17 ± 3,67	0,7395
Retención HVLT-R%	↑	76,05 ± 19,5	78,25 ± 31,9	0,8269
HVLT-R RDI	↑	10,08 ± 1,32	9,44 ± 2,55	0,4209
MMSE	↑	28,50 ± 1,29	27,43 ± 3,78	0,6033
Puntuación de gravedad NPI-Q	↓	5,08 65,99	2,53 ± 3,07	0,161
Puntuación de riesgo NPI-Q	↓	5,08 ± 7,09	2,40 ± 3,50	0,2069
CES-D	↓	13,15 ± 12,2	15,28 ± 7,80	0,5591
* ↑ Cuanto más alto sea el puntaje, mejor será el rendimiento de la prueba.				
↓ Cuanto más bajo sea el puntaje, mejor será el rendimiento de la prueba				

Intervenciones del estudio

Los pacientes fueron asignados aleatoriamente por un sistema de codificación generado por computadora para recibir una infusión intravenosa de TAT-NR2B9C o Placebo. El medicamento del estudio se suministró en un frasco de medicamento que contenía 20 mg/ml de TAT-NR2B9C, que se dosificó a 2,6 mg/kg por dilución en 100 cc de solución salina normal y se administró por vía intravenosa durante 10 minutos. La infusión, realizada por individuos cegados a la asignación de tratamiento, comenzó una vez que el neurointervencionista tratante consideró que la reparación del aneurisma se había completado pero antes de la terminación de la anestesia. El fundamento de este momento fue que el propósito de ENACT era probar si la neuroprotección en humanos era factible después de que

hubiera ocurrido un accidente cerebrovascular, y no solo en un paradigma de tratamiento previo.

Evaluación del número y volumen del accidente cerebrovascular

Las nuevas lesiones isquémicas se definieron como nuevas señales hiperintensas en la IRM DWI del día 2-4 (Figuras 1A-C; flechas amarillas; denominadas lesiones DWI). El volumen de nuevas lesiones DWI se determinó a partir del área de superficie de las regiones de interés (ROI) trazadas alrededor de cada lesión DWI (Figs. 1A-C), multiplicada por el grosor de corte (3 mm). Las lesiones en las imágenes FLAIR se consideraron nuevas si se encontraban dentro de la ubicación de una nueva lesión DWI y no preexistían en la IRM de inscripción (Figs. 1A-C). Los volúmenes de las nuevas lesiones FLAIR se determinaron de manera similar a las nuevas lesiones DWI. Todos los cálculos se realizaron utilizando el software Osirix (v.3.9.2, versión de 32 bits).

10 Medidas de los resultados

El propósito principal de ENACT fue probar la hipótesis de neuroprotección. Por lo tanto, el efecto de TAT-NR2B9C sobre el número y volumen de nuevas lesiones detectables fue el interés primario. Sin embargo, el paradigma ENACT nunca se había realizado previamente, y las evaluaciones de RM proporcionaron 4 medidas de igual interés (número de lesiones DWI, volumen de lesiones DWI, número de lesiones FLAIR y volumen de lesiones FLAIR). Se seleccionó como la medida de resultado de eficacia primaria la capacidad de una dosis intravenosa única de TAT-NR2B9C para reducir el volumen de los accidentes cerebrovasculares embólicos medidos por DWI y FLAIR MRI Imaging a las 24-96 horas después del procedimiento. Otro objetivo de interés primario fue determinar la seguridad y la tolerabilidad de TAT-NR2B9C en la población actual de pacientes. Los resultados secundarios incluyeron la eficacia de TAT-NR2B9C en la reducción del número de accidentes cerebrovasculares embólicos, la eficacia en pacientes con ictus pequeños (<10cc), en la reducción del deterioro cognitivo inducido por el procedimiento en el día 30 de seguimiento, en la reducción de la frecuencia de grandes > 10cc accidentes cerebrovasculares, y en la mejora de los resultados (nuevos accidentes cerebrovasculares, neurológicos y neurocognitivos) en los subgrupos de pacientes con aneurismas rotos y no rotos.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron de acuerdo con el principio modificado de intención de tratar (mITT); ITT; y por poblaciones de protocolo. Bajo el principio de mITT, la muestra evaluable incluye a todos los sujetos que son asignados al azar y reciben cualquier cantidad de medicamento del estudio. En el caso de los datos faltantes sobre el resultado clínico entre los pacientes que se sabe que están vivos, se asignó la peor puntuación de resultado posible. Los valores de P se presentan sin ajustar y, cuando se indica, se ajustan para las variables que afectan la medida de resultado.

30 Resultados

Pacientes del estudio

La disposición de todos los pacientes del estudio se proporciona en la Fig. 2. Entre septiembre de 2008 y marzo de 2011, 212 pacientes de 11 sitios canadienses y 3 de EE. UU. se examinaron de acuerdo con los criterios de inclusión/exclusión del ensayo (Tabla 4). 15 no cumplieron con los criterios y no fueron asignados al azar. Hubo 12 fracasos en la asignación al azar (el paciente fue aleatorio, pero no recibió el fármaco del estudio): 5 debido a la incapacidad de realizar la reparación de aneurisma endovascular, 3 debido a la incapacidad de obtener una RMN previa al procedimiento (planeada el mismo día que el procedimiento), 2 debido a un ECG previo al procedimiento que muestra un intervalo QTc > 450ms (un criterio de exclusión), 1 debido a una rotura aneurismática fatal durante el procedimiento y antes de la infusión del medicamento y 1 debido a la negativa del anestesiólogo a administrar el medicamento del estudio en un paciente con enfermedad pulmonar obstructiva crónica grave. Por lo tanto, un total de 185 pacientes fueron aleatorizados y recibieron el fármaco del estudio (la población mITT), de manera que 92 pacientes fueron asignados al azar para recibir TAT-NR2B9C y 93 pacientes recibieron placebo (Fig. 2). En el grupo TAT-NR2B9C, 1 paciente falleció antes del día 2-4 MRI y 2 se negaron a asistir a su seguimiento del día 30. En el grupo placebo, 2 sujetos murieron después de la exploración por resonancia magnética del día 2-4, y un tercero no asistió al día 30 de seguimiento (Fig. 2).

Las características demográficas y clínicas basales de los dos grupos fueron similares (Tabla 7). Los procedimientos endovasculares duraron, en promedio, alrededor de 2 horas (Tabla 7). Aproximadamente la mitad de las reparaciones de aneurismas se pudieron realizar utilizando solo bobinas de platino desmontables, mientras que en el resto, se usaron técnicas o dispositivos de asistencia adicionales que comprendían enrollamiento o reparación asistida con balón o stent utilizando endoprótesis de desviación de flujo. No hubo diferencias en las características basales y clínicas entre los grupos TAT-NR2B9C y Placebo en los subgrupos de pacientes con aneurismas rotos o no rotos, excepto por una mayor incidencia de hipertensión en los pacientes con aneurismas rotos tratados con placebo (Tabla 7).

Resultados de MRI

55 [0126] De 185 sujetos asignados al azar, 184 completaron la exploración por resonancia magnética después del procedimiento (día 2-4). Los pacientes que fueron tratados con TAT-NR2B9C después de su procedimiento

5 endovascular mostraron una reducción del 43% en el número de nuevas lesiones isquémicas detectadas por DWI MRI (Tabla 8; $p = 0,005$). Esto también se reflejó en las exploraciones FLAIR MRI, en las que el tratamiento con TAT-NR2B9C redujo el número de nuevas lesiones isquémicas en un 39% (Tabla 8; $p = 0,026$). Los volúmenes medianos de ictus medidos por FLAIR y DWI MRI también se redujeron en pacientes tratados con TAT-NR2B9C (Tabla 8; $p < 0,001$ para volúmenes de DWI y FLAIR [utilizando una Regresión logística ordenada por rango en Stata]). Sin embargo, debido a la distribución sesgada y ampliamente dispersa de los datos de volúmenes (Tabla 8), los volúmenes medios de infarto fueron significativamente distorsionados por los pacientes que exhibieron grandes accidentes cerebrovasculares (definidos como $> 10\text{cc}$). Específicamente, dos pacientes asignados al grupo TAT-NR2B9C sufrieron complicaciones durante el procedimiento de reparación del aneurisma que causó grandes
10 accidentes cerebrovasculares (10.7cc y 49.2 cc). Esto produjo diferencias generales no significativas en los volúmenes medios de ictus entre los grupos de tratamiento.

Tabla 7: Características demográficas y basales de los pacientes										
Características	Todos aleatorizados				Aneurisma no roto				Aneurisma roto	
	Grupo de estudio		P *	Grupo de estudio		P *	Grupo de estudio		P *	
	Placebo (N = 93)	NA-1 (N = 92)		Placebo (N = 74)	NA-1 (N = 74)		Placebo (N = 19)	NA-1 (N = 18)		
Edad (yt)	56,05±10,3	58±11,05	0,21	56,48±19,7	58,78±9,7	0,17	54,47±9,12	55,0±15,44	0,90	
Sexo masculino (%)	26,90%	38,40%	0,63	29,73%	31,08%	1,00	15,79%	27,78%	0,45	
Peso (Kg)	76,4±16,5	25,0±20,1	0,62	77,4±17,2	75,6±20,0	0,55	72,6±19,1	72,8±25,2	0,97	
Presión sist. (mm Hg)		130,2±16,2	0,87	130,9±14,1	7	0,95	12,9±16,1	12,6±14,2	0,61	
Presión diast. (mm Hg)	76,0±10,0	75,8±12,1	0,91	76,6±9,00	77,9±11,2	0,46	73,5±13,1	67,3±12,2	0,15	
Diabetes (%)	6,50%	5,40%	0,77	6,76%	5,41%	1,00	5,26%	5,56%	1,00	
Hipertensión (%)	50,50%	42,40%	0,8	45,95%	45,95%	1,00	68,43%	27,78%	0,02	
Hiperlipidemia (%)	10,80%	11,00%	0,8	9,46%	12,16%	0,79	15,79%	11,11%	1,00	
Estado fumador (%)			0,06			0,19			0,19	
No	36,60%	26,10%		93,78%	25,68%		47,37%	27,78%		
Pasado	26,90%	43,50%		32,43%	47,30%		5,26%	27,78%		
Actual	36,60%	38,40%		33,78%	27,83%		47,37%	44,44%		
Puntaje NIHSS										
Media	0,45±2,15	0,22±0,53	0,31	0,18±0,66	0,19±0,91	0,89	1,99±5,09	0,35±0,61	0,21	
Mediana	0	0	0,22	0	0	0,85	0	0	0,11	
mPS										
Media	0,28±71	0,17±0,41	0,22	0,24±0,64	0,16±0,41	0,36	0,42±0,96	0,22±0,43	0,43	
Mediana	0	0	0,16	0	0	0,12	0	0	1,00	
Aneurisma roto (N)	20,40%	19,60%	0,88							
Duración del procedimiento (h)	2,07	2,06	0,9	2,01±1,10	2,03±0,82	0,91	2,29±1,00	2,13±0,57	0,56	
Dispositivo de asistencia (%)	52%	54%	0,71	50,80%	59,46%	0,32	57,89%	33,33%	0,19	
globo	25%	29%								
stent	19%	18%								
stent de tubo	8%	7%								
Concom. Antiplaquetas	41,00%	35,00%	0,42	33,78%	48,65%	0,10	42,11%	11,11%	0,06	

* Los valores de p se obtuvieron utilizando una prueba t o una prueba exacta de Fisher.

* Los puntajes en la Escala de Accidentes Cerebrovasculares de los Institutos Nacionales de la Salud (NIHSS) van de 0 a 42, con valores más altos que reflejan un deterioro neurológico más grave (<5, deterioro leve, ≥25, deterioro muy severo).

Resultados de MRI

De 185 sujetos aleatorizados, 184 completaron la exploración MRI posterior al procedimiento (día 2-4). Los pacientes que fueron tratados con TAT-NR2B9C después de su procedimiento endovascular mostraron una reducción del 43% en el número de nuevas lesiones isquémicas detectadas por DWI MRI (Tabla 8; $p = 0,005$). Esto también se reflejó en las exploraciones FLAIR MRI, en las que el tratamiento con TAT-NR2B9C redujo el número de nuevas lesiones isquémicas en un 39% (Tabla 8; $p = 0,026$). Los volúmenes medianos de ictus medidos por FLAIR y DWI MRI también se redujeron en pacientes tratados con TAT-NR2B9C (Tabla 8; $p < 0,001$ para volúmenes de DWI y FLAIR [utilizando una regresión logística ordenada por rango en Stata]). Sin embargo, debido a la distribución sesgada y ampliamente dispersa de los datos de volúmenes (Tabla 8), los volúmenes medios de infarto fueron significativamente distorsionados por los pacientes que exhibieron grandes accidentes cerebrovasculares (definidos como $> 10\text{cc}$). Específicamente, dos pacientes asignados al grupo TAT-NR2B9C sufrieron complicaciones durante el procedimiento de reparación del aneurisma que causaron grandes accidentes cerebrovasculares (10,7cc y 49,2 cc). Esto produjo diferencias generales no significativas en los volúmenes medios de ictus entre los grupos de tratamiento.

Parámetro de resonancia magnética	Tabla 8: Resultados de MRI									
	Grupo de estudio									
	Placebo (N = 93)		Mediana		TAT-NR2B9C (N = 91)		Mediana		Valor de p	
Todos los pacientes	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	Valor de p Unadj *	Valor de p Adj **
Número de lesiones DWI	7,28 ± 12,61	2	4,13 ± 6,81	2					0,018	0,005
Número de lesiones FLAIR	4,83 ± 7,69	2	2,96 ± 4,42	1					0,048	0,026
Volumen de lesiones DWI (mm3)	645 ± 1382	123,9	966 ± 5266	59,4					0,306	0,120
Volumen de lesiones FLAIR (mm3)	477 ± 1611	44,9	915 ± 5598	29,1					0,445	0,236
Pacientes con rotura de aneurismas	Placebo (N = 19)	Mediana	TAT-NR2B9C (N = 18)	Mediana	Placebo (N = 74)	Mediana	TAT-NR2B9C (N = 73)	Mediana	Valor de p Unadj *	Valor de p Adj **
Número de lesiones DWI	9,47 ± 11,59	4	3,39 ± 5,93	1					0,027	
Número de lesiones FLAIR	6,58 ± 7,48	4	2,39 ± 4,67	0					0,046	
Volumen de lesiones DWI	1373 ± 2267	164,6	277 ± 528	28,7					0,015	
Volumen de lesiones FLAIR	1575 ± 3229	86,8	205 ± 495	0					0,023	
Pacientes con rotura de aneurismas	Placebo (N = 93)	Mediana	TAT-NR2B9C (N = 89)	Mediana	Placebo (N = 74)	Mediana	TAT-NR2B9C (N = 73)	Mediana	Valor de p Unadj *	Valor de p Adj **
Número de lesiones DWI	6,72 ± 12,88	2	4,32 ± 7,03	2					0,108	0,019
Número de lesiones FLAIR	4,38 ± 7,64	2	3,10 ± 4,39	1					0,220	0,084
Volumen de lesiones DWI	459 ± 983	109,1	1137 ± 5870	72,2					0,933	0,471
Volumen de lesiones FLAIR	195 ± 553	41,4	1083 ± 6215	33,2					0,617	0,896
Pacientes con ictus <10 cct	Placebo (N = 93)	Mediana	TAT-NR2B9C (N = 89)	Mediana	Placebo (N = 74)	Mediana	TAT-NR2B9C (N = 73)	Mediana	Valor de p Unadj *	Valor de p Adj **
Número de lesiones DWI	7,28 ± 12,61	2	3,91 ± 6,72	1					0,010	0,002
Número de lesiones FLAIR	4,83 ± 7,69	2	2,75 ± 4,25	1					0,024	0,012
Volumen de lesiones DWI	645 ± 1382	123,9								
Volumen de lesiones FLAIR	477 6	44,9	315 ± 646	51,5					0,054	0,009
	1,611	44,9	183 ± 506	25,2					0,061	0,014

Pacientes con Accidentes cerebrovasculares <10cc y aneurismas no rotos	Placebo (N = 74)		TAT-NR2B9C (N = 71)		Valor de p Unadj *	Valor de p Adj **
	Media	Mediana	Media	Mediana		
Número de lesiones DWI	6,72 ± 12,88	2	4,04 ± 6,94	2	0,069	0,010
Número de lesiones FLAIR	4,38 ± 7,64	2	2,84 ± 4,17	1	0,131	0,045
Volumen de lesiones DWI	459 ± 983	109,1	325 ± 675	70,4	0,441	0,088
Pacientes con Accidentes cerebrovasculares <10cc y aneurismas no rotos	Placebo (N = 74)		TAT-NR2B9C (N = 71)		Valor de p Unadj *	Valor de p Adj **
Volumen de lesiones FLAIR	Media	Mediana	Media	Mediana		
	195 ± 553	41,4	178 ± 511	30,2	0,581	0,183

Los valores más-menos son medias ± SD; * Los valores de p reflejan una prueba de las diferencias entre las medias. ** Los valores de P ajustados representan el efecto del tratamiento, ajustado para las variables Edad, Ruptura del aneurisma, el uso de Dispositivos Adjuntivos, la duración del procedimiento y el uso de Agentes antiplaquetarios (AAS o Plavix). † Según lo definido por el volumen DWI; ‡ Valores ajustados no calculados debido a un pequeño número de pacientes

Entre los pacientes asignados al azar en ENACT, 37 presentaron una HSA debido a una ruptura de aneurisma. Este subgrupo fue preseleccionado para un análisis de subgrupos debido a la posibilidad de que la HSA pudiera afectar la probabilidad de sufrir nuevas lesiones isquémicas. Además, tales pacientes pueden sufrir déficits neurológicos y neurocognitivos más graves debido a la HSA que los pacientes que se someten a procedimientos electivos para aneurismas no rotos. En este subgrupo de pacientes, el tratamiento con TAT-NR2B9C redujo el número de nuevas lesiones isquémicas detectadas por MRI DWI o MRI FLAIR en 64% ($p = 0,027$ y $p = 0,046$ para DWI y FLAIR, respectivamente; Tabla 8). Además, los pacientes tratados con TAT-NR2B9C mostraron una reducción del 80% en los nuevos volúmenes de infarto según lo definido por DWI MRI ($p = 0,015$), y una reducción del 87% de los nuevos volúmenes de infarto según lo definido por FLAIR MRI ($p = 0,023$). En el subgrupo de pacientes con aneurismas no rotos ($n = 147$), el efecto del tratamiento con TAT-NR2B9C en los resultados de la RMN tuvo tendencia en las mismas direcciones que la cohorte general de pacientes (Tabla 8).

Un análisis de subgrupos adicional se realizó en pacientes sin grandes accidentes cerebrovasculares (182 de los 184 pacientes). El fundamento de este análisis fue que el paradigma ENACT se diseñó para examinar el efecto del tratamiento en los accidentes cerebrovasculares embólicos pequeños, similares a los modelados en los experimentos con primates no humanos donde las nuevas lesiones isquémicas eran sistemáticamente pequeñas. Sin embargo, en tal paradigma, las medias aritméticas de los volúmenes de infarto quedaron sujetas a distorsión por infartos que superaban con creces los volúmenes medianos observados. En pacientes con accidentes cerebrovasculares de menos de 10 cc por volumen, el tratamiento con TAT-NR2B9C redujo los números y volúmenes de las nuevas lesiones isquémicas detectadas por DWI y por FLAIR MRI (Tabla 8), consistente con un efecto neuroprotector de TAT-NR2B9C en pequeños accidentes cerebrovasculares inducidos. Por lo tanto, los métodos de RM descritos en el presente documento también pueden ser útiles para detectar los efectos de otros fármacos neuroprotectores en el accidente cerebrovascular isquémico, el accidente cerebrovascular hemorrágico y la HSA.

Un objetivo secundario en ENACT fue determinar si el tratamiento con TAT-NR2B9C reduce la frecuencia de grandes accidentes cerebrovasculares ($> 10\text{cc}$). Sin embargo, las 2 apariciones de grandes accidentes cerebrovasculares no fueron suficientes para justificar el análisis estadístico.

Resultados neurológicos

Los pacientes inscritos en ENACT se sometieron a una reparación electiva de aneurisma o experimentaron una HSA con puntuaciones WFNS de I-III (puntuación de Glasgow Coma 13-15). En consecuencia, exhibieron un bajo nivel de discapacidad neurológica en el momento del procedimiento endovascular (mediana NIHSS y mRS de 0; Tabla 7). En el día 30 posterior al procedimiento, el 93,5% de todos los pacientes que fueron tratados con TAT-NR2B9C y el 89,2% de los pacientes tratados con placebo tuvieron puntuaciones NIHSS favorables (NIHSS 0-1, $p = 0,434$; Tabla 9). Las puntuaciones de mRS fueron favorables (0-2) en el 93,5% en cada uno de los grupos TAT-NR2B9C y placebo (Tabla 9). Sin embargo, en los sujetos inscritos con aneurismas rotos, el 100% de los tratados con TAT-NR2B9C tuvieron NIHSS favorable 30 días después del procedimiento, en comparación con el 68,4% de los pacientes tratados con placebo ($p = 0,020$; Tabla 4). Los pacientes con HSA tratados con TAT-NR2B9C también tendieron a tener puntuaciones mRS más favorables en comparación con los tratados con placebo (94,4% frente a 73,7% en TAT-NR2B9C y placebo, respectivamente; $p = 0,180$; Tabla 9). Los pacientes que sufrieron accidentes cerebrovasculares grandes ($> 10\text{ cc}$) debido a complicaciones de procedimiento estaban en el grupo TAT-NR2B9C. El día 30, uno tenía un NIHSS de 2 y un mRS de 2, y el otro un NIHSS de 2 y un mRS de 1.

Tabla 9: Resultados neurológicos

	Grupo de estudio		Valor de p
	Placebo no**. (%) (N = 93)	TAT-NR2B9C (N = 92)	
Todos los pacientes			
NIHSS de 0 ó 1	83 (89,2%)	86 (93,5%)	0,434
mRS puntuación de 0-2	87 (93,5%)	86 (93,5%)	1,000
Pacientes con aneurismas no rotos	(N = 74)	(N = 74)	
NIHSS de 0 ó 1	70 (94,6%)	68 (91,9%)	0,745
mRS puntuación de 0-2	73 (98,6%)	69 (93,2%)	0,363
Pacientes con aneurismas rotos	(N = 19)	(N = 18)	
NIHSS de 0 ó 1	13 (68,4%)	18 (100%)	0,020
mRS puntuación de 0-2	14 (73,7%)	17 (94,4%)	0,180
Pacientes con ictus <10cc's **	(N = 93)	(N = 89)	
NIHSS de 0 ó 1	83 (89,3%)	85 (95,5%)	0,164
mRS puntuación de 0-2	87 (93,6%)	84 (96,6%)	0,499

Pacientes con aneurisma no roto y con accidentes cerebrovasculares <10cc's **	(N = 74)	(N = 71)	
NIHSS de 0 ó 1	70 (94,6%)	67 (94,4%)	1,000
mRS puntuación de 0-2	73 (98,7%)	67 (97,1%)	0,609

Resultados neurocognitivos

5 Los resultados de la batería de pruebas neurocognitivas se detallan en la Tabla complementaria 7. Los pacientes tratados con TAT-NR2B9C mostraron beneficios neurocognitivos después del tratamiento con TAT-NR2B9C, incluidas mejoras significativas en los cuestionarios de inventarios neuropsiquiátricos. Sorprendentemente, aunque el número de pacientes fue pequeño para el análisis estadístico en el grupo de aneurisma roto, hubo tendencias significativas de mejoría en las pruebas cognitivas y neuropsiquiátricas en pacientes tratados con TAT-NR2B9C.

Seguridad

10 Un total de 3 pacientes fallecieron. Uno, inscrito con un aneurisma no roto, recibió TAT-NR2B9C pero murió el día 3 debido a un shock hemorrágico por un hematoma retroperitoneal inducido por la punción en la ingle. Dos recibieron placebo. Uno falleció el día 13 por complicaciones neurológicas después de una rotura intraoperatoria de un aneurisma previamente no roto. El otro, inscrito con un aneurisma roto, murió el día 12 debido a complicaciones neurológicas de la HSA.

15 En la Tabla 5 se proporciona una lista de los eventos adversos (EA), incluidos los EA graves e importantes. En general, los EA fueron proporcionados entre los grupos de tratamiento. Hubo un total de 388 EA en el placebo y 336 en el grupo TAT-NR2B9C. Sin embargo, solo 2 EA se consideraron probablemente relacionados con el fármaco y ambos fueron leves, con hipotensión transitoria que se resolvió en minutos. De todos los EA graves (los EA que causan la muerte, son potencialmente mortales, requieren una nueva hospitalización o prolongan la hospitalización actual, o resultan en una incapacidad o discapacidad persistente o significativa), 24 ocurrieron en 14 pacientes que recibieron placebo y 11 ocurrieron en 9 pacientes que recibieron TAT-NR2B9C (Tabla 10). Ninguno se relacionó con TAT-NR2B9C.

25 Otro hallazgo sorprendente es que los pacientes que recibieron TAT-NR2B9C tuvieron significativamente menos incidentes de dolor relacionados con el procedimiento. Aunque el número de pacientes que informaron dolor asociado con los procedimientos de reparación del aneurisma no fue alto, el efecto fue lo suficientemente grande como para que hubiera un valor de P inferior a <0,02. Por lo tanto, el TAT-NR2B9C puede reducir el dolor del procedimiento y post-procedimiento en los humanos, y es probable que reduzca el dolor sin procedimientos de reparación de aneurismas o en otros procedimientos que tengan dolor asociado con ellos como un efecto secundario. Como las subunidades de PSD-95 y NMDAR2 también están altamente conservadas en animales, es probable que los inhibidores de PSD-95 también sean efectivos en animales para el dolor.

Tabla 10: Puntos finales de seguridad y eventos avanzados (EA).				
	Grupo de estudio		Proporción de probabilidades	Valor de p
	Placebo (N = 93)	TAT-NR2B9C (N = 92)		
Eventos adversos más comunes (> 10% en cualquier grupo de tratamiento)				
Total de sujetos con 1+ AE	85 (91%)	83 (90%)		
Dolor de cabeza	37 (40%)	42 (46%)		0,4199
Náusea	27 (29%)	33 (36%)		0,3206
	Grupo de estudio		Proporción de probabilidades	Valor de p
	Placebo (N = 93)	TAT-NR2B9C (N = 92)		
Eventos adversos más comunes (> 10% en cualquier grupo de tratamiento)				
Vómito	8 (9%)	12 (13%)		0,3307
Dolor de procedimiento	10 (11%)	2 (2%)		0,0178
Hipotensión	6 (6%)	9 (10%)		0,4066
Hipertensión	7 (8%)	4 (4%)		0,3606
Relación de AE con el estudio de medicamentos				
Total:	388 (100%)	336 (100%)		

No relacionado	271 (37.4%)	251 (34.7%)		
Poco probable relacionado	96 (13,3%)	72 (9,9%)		
Posiblemente relacionado	21 (2,9%)	11 (1,5%)		
Probablemente relacionado	0 (0,0%)	2 (0,3%)		
Total de eventos adversos				
Medio	208 (28,7%)	187 (25,8%)		
Moderado	159 (22,0%)	121 (16,7%)		
Grave*	21 (2,9%)	28 (3,9%)		
Eventos Adversos Graves ** por Sistema Corporal				
Total	24 (14)	11 (9)		
Gastrointestinal	2 (2)	0 (0)		
Sitio de administración	0 (0)	1 (1)		
Complicaciones de procedimiento	2 (2)	1 (1)		
Sistema nervioso	14 (9)	3 (3)		
Genitourinario	1 (1)	1 (1)		
Respiratorio	2 (1)	2 (1)		
Vascular	3 (3)	3 (3)		
Infecioso	0 (0)	0 (0)		
Neoplásico	0 (0)	0 (0)		
Sangre y linfático	0 (0)	0 (0)		
Inmune	0 (0)	0 (0)		
Endocrino	0 (0)	0 (0)		
Metabólico y nutricional	0 (0)	0 (0)		
Psiquiátrico	0 (0)	0 (0)		
Ojo	0 (0)	0 (0)		
Oreja/Laberinto	0 (0)	0 (0)		
Cardíaco	0 (0)	0 (0)		
Hepatobiliar	0 (0)	0 (0)		
Piel	0 (0)	0 (0)		
Musculoesquelético	0 (0)	0 (0)		
Renal	0 (0)	0 (0)		
congénito/familiar/genético	0 (0)	0 (0)		
* El EA severo se define como un evento adverso incapacitante que impide el desempeño de actividades normales				
** EA grave se define como un AE que provoca la muerte, es potencialmente mortal, requiere de una nueva hospitalización o se prolonga la hospitalización actual, resulta en una incapacidad o incapacidad persistente o significativa, o es un defecto congénito o de nacimiento.				

Discusión

Este ensayo de TAT-NR2B9C en accidentes cerebrovasculares inducidos por el procedimiento demostró el beneficio de TAT-NR2B9C en la reducción de los números y la mediana de los volúmenes de accidentes cerebrovasculares embólicos en pacientes con aneurismas intracraneales rotos y no rotos. En los análisis de subgrupos preespecificados, los pacientes que más se beneficiaron fueron los que se inscribieron con una HSA debido a una ruptura de aneurisma, donde el tratamiento con TAT-NR2B9C redujo el número de accidentes cerebrovasculares en un 64% y los volúmenes en aproximadamente un 80%. Además, este subgrupo de pacientes exhibió resultados neurológicos mejorados por NIHSS, y tendió a resultados neurológicos mejorados por mRS y resultados cognitivos mejorados. A pesar del pequeño tamaño de este subgrupo de sujetos con aneurismas rotos (37 pacientes), el tamaño del efecto TAT-NR2B9C fue tan grande que produjo resultados estadísticamente significativos. Esto es sorprendente dado que se cree que el beneficio del tratamiento con TAT-NR2B9C se produce principalmente a través de la reducción de la isquemia, y la isquemia rara vez se observa antes de los 5 días en la HSA.

La validez de los resultados generales de ENACT está respaldada por varias características de la prueba. El ENACT se realizó de forma doble ciego, de manera que los pacientes, los investigadores y los que analizaron los resultados del ensayo no estaban al tanto de las asignaciones de tratamiento. Las características demográficas que pueden

influir en los resultados de los accidentes cerebrovasculares o la HSA fueron equilibradas y no mostraron interacción con el efecto del tratamiento.

La mayoría de los sujetos en ENACT (80%) tenían aneurismas no rotos, para los cuales la mortalidad y la morbilidad de la reparación endovascular en 30 días, incluidos los déficits neurológicos y cognitivos, es <10%. Por el contrario, aquellos con una HSA tienen un mayor riesgo de sufrir alteraciones en la función neurológica y/o cognitiva. No obstante, la tendencia a la mejora en el subgrupo de pacientes con HSA pequeña fue sorprendente, ya que el ENACT se diseñó para probar la hipótesis de neuroprotección utilizando principalmente criterios de IRM, en sujetos con riesgo de ictus embólicos pequeños y en una población de pacientes relativamente pequeña. En pacientes con HSA, el estado neurológico en la inscripción fue bueno (mRS mediana y NIHSS de 0 en los grupos de placebo y TAT-NR2B9C). El deterioro en los pacientes con HSA no tratados con TAT-NR2B9C a los 30 días posteriores al tratamiento sugiere un empeoramiento de su estado clínico después de sus evaluaciones iniciales. El empeoramiento puede deberse a que sea más susceptible a las complicaciones neurológicas o cognitivas del enroscamiento endovascular o porque la HSA inicie una cascada de eventos clínicamente perjudiciales. En cualquier caso, los sujetos con HSA que reciben TAT-NR2B9C tienen un resultado clínico significativamente mejor que los sujetos con HSA que no lo hacen.

Discusión de la isquemia cerebral en la HSA.

Los pacientes con HSA corren el riesgo de sufrir varias complicaciones diferentes de su HSA. Estas complicaciones pueden causar lesiones en el cerebro de manera independiente y afectar el resultado clínico. Tales complicaciones incluyen la lesión cerebral original causada por el aumento repentino de la presión intracraneal (PIC) como resultado de la ruptura del aneurisma, así como complicaciones más tardías como la hidrocefalia o la isquemia cerebral debido al vasoespasmio cerebral.

La isquemia cerebral en la HSA es el resultado del vasoespasmio arterial cerebral, y complica el curso clínico de aproximadamente el 30% de los casos. La incidencia de vasoespasmio clínicamente relevante en la HSA es mayor entre los días 5 y 12 después de la HSA. Sin embargo, esta complicación es bastante infrecuente en los primeros tres días después de una HSA. El resultado clínico final de un paciente después de una HSA probablemente depende de varios factores, incluidos factores demográficos como la edad y las comorbilidades, la gravedad de la HSA y las diversas complicaciones de la HSA, como la hidrocefalia y el vasoespasmio. Muchas líneas de evidencia demuestran que la isquemia cerebral debida al vasoespasmio no es el único factor que contribuye a un resultado clínico adverso de la HSA (MacDonald, 2007; Kaptain et al., 2000).

Dado que TAT-NR2B9C se usó en sujetos con HSA en las 72 horas posteriores al inicio de la HSA, y dado que la isquemia cerebral en la HSA es extremadamente poco frecuente en los primeros tres días después de la HSA, el efecto beneficioso del TAT-NR2B9C se observó en el ensayo ENACT en pacientes con HSA es poco probable que se deba a efectos antiisquémicos, ya que TAT-NR2B9C no se administra en un periodo de tiempo que puede prevenir el daño isquémico cerebral en la HSA. La concentración plasmática máxima (Cmax) se produce dentro de los 5 minutos posteriores al final de la administración de la dosis, y en su mayor parte desaparece del plasma en 30-45 minutos. La vida media de TAT-NR2B9C parece ser de aproximadamente 5 horas. Por lo tanto, es poco probable que TAT-NR2B9C aún esté presente en el sistema nervioso central de un paciente a los cinco días, el momento en que se produce el vasoespasmio. Además, se ha demostrado que TAT-NR2B9C no altera el flujo sanguíneo cerebral (Bratane et al., Stroke. 2011 Nov; 42 (11): 3265-70), y por lo tanto, no se espera que prevenga el vasoespasmio de ninguna manera.

Por lo tanto, es poco probable que TAT-NR2B9C esté mejorando el resultado neurológico en pacientes con HSA al actuar sobre la isquemia cerebral porque 1) no es vasoactivo y 2) no se administra en el marco de tiempo cuando la isquemia cerebral es una complicación de una HSA. Más bien, TAT-NR2B9C puede estar mejorando el resultado neurológico al tratar la lesión cerebral primaria que surge después de una HSA antes de que se haya desarrollado una isquemia cerebral significativa. Su eficacia puede deberse a una reducción del daño celular como resultado de su interrupción de las vías de señalización celular que conducen a la lesión cerebral primaria provocada por el rápido y transitorio aumento de la PIC que se sabe que surge después de una HSA. En consecuencia, TAT-NR2B9C aborda otro factor de los diversos factores que pueden contribuir al resultado clínico de un paciente después de una HSA, pero no de vasoespasmio o isquemia cerebral.

Aunque la invención se ha descrito en detalle para propósitos de claridad de comprensión, ciertas modificaciones pueden ponerse en práctica dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. En la medida en que más de una secuencia esté asociada con un número de acceso en diferentes momentos, se entienden las secuencias asociadas con el número de acceso a partir de la fecha de presentación efectiva de esta solicitud. La fecha de presentación efectiva es la fecha de la primera solicitud de prioridad que revela el número de acceso en cuestión. A no ser que sea evidente otra cosa a partir del contexto, cualquier elemento, realización, etapa, característica o apariencia de la invención se puede realizar en combinación con cualquier otro.

Listado de secuencias

<110> TYMIANSKI, MICHAEL

<120> TERAPIA PARA HEMORRAGIA SUBARACNOIDEA E ISQUEMIA

<130> 057769-427647

5

<140>
<141>

<150> 61/617.001
<151> 28-03-2012

10

<150> CA 2762338
<151> 15-12-2011

15

<150> 61/570.264
<151> 13-12-2011

<160> 69

20

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 10
<212> PRT

25

<213> virus de la inmunodeficiencia humana

<400> 1

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

30

<210> 2
<211> 11
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

35

<400> 2

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

40

<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

45

<400> 3

Phe Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

50

<210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

55

<400> 4

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Gln
1 5 10

<210> 5
<211> 9

ES 2 731 266 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

5

Lys Leu Ser Ser Ile Glu Ser Asp Val
1 5

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

10

<400> 6

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Lys Leu Ser Ser Ile
1 5 10 15

Glu Ser Asp Val
20

15

<210> 7
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

25

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> Glu, Gln, Ala o un análogo de los mismos

30

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2) .. (2)
<223> Thr o Ser

35

<220>
<221> MOD_RES

<222> (4) .. (4)
<223> Ala, Gln, Asp, Asn, (N-metil) -Ala, (N-metil) -Gln, (N-metil) -Asp, (N-metil) -Asn o uno de sus análogos

40

<220>
<223> Consulte la especificación como presentada para obtener una descripción detallada de las sustituciones y realizaciones preferidas

45

<400> 7

Xaa Xaa Xaa Val
1

50

<210> 8
<211> 22
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

55

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (22)
<223> residuos de D-aminoácidos

ES 2 731 266 T3

<400> 8

Val Asp Ser Glu Ile Ser Ser Leu Lys Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys
1 5 10 15

Lys Arg Gly Tyr Ile Asn
20

5

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> virus de la inmunodeficiencia humana

10

<400> 9

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly Tyr Lys Leu Ser Ser Ile
1 5 10 15

Glu Ser Asp Val
20

15

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 10

Ile Glu Ser Asp Val
1 5

25

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 11

Phe Asn Gly Ser Ser Asn Gly His Val Tyr Glu Lys Leu Ser Ser Ile
1 5 10 15

Glu Ser Asp Val
20

35

<210> 12

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

40

Glu Ser Asp Val
1

<210> 13

<211> 20

<212> PRT

ES 2 731 266 T3

<213> Homo sapiens

<400> 13

His Pro Thr Asp Ile Thr Gly Pro Leu Asn Leu Ser Asp Pro Ser Val
1 5 10 15

Ser Thr Val Val
20

5

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 14

Arg Arg Ala Ile Glu Arg Glu Glu Gly Gln Leu Gln Leu Cys Ser Arg
1 5 10 15

His Arg Glu Ser
20

15

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 15

Thr Gln Gly Phe Pro Gly Pro Cys Thr Trp Arg Arg Ile Ser Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser Glu Val
20

25

<210> 16

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 16

Ala Val Ser Arg Lys Thr Glu Leu Glu Glu Tyr Gln Arg Thr Ser Arg
1 5 10 15

Thr Cys Glu Ser
20

35

<210> 17

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

ES 2 731 266 T3

Leu Asn Ser Cys Ser Asn Arg Arg Val Tyr Lys Lys Met Pro Ser Ile
1 5 10 15

Glu Ser Asp Val
20

5 <210> 18
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Gly Gly Asp Leu Gly Thr Arg Arg Gly Ser Ala His Phe Ser Ser Leu
1 5 10 15

Glu Ser Glu Val
20

10
15 <210> 19
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Gln Pro Thr Pro Thr Leu Gly Leu Asn Leu Gly Asn Asp Pro Asp Arg
1 5 10 15

Gly Thr Ser Ile
20

20
25 <210> 20
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Gln Ser Ile Pro Cys Met Ser His Ser Ser Gly Met Pro Leu Gly
1 5 10 15

Ala Thr Gly Leu
20

30 <210> 21
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 21

Gln Asn Phe Ala Thr Tyr Lys Glu Gly Tyr Asn Val Tyr Gly Ile Glu
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile
20

ES 2 731 266 T3

<210> 22
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5

<400> 22

Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Arg Glu Gly Tyr Asn Val Tyr Gly Thr Glu
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile
20

10

<210> 23
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15

<400> 23

His Thr Gly Thr Ala Ile Arg Gln Ser Ser Gly Leu Ala Val Ile Ala
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro
20

20

<210> 24
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25

<400> 24

Ser Phe Thr Ser Ile Leu Thr Cys His Gln Arg Arg Thr Gln Arg Lys
1 5 10 15

Glu Thr Val Ala
20

30

<210> 25
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35

<400> 25

Glu Val Ile Asn Met His Thr Phe Asn Asp Arg Arg Leu Pro Gly Lys
1 5 10 15

Glu Thr Met Ala
20

40

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

ES 2 731 266 T3

<400> 26

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro
1 5 10

5 <210> 27
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 27

Ser Thr Val Val
1

15 <210> 28
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20 <400> 28

His Arg Glu Ser
1

25 <210> 29
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Glu Ser Glu Val
1

30

<210> 30
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 30

Thr Cys Glu Ser
1

40

<210> 31
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

45

<400> 31

Gly Thr Ser Ile
1

50 <210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 32

Ala Thr Gly Leu
1

5 <210> 33
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Ser Val Lys Ile
1

10

15 <210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Ser Asp Leu Pro
1

20

25 <210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Glu Thr Val Ala
1

30 <210> 36
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

35 <400> 36

Glu Thr Met Ala
1

40 <210> 37
<211> 20
<212> PRT
<213> virus de la inmunodeficiencia humana

45 <400> 37

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Lys Leu Ser Ser Ile
1 5 10 15

Glu Thr Asp Val
20

50 <210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

ES 2 731 266 T3

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

5 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> Glu, Asp, Asn o Gln

10 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2) .. (2)
<223> Ser o Thr

15 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)
<223> Asp, Glu, Gln o Asn

20 <220>
<221> MOD_RES
<222> (4) .. (4)
<223> Val o Leu

25 <400> 38

Xaa Xaa Xaa Xaa
1

30 <210> 39
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Glu Thr Asp Val
1

35 <210> 40
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Glu Thr Glu Val
1

45 <210> 41
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 41

Asp Thr Asp Val
1

55 <210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

60 <400> 42

ES 2 731 266 T3

Asp Thr Glu Val
1

5 <210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10 <400> 43

Lys Leu Ser Ser Ile Glu Thr Asp Val
1 5

15 <210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético
<400> 44

Gly Ser Ser Ser Ser
1 5

25 <210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético
<400> 45

Thr Gly Glu Lys Pro
1 5

35 <210> 46
<211> 8
<212> PRT
40 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético
45 <400> 46

Gly Gly Arg Arg Gly Gly Gly Ser
1 5

50 <210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético
<400> 47

ES 2 731 266 T3

Leu Arg Gln Arg Asp Gly Glu Arg Pro
 1 5

5 <210> 48
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> virus de la inmunodeficiencia humana

10 <400> 48

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Gln
 1 5 10

15 <210> 49
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido distinto de Tyr o no presente
 25 <400> 49

Xaa Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10

30 <210> 50
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente
 <400> 50

Xaa Gly Lys Lys Lys Lys Lys Gln Lys Lys Lys
 1 5 10

45 <210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

ES 2 731 266 T3

<400> 51

Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

5

<210> 52
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

10

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

15

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

20

<400> 52

Xaa Gly Ala Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

25

<210> 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

35

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

40

<400> 53

Xaa Ala Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

45

<210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50

<220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

55

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

60

<400> 54

Xaa Gly Arg Lys Ala Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

65

<210> 55

ES 2 731 266 T3

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 55

15 Xaa Arg Lys Ala Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10

<210> 56
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 56

Xaa Gly Arg Lys Lys Ala Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10

35 <210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 57

Xaa Arg Lys Lys Ala Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10

50 <210> 58
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES

60

ES 2 731 266 T3

<222> (1) .. (1)

<223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 58

5

Xaa Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Ala Arg Arg
1 5 10

<210> 59

<211> 10

10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

15

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1) .. (1)

<223> Cualquier aminoácido o no presente

20

<400> 59

Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Ala Arg Arg
1 5 10

<210> 60

25

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

30

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1) .. (1)

35

<223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 60

Xaa Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Ala Arg
1 5 10

40

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

45

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>

50

<221> MOD_RES

<222> (1) .. (1)

<223> Cualquier aminoácido o no presente

55

<400> 61

Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Ala Arg
1 5 10

<210> 62

<211> 12

ES 2 731 266 T3

<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)

10 <223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 62

Xaa Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg
1 5 10

15 <210> 63
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

25 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> Cualquier aminoácido o no presente

30 <400> 63

Xaa Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg
1 5 10

35 <210> 64
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

45 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 64

Xaa Arg Arg Arg Ala Arg Arg Arg Ala Arg Arg
1 5 10

50 <210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

5 <400> 65

Xaa Arg Arg Arg Pro Arg Arg Arg Pro Arg Arg
1 5 10

10 <210> 66
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 66

Xaa Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg
1 5

25 <210> 67
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1) .. (1)
 <223> Cualquier aminoácido o no presente

<400> 67

40 **Xaa Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg**
1 5

45 <210> 68
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

50 <220>
 <223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<400> 68

Gly Leu Gly Phe
1

55 <210> 69
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 731 266 T3

<220>

<223> Descripción de la secuencia artificial: péptido sintético

<220>

5 <221> MOD_RES

<222> (1) .. (1)

<223> Cualquier aminoácido o no presente

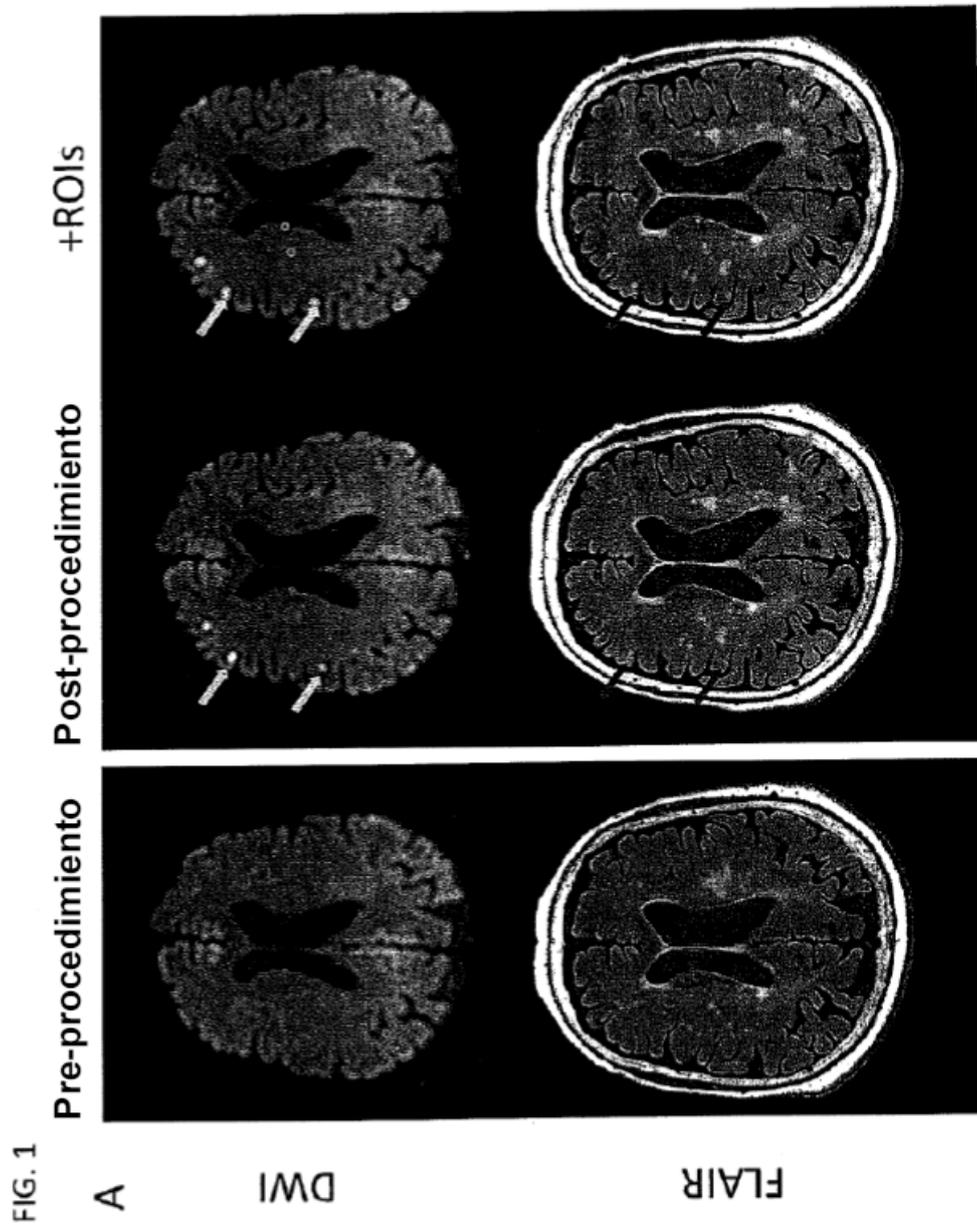
<400> 69

10

Xaa Phe Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un agente que inhibe la unión de PSD-95 a una subunidad NMDAR2 para usar en el tratamiento del efecto dañino de la hemorragia subaracnoidea,
- 5 en donde el agente es un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste o que comprende X₁[T/S]X₂V (SEC ID NO: 7), en donde T y S son aminoácidos alternativos, X₁ se selecciona entre E, Q, y A, X₂ se selecciona entre A, Q, D, N, (N-metil)-A, (N-metil)-Q, (N-metil)-D, y (N-metil)-N; o
- en donde el agente es un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende [E/D/N/Q]-[S/T]-[D/E/Q/N]-[V/L] (SEQ ID NO: 38) en el extremo C, en donde E, D, N y Q son aminoácidos alternativos, S y T son aminoácidos alternativos, y V y L son aminoácidos alternativos; y
- 10 en el que el péptido está unido a un péptido de internalización o está lipidado, facilitando así el paso del péptido a través de una membrana celular o la barrera hematoencefálica.
2. El agente para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la hemorragia subaracnoidea resulta de un trauma físico.
3. El agente para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la hemorragia subaracnoidea se produce espontáneamente.
- 15 4. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la hemorragia subaracnoidea se debe a un aneurisma roto.
5. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la hemorragia subaracnoidea se debe a una malformación arteriovenosa.
- 20 6. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el tratamiento con el agente inhibe el desarrollo de déficits neurocognitivos en el sujeto o, en el que el tratamiento con el agente inhibe el desarrollo de infartos detectables por MRI.
7. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el sujeto recibe cirugía endovascular para reparar un vaso sanguíneo roto que causa una hemorragia subaracnoidea.
- 25 8. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el tratamiento con el agente también reduce el dolor resultante de la cirugía endovascular, opcionalmente a lo largo de una vía atravesada por un endoscopio usado en la realización de la cirugía endoscópica.
9. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el agente se administra el día 4 después de la ruptura que causa la hemorragia subaracnoidea.
- 30 10. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación precedente, en el que el agente se administra en múltiples ocasiones en los doce días posteriores a la ruptura que causa la hemorragia subaracnoidea y/o el agente se administra dos veces al día durante al menos dos días o una vez al día durante al menos tres días y/o la dosis del agente es 1-3 mg/kg.
- 35 11. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el agente es un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste o que comprende YGRKKRRQRRRKLSSIESDV (SEC ID NO: 6) o YGRKKRRQRRRKLSSIETDV (SEC ID NO: 37).
12. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente en el que el agente es un péptido miristoilado, opcionalmente en el que el péptido tiene una secuencia de aminoácidos que consiste o que comprende KLSSIESDV o KLSSIETDV.
- 40 13. El agente para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que el efecto dañino se reduce en una población administrada en comparación con una población de control que no recibe el agente.
14. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el efecto dañino que se reduce es la muerte celular neuronal o un déficit cognitivo.



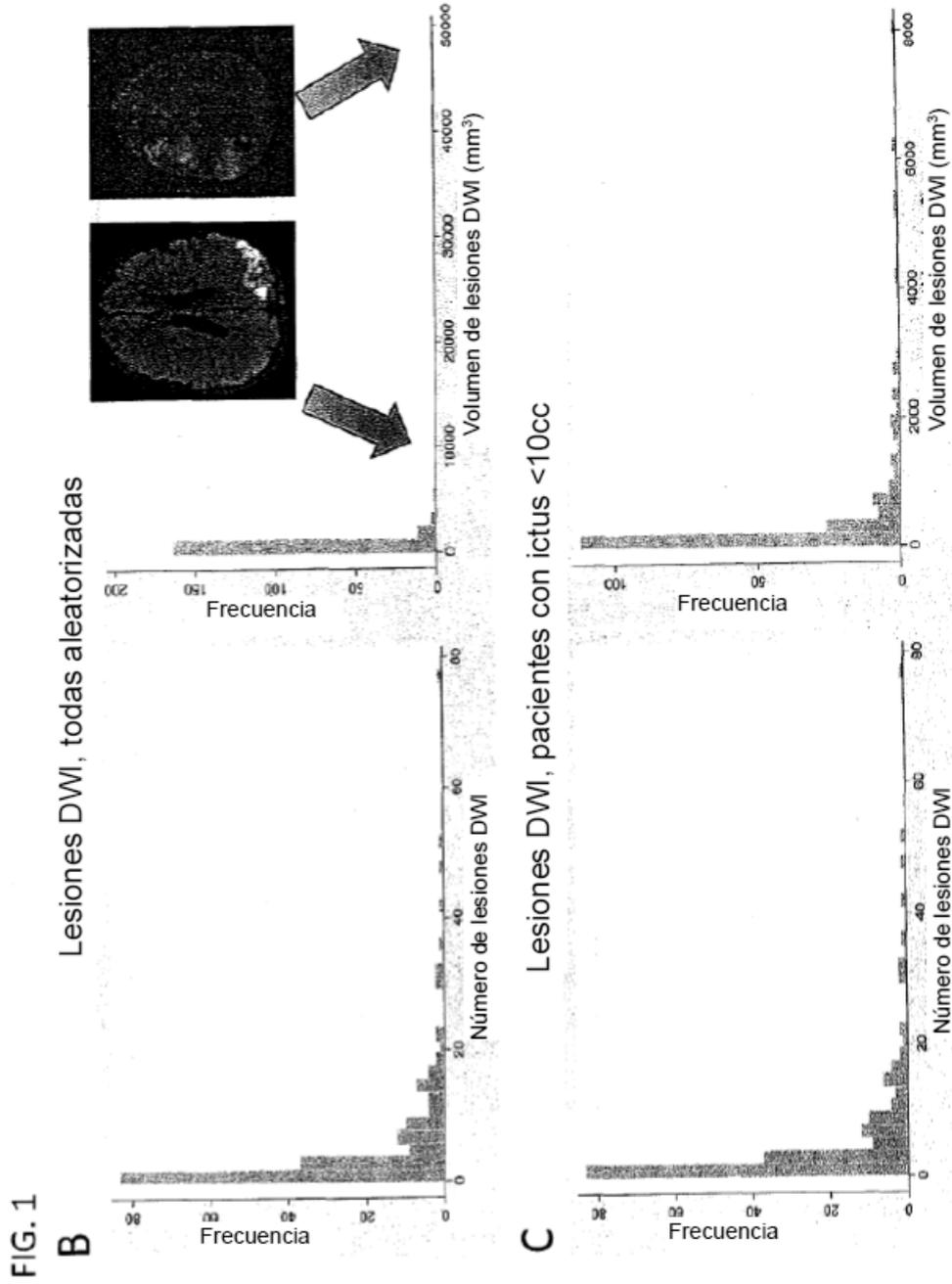
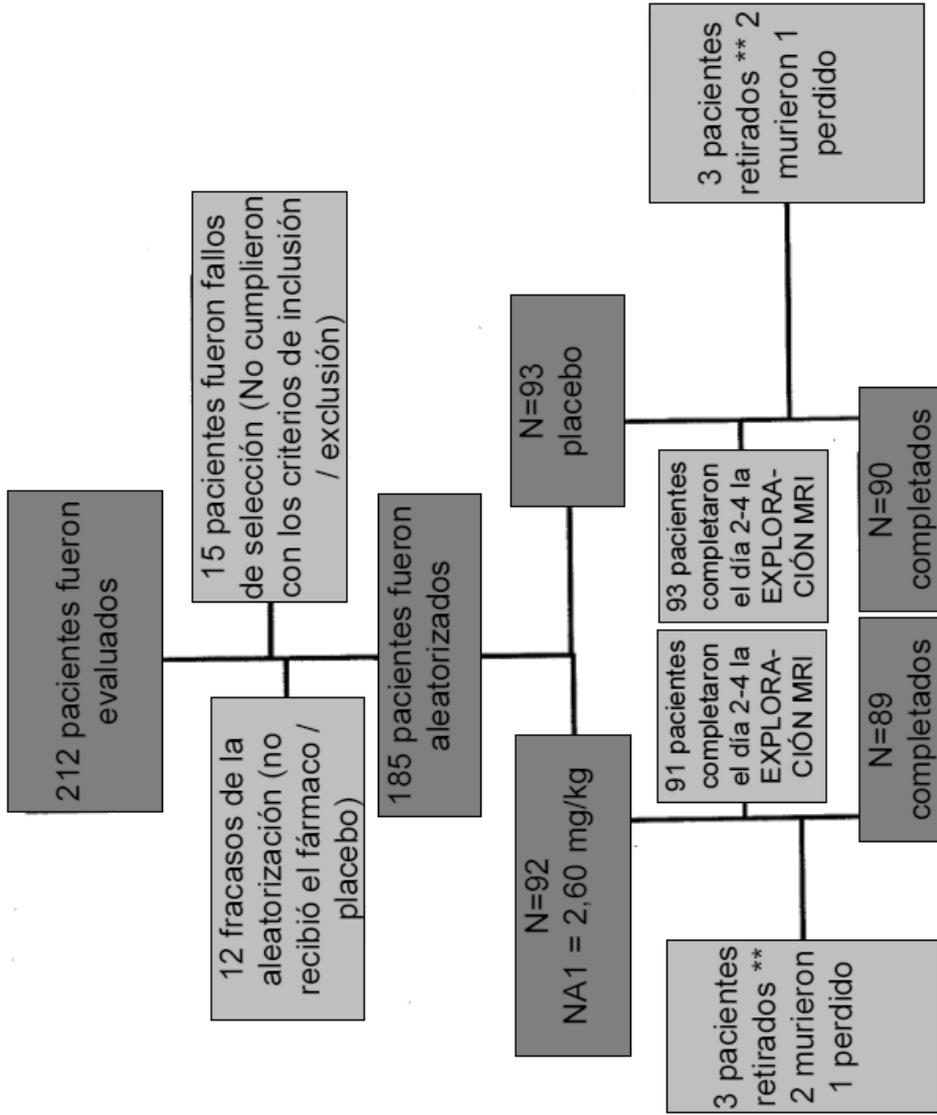


FIG. 2



* Conjunto completo de MRI (pre y post-enrollado disponible para 2 de los 3, e incluido en el análisis de MRI).
 1 paciente murió antes del día 2-4 MRI pudo realizarse.

** Conjunto completo de MRI (pre y post-enrollado disponible para los 3, e incluido en el análisis de MRI)