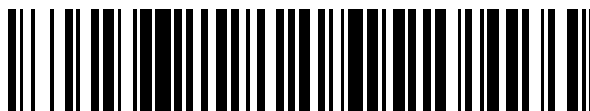


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 280**

51 Int. Cl.:

A61K 33/06 (2006.01)
A61K 33/14 (2006.01)
A61K 33/26 (2006.01)
A61K 33/32 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 1/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.06.2007** **PCT/US2007/014802**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.01.2008** **WO08013630**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2007** **E 07835882 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2019** **EP 2043664**

54 Título: **Producto farmacéutico de aluminosilicato de calcio**

30 Prioridad:

27.06.2006 US 816827 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.11.2019

73 Titular/es:

TEXAS ENTEROSORBENTS INC. (100.0%)
1303 Pecan Street P.O. Box 1867
Bastrop, TX 78602, US

72 Inventor/es:

CARPENTER, ROBERT, HUNT;
HAHN, KEVIN, AUGUST;
KING, GLEN, KENNETH y
ENDICOTT, MELISSA, M.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 732 280 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

Producto farmacéutico de aluminosilicato de calcio

Antecedentes

La presente invención está generalmente relacionada con composiciones basadas en arcilla. Tales composiciones se pueden usar en procedimientos para prevenir y tratar la diarrea. Más específicamente, la invención se refiere a una composición oral para su uso como terapia de apoyo para tratar la diarrea, posiblemente asociada con el tratamiento de un agente quimioterapéutico en un sujeto. Otras causas posibles son la radiación, enfermedad crónica, enfermedad infecciosa, proteínas inflamatorias, por ejemplo, el TNF- α y el tratamiento con otros fármacos que causan diarrea en el sujeto. La composición comprende una cantidad eficaz de un aluminosilicato de calcio antidiarreico aislado ("CASAD"), en la que el CASAD aislado está sustancialmente libre de contaminación con dioxina T4 y metales pesados tóxicos. El CASAD aislado es capaz de unirse a un agente quimioterapéutico, así como a proteínas inflamatorias y metabolitos de fármacos. Las composiciones pueden administrarse en cualquier forma adecuada, tal como forma de comprimido, polvo o suspensión, y pueden usarse como parte de cualquier tratamiento adecuado, incluido el tratamiento oral. Adicionalmente, la arcilla de la presente invención no interfiere con la utilización de los sistemas tratados de vitaminas y micronutrientes importantes que se encuentran naturalmente en la dieta. El CASAD aislado de la presente invención puede unirse directamente a agentes quimioterapéuticos con alta afinidad y capacidad en el tracto gastrointestinal, dando como resultado una notable reducción en la exposición intestinal.

DIARREA

Causas. Las enfermedades diarreicas representan una de las cinco principales causas de muerte en todo el mundo y son una de las principales causas de muerte infantil. La morbilidad y la mortalidad son significativas incluso en los Estados Unidos, en los que la diarrea se considera una "enfermedad molesta" en un individuo normalmente sano. La diarrea se puede definir como el peso de las heces en exceso de 200 gramos por día. Sin embargo, esta definición tiene poco valor clínico, ya que recoger y pesar las heces no es práctico ni necesario, excepto en un entorno de investigación clínica. Una buena definición de trabajo es tres o más deposiciones sueltas o acuosas por día o una disminución definitiva en la consistencia y el aumento de la frecuencia según el valor inicial individual. Cuando la diarrea dura 14 días puede considerarse persistente; el término diarrea crónica generalmente se refiere a la diarrea que dura por lo menos un mes. La figura 1 muestra un diagrama de flujo de cómo se evalúa la diarrea aguda.

Como regla general, las causas principales de la diarrea dependen del estado socioeconómico de la población. En los países en desarrollo, la diarrea crónica con frecuencia es causada por infecciones crónicas bacterianas, micobacterianas y parasitarias, aunque también son comunes los trastornos funcionales, la malabsorción, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa y la enfermedad inflamatoria intestinal. En los países desarrollados, las causas comunes son el síndrome del intestino irritable (SII), enfermedad intestinal inflamatoria, síndromes de malabsorción, infecciones crónicas (especialmente en pacientes inmunocomprometidos) y pacientes sometidos a quimioterapia o radioterapia.

La diarrea refleja el aumento del contenido de agua en las heces, ya sea debido a una absorción deficiente del agua y/o la secreción activa de agua por el intestino. En la diarrea infecciosa grave, la cantidad de deposiciones puede llegar a 20 o más por día, con defecación cada 20 o 30 minutos. En esta situación, el volumen diario total de heces puede exceder los dos litros, con el consiguiente reducción de volumen e hipotasemia. La mayoría de los pacientes con diarrea aguda tienen de tres a siete movimientos por día con un volumen total de heces de menos de un litro por día.

La carga general de la diarrea aguda en los Estados Unidos y otros países desarrollados no ha sido bien estudiada. Por lo tanto, el impacto económico de la diarrea no ha sido bien cuantificado, especialmente cuando se consideran los costos sociales. Una estimación sugiere que la diarrea crónica cuesta más de 350.000.000 de dólares por año solo por pérdida de trabajo (Everhart, JE (Ed). Digestive Disease in the United States: Epidemiology and impact. NIH Publ 94-1447. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 1994.) Adicionalmente, se ha demostrado que la diarrea crónica disminuye la calidad de vida. Sin embargo, no se ha establecido una evaluación precisa del grado en que esto sucede. Una explicación es que aún no se ha desarrollado un instrumento de calidad de vida específico de la enfermedad bien validado. Además, ningún estudio ha intentado medir la calidad de vida en grandes grupos de pacientes. La diarrea crónica fue un factor predictivo independiente de disminución de la calidad de vida en pacientes infectados por el VIH.

Las causas infecciosas o no infecciosas pueden ser responsables de la diarrea aguda y, en pacientes seleccionados, ambas pueden producirse simultáneamente. Las causas no infecciosas de la diarrea incluyen fármacos, alergias alimentarias, enfermedades gastrointestinales primarias, tales como la enfermedad inflamatoria intestinal, y otros estados de enfermedad tales como la tirotoxicosis y el síndrome carcinoide. Una variedad de enfermedades infecciosas causan diarrea aguda. La figura 2 muestra agentes que comúnmente causan enfermedades gastrointestinales agudas.

En general, la mayoría de los casos de diarrea aguda son autolimitados, ya sea que la causa sea una infección, incluidos virus o sean no infecciosas. Si bien la diarrea aguda se produce en la mayoría de los casos debido a enfermedades transmitidas por los alimentos, hay otras causas de diarrea aguda inducida por brotes por agua asociados con el agua recreativa (por ejemplo, piscinas o piscinas para niños). Se ha estimado que aproximadamente

la mitad de estos brotes implican gastroenteritis. Los brotes se asociaron más frecuentemente con *Cryptosporidium* (50 por ciento) en fuentes de agua tratadas y con *Escherichia coli* toxigénica (25 por ciento) y norovirus (25 por ciento) en fuentes de agua dulce. La frecuencia de los patógenos bacterianos más comunes fue: *Campylobacter* - 2,33 por ciento (42 por ciento de los aislados); *Salmonella* - 1,82 por ciento (32 por ciento de los aislados); *Shigella* - 1,06 por ciento (19 por ciento de los aislados); *E. coli* O157:H7, la principal cepa enterohemorrágica: 0,39 por ciento en general (7 por ciento de los aislados) pero mucho más común en aislados con sangre visible (7,8 frente a 0,14 por ciento en muestras sin sangre visible). *Yersinia*, *Listeria* y *Vibrio* representaron cada una menos del 1 por ciento de los casos. Una limitación importante de estos datos es el posible sesgo de selección, ya que solo una pequeña proporción de pacientes buscan atención médica y son investigados. Adicionalmente, hay al menos cuatro agentes víricos que son causas médicamente importantes de gastroenteritis vírica: norovirus (también conocido como virus tipo Norwalk), rotavirus, adenovirus entéricos y astrovirus.

Los patógenos parasitarios también son agentes etiológicos de la diarrea en los países desarrollados. Algunos patógenos parásitos incluyen ciclospora, giardia lamblia, *cryptosporidium* y entamoeba histolytica. Un experto en la materia reconocerá que las poblaciones seleccionadas tienen un mayor riesgo de infección con patógenos entéricos. Por ejemplo, la diarrea es común en un hospedador inmunocomprometido, y las frecuencias pueden ser diferentes en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos. Las personas con enfermedades inmunocomprometidas tales como el linfoma, el trasplante de médula ósea o la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pueden correr un riesgo particular. Se ha indicado diarrea en hasta el 60 por ciento de los pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) de países desarrollados y en hasta el 95 por ciento de los pacientes con SIDA del mundo en desarrollo. Antes del SIDA, los patógenos más comunes incluían a los organismos parásitos *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli*, *Cyclospora* y *Microsporidia*, los patógenos bacterianos *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter*, especies de *Shigella* y complejo *Mycobacterium avium*, y los patógenos víricos, citomegalovirus, herpes simple y adenovirus.

La frecuencia con la que estos organismos se han identificado como causas de enfermedad diarreica en pacientes con SIDA ha ido disminuyendo, probablemente en relación con el uso de terapia antirretroviral altamente activa (TARGA), aunque la enfermedad diarreica sigue siendo un síndrome común en estos pacientes.

La diarrea nosocomial se define como la nueva aparición de diarrea al menos 72 horas después del ingreso hospitalario. Los estudios exhaustivos han sido limitados, pero la diarrea nosocomial parece aumentar la duración de la estancia en adultos hospitalizados en un promedio de más de una semana y en más de un mes en los ancianos. La incidencia y la tasa de mortalidad son mayores en pacientes mayores de 70 años.

C. difficile es una bacteria formadora de esporas que puede formar parte de la flora intestinal normal hasta en un 50% de los niños menores de dos años y con menos frecuencia en individuos mayores de dos años. *C. difficile* es la causa principal de colitis pseudomembranosa y diarrea asociada a antibióticos. La enfermedad asociada a *C. difficile* se produce cuando la flora intestinal normal se altera, lo que permite que *C. difficile* florezca en el tracto intestinal y produzca una toxina que causa una diarrea acuosa. Los enemas repetidos, la inserción prolongada de la sonda nasogástrica y la cirugía del tracto gastrointestinal aumentan el riesgo de que una persona desarrolle la enfermedad. El uso excesivo de antibióticos, especialmente penicilina (ampicilina), clindamicina y cefalosporinas también puede alterar la flora intestinal normal y aumentar el riesgo de desarrollar diarrea por *C. difficile*.

Los casos leves de enfermedad por *C. difficile* se caracterizan por heces acuosas frecuentes con olor desagradable. Los síntomas más graves, indicativos de colitis pseudomembranosa, incluyen diarrea que contiene sangre y mucosidad y retortijones abdominales. También puede producirse un ritmo cardíaco anormal.

La diarrea inducida por quimioterapia (CID por sus siglas en inglés) se produce en miles de pacientes anualmente. La CID se describe comúnmente con fluoropirimidinas (particularmente 5-fluorouracilo [5-FU]), irinotecán, metotrexato y cisplatino. Sin embargo, un experto en la materia reconocerá que otros agentes de quimioterapia pueden causar diarrea. Con frecuencia, la diarrea es limitante de la dosis y es una fuente de toxicidad importante de los tratamientos que contienen fluoropirimidina, irinotecán y/u otros agentes quimioterapéuticos.

Por ejemplo, tanto el 5-FU como el irinotecán causan daño agudo en la mucosa intestinal, lo que lleva a la pérdida del epitelio. A pesar de no querer limitarse a la teoría, el 5-FU causa la detención mitótica de las células de la cripta, lo que lleva a un aumento en la proporción de células de la cripta secretora inmaduras a enterocitos vellosos maduros. El aumento del volumen de líquido que sale del intestino delgado supera la capacidad de absorción del colon, lo que lleva a una diarrea clínicamente significativa.

Con compuestos tales como irinotecán, la diarrea de inicio temprano se produce durante, o dentro de varias horas, de la infusión del fármaco en el 45 al 50 por ciento de los pacientes y está mediada colinérgicamente. Se cree que este efecto se debe a la similitud estructural del fármaco con la acetilcolina. En cambio, la diarrea tardía asociada a irinotecán no está mediada colinérgicamente. La fisiopatología de la diarrea tardía parece ser multifactorial con contribuciones de dismotilidad y factores secretores, así como un efecto tóxico directo en la mucosa intestinal.

El irinotecán produce cambios en la mucosa asociados con la apoptosis, tales como la vacuolización epitelial y la hiperplasia de las células caliciformes, estimulante de hipersecreción de mucina. Por otra parte, estudios

experimentales han demostrado que la inhibición de la actividad de la beta-glucuronidasa intestinal con antibióticos puede proteger contra la lesión de la mucosa y mejorar la diarrea.

El uso de antraciclinas (doxorrubicina, que tiene el nombre comercial Adriamycin®) puede estar asociado con problemas gastrointestinales. Las náuseas y vómitos graves se producen con frecuencia y pueden ser graves. Esto puede aliviarse mediante terapia antiemética. La mucositis (estomatitis y esofagitis) puede producirse de 5 a 10 días después de la administración. El efecto puede ser grave, lo que lleva a la ulceración, y representa un lugar de origen para infecciones graves. La pauta de dosificación que consiste en la administración de doxorrubicina en tres días sucesivos da como resultado una mayor incidencia y gravedad de la mucositis. Pueden producirse ulceraciones y necrosis del colon, especialmente el ciego, lo que lleva a sangrado o infecciones graves que pueden ser fatales. Esta reacción se ha indicado en pacientes con leucemia no linfocítica aguda tratados con un ciclo de 3 días de doxorrubicina combinada con citarabina. También se han indicado anorexia y diarrea.

El cisplatino se ha utilizado para el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello, de mama, gástrico, de pulmón, esofágico, de cuello de útero, de próstata y de pulmón microcítico; linfoma de Hodgkin y no de Hodgkin; neuroblastoma; sarcomas, mieloma, melanoma, mesotelioma y osteosarcoma. La reacción adversa al cisplatino incluye náuseas gastrointestinales, vómitos y diarrea.

La CID puede ser debilitante y, en algunos casos, potencialmente mortal. Los hallazgos en tales pacientes incluyen reducción de volumen, insuficiencia renal y trastornos electrolíticos como hipopotasemia, acidosis metabólica y, dependiendo de la ingesta de agua, hiponatremia (ingesta de agua que no puede excretarse debido al estímulo hipovolémico para la liberación de hormona antidiurética), o hipernatremia (ingesta de agua insuficiente para reemplazar las pérdidas). La CID también puede llevar a retrasos en el tratamiento, a un aumento en el costo de la atención, a una calidad de vida reducida y a un menor cumplimiento de las pautas de tratamiento.

La radioterapia (RT, por sus siglas en inglés) es una forma común de tratamiento para pacientes con cánceres ginecológicos, genitourinarios, gastrointestinales y otros. La toxicidad intestinal, que se manifiesta principalmente por diarrea inducida por radiación (RID), es la forma más común de toxicidad aguda para estos pacientes. La radioterapia se puede usar sola o combinada con quimioterapia para un doble golpe al tracto gastrointestinal. La diarrea inducida por radiación (RID, por sus siglas en inglés) se produce en aproximadamente 160.000 pacientes por año. Sin querer quedar ligado a teoría alguna, la RID está probablemente causada por la inflamación del intestino a través de la liberación de proteínas inflamatorias o citocinas.

La Figura 3 muestra las principales causas de diarrea crónica clasificadas por las características típicas de las heces.

Tratamiento de la diarrea. El tratamiento de los pacientes con diarrea comienza con medidas generales como la hidratación y la alteración de la dieta. La terapia con antibióticos generalmente no es necesaria en la mayoría de los casos, ya que la enfermedad suele ser autolimitada. Sin embargo, la terapia antibiótica empírica y específica puede considerarse en ciertas situaciones.

La terapia más común en las enfermedades diarreicas es la hidratación, preferentemente por vía oral con soluciones que contienen agua, sal y azúcar. La terapia de rehidratación oral está muy poco utilizada en los Estados Unidos, en los que los proveedores de atención médica tienden a abusar de la hidratación intravenosa. Las soluciones de rehidratación oral se desarrollaron después de darse cuenta de que, en muchas enfermedades diarreicas del intestino delgado, la absorción intestinal de glucosa a través del transporte conjunto de sodio-glucosa permanece intacta. Por lo tanto, en la enfermedad diarreica causada por cualquier organismo que dependa de procesos secretorios del intestino delgado, el intestino sigue siendo capaz de absorber agua si la glucosa y la sal también están presentes para ayudar en el transporte de agua desde la luz intestinal.

La composición de la solución de rehidratación oral de la Organización Mundial de la Salud (por litro de agua) (OMS-ORS) consiste en: aproximadamente 3,5 g de cloruro de sodio; aproximadamente 2,9 g de citrato trisódico o 2,5 g de bicarbonato de sodio; aproximadamente 1,5 g de cloruro de potasio y aproximadamente 20 g de glucosa o 40 g de sacarosa. La OMS-ORS está disponible del fabricante (Jianas Brothers, St. Louis, Mo). Rehydralyte (Ross Laboratories, Columbus, Ohio) está disponible sin receta, pero contiene 20 por ciento menos de sodio, por lo que se necesitan volúmenes más grandes para la rehidratación. Se puede hacer una solución similar agregando media cucharadita de sal, media cucharadita de bicarbonato de sodio y cuatro cucharadas de azúcar a un litro de agua. Ceralyte también está disponible sin receta y es una solución de rehidratación oral basada en arroz.

El subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol), 30 ml o dos comprimidos cada 30 minutos para ocho dosis, puede ser útil en algunos pacientes. Parece ser más eficaz en aquellos en quienes el vómito es una característica prominente de su enfermedad. El subsalicilato de bismuto tiene acciones antiinflamatorias y antibacterianas, pero no se ha evaluado ampliamente para el tratamiento de CID.

Acetorfan es un inhibidor de la encefalinasa que bloquea la secreción mediada por AMP cíclica epitelial. Tiene actividad moderada en pacientes con diarrea inducida por irinotecán. La budesonida es un glucocorticoide que tiene una alta afinidad por el receptor de glucocorticoides pero una actividad sistémica baja debido al metabolismo extenso de primer paso en el hígado. La budesonida es eficaz para inducir la remisión en la enfermedad de Crohn ileal o ileocecal.

Los probióticos, incluidas las bacterias que ayudan a recolonizar el intestino con flora no patógena y acortar la diarrea, también se pueden utilizar como terapia alternativa. Los probióticos han demostrado ser útiles en el tratamiento de diarrea del viajero por *C. difficile* y la diarrea aguda no específica en niños.

- 5 El tratamiento de la diarrea en pacientes inmunocomprometidos (por ejemplo, una infección temprana por VIH) no difiere del utilizado en hospedadores no inmunocomprometidos. Los pacientes que están más inmunocomprometidos (recuento absoluto de CD4 inferior a 200/ μ l) deben tratarse con terapia empírica antimicrobiana con una fluoroquinolona para la enteritis bacteriana.

- 10 El tratamiento de la CID o RID incluye intervenciones no farmacológicas y farmacológicas para disminuir la diarrea y una evaluación en serie cuidadosa para descartar una reducción significativa del volumen o comorbilidades que requerirían una intervención específica o una hospitalización. Las medidas iniciales no farmacológicas incluyen evitar los alimentos que agravarían la diarrea y la rehidratación oral agresiva con líquidos que contienen agua, sal y azúcar (ya que la glucosa promueve la absorción intestinal de sodio) como caldo o GATORADE®. Estos principios son similares a los utilizados para la diarrea infecciosa.

- 15 La loperamida, un opiáceo, es un pilar de la terapia para la CID. La loperamida (Imodium) y el difenoxilato (Lomotil) son los más utilizados y ambos están aprobados por la FDA para esta indicación. Ambos dan un rápido inicio de la acción. La loperamida parece ser más eficaz y se recomendó en las pautas de tratamiento. La dosis habitual de loperamida es una dosis inicial de 4 mg seguida de 2 mg cada cuatro horas o después de cada deposición formada. Esta pauta es solo moderadamente eficaz en la CID y es a menudo necesaria una pauta más agresiva (4 mg inicialmente, después 2 mg cada dos horas o 4 mg cada cuatro horas hasta que no haya diarrea durante 12 horas),
20 especialmente para la diarrea inducida por irinotecán.

En otro informe, se administró irinotecán semanalmente a 125 mg/m² durante cuatro semanas con dos semanas de descanso. La prevalencia de diarrea de grado 3/4 disminuyó del 56 al 9 por ciento con el cumplimiento estricto de la pauta de loperamida a dosis altas.

- 25 Octreótido es un análogo de somatostatina sintético de acción prolongada que se cree que actúa a través de varios mecanismos: disminución de la secreción de varias hormonas, tal como el péptido intestinal vasoactivo (VIP); prolongación del tiempo de tránsito intestinal; y reducción de la secreción y aumento de la absorción de líquido y electrolitos. La octreotida está aprobada por la Food and Drug Administration para el tratamiento de la diarrea relacionada con tumores secretores de VIP y síntomas debidos al síndrome carcinoide.

- 30 La octreotrida también es beneficiosa en pacientes con CID a partir de fluoropirimidinas e irinotecán, aunque no se ha determinado la dosis óptima. Aunque un ensayo aleatorizado en 41 pacientes tratados con 5-FU mostró que la octreotrida fue más eficaz que la loperamida en dosis habitual (90 frente al 15 por ciento de resolución de diarrea al tercer día), la octreotrida generalmente se reserva como una terapia de segunda línea para los pacientes que sí no responden a la dosis alta de loperamida debido a su alto costo y la eficacia general de la loperamida.

- 35 La dosis inicial recomendada de octreotrida es de 100 a 150 μ g por vía subcutánea, tres veces al día. Sin embargo, varios informes sugieren que las dosis más altas (500 μ g) pueden ser más eficaces. Los datos disponibles apoyan la titulación ascendente de la dosis (hasta 2500 μ g tres veces al día) en pacientes que no responden. Los efectos secundarios de octreotrida son generalmente leves, incluyendo hinchazón, retortijones, flatulencia y malabsorción de grasa. Las reacciones similares a la hipersensibilidad y la hipoglucemia pueden producirse en dosis más altas.

- 40 Se han utilizado otros agentes antidiarreicos con pacientes que tienen CID, pero no son comunes. Por ejemplo, los fármacos anticolinérgicos no se usan comúnmente debido a los efectos secundarios. Sin embargo, pueden ser útiles cuando la diarrea se asocia con retortijones significativos. Los absorbentes (p. ej., pectina, hidróxido de aluminio) y los adsorbentes (p. ej., caolín, carbón vegetal) se unen a sustancias osmóticamente activas y pueden ser una terapia adyuvante eficaz en pacientes con diarrea leve. La tintura desodorizada de opio (DTO, por sus siglas en inglés), es un agente antidiarreico ampliamente utilizado, a pesar de la ausencia de informes de la literatura que respalden la eficacia para el tratamiento de la diarrea inducida por quimioterapia. DTO contiene el equivalente de 10 mg/ml de morfina. La
45 dosis recomendada es de 10 a 15 gotas en agua cada 3 a 4 horas. Una alternativa es la tintura paregórica y alcanforada de opio, una preparación menos concentrada que contiene el equivalente a 0,4 mg/ml de morfina. La dosis recomendada es de 5 ml (una cucharadita) en agua cada 3 a 4 horas.

- 50 Si bien existe un riesgo bien conocido de diarrea con ciertos tratamientos de quimioterapia (p. ej., irinotecán, 5-FU con dosis altas de leucovorina administrada como un bolo de cinco días una vez al mes), pocos estudios han investigado el posible beneficio de la terapia antidiarreica profiláctica.

- 55 El carbón activado puede desempeñar un papel en la prevención de la diarrea inducida por irinotecán. En un estudio, 28 pacientes recibieron carbón activado durante el primer ciclo de tratamiento, pero no en el segundo. La incidencia de diarrea de grado 3 o 4 aumentó de 7 a 25 por ciento entre los ciclos 1 y 2, y más pacientes necesitaron 10 o más comprimidos de loperamida sin profilaxis. El carbón activado también puede absorber nutrientes beneficiosos, lo cual es una clara desventaja de su uso.

Actualmente, el tratamiento profiláctico antidiarreico no es un enfoque habitual para ningún tratamiento. El carbón

activado por vía oral puede considerarse en pacientes tratados con irinotecán.

LA ARCILLA COMO TRATAMIENTO PARA LA DIARREA.

La composición a base de arcilla de la presente invención, también denominada CASAD, se puede usar para tratar y prevenir la inflamación inducida por sustancias químicas, cocarcinogénesis viral y citocinas y/o para tratar o prevenir la diarrea. Sin embargo, un experto en la materia reconocerá que hay muchos tipos diferentes de arcilla, y la arcilla tiene una larga historia en la historia médica humana.

Arcilla es un término genérico para un agregado de partículas de silicato hidratado. En general, la arcilla consiste en una variedad de minerales de filosilicato generalmente ricos en óxidos de silicio y aluminio e hidróxidos. Las arcillas se distinguen de otras partículas pequeñas presentes en los suelos, tal como el limo, por su pequeño tamaño, forma de copos o capas, afinidad por el agua y alto índice de plasticidad. Los grupos principales de arcillas de filosilicatos incluyen caolinita, montmorillonita esmectita, illita y clorita.

La arcilla de montmorillonita se forma típicamente como un producto de la intemperie de las rocas con bajo contenido de sílice. La montmorillonita es un miembro del grupo de la esmectita y un componente importante de la bentonita.

Varve (o arcilla varvada) es arcilla con capas anuales visibles, formada por diferencias estacionales en la erosión y el contenido orgánico. Este tipo de depósito es común en los antiguos lagos glaciares de la edad del hielo.

La arcilla rápida es un tipo único de arcilla marina, originaria de los terrenos glaciares de Noruega, Canadá y Suecia. Es una arcilla altamente sensible, propensa a la licuefacción que ha estado involucrada en varios derrumbes mortales.

Otros nombres para la arcilla incluyen: HSCAS, Akipula, silicato de aluminio, silicatos de aluminio anhidro, askipula, montmorillonita beidellítica, benditos, minerales bioeléctricos, cipula, tiza, tierra de arcilla, polvo de arcilla, pastillas para chupar de arcilla, productos de suspensión de arcilla, comprimidos de arcilla, minerales coloidales, minerales traza coloidales, harina fósil, esquisto húmico, arcilla curativa India, caolín, kipula, comida de montaña, pañito del señor, minerales líquidos derivados de plantas, tierra santa, Terra sigillata, arcilla blanca, barro blanco, etc.

Hoy en día, la arcilla se utiliza en muchos procesos industriales para hacer ladrillos, ollas, objetos de arte, vajillas, cuerpos de bujías, producción de cemento y filtros químicos. Según el folclore, comer arcilla tiene muchos fines medicinales, pero la literatura científica indica que ingerir ciertas arcillas puede ser perjudicial para el consumidor. La naturaleza química de las arcillas puede permitirles absorber una variedad de agentes potencialmente perjudiciales. Por ejemplo, los tarros de barro que contienen caramelos (caramelos Tamarindo de la marca Jarritos) han sido retiradas del mercado en los Estados Unidos por la Food and Drug Administration debido a los altos niveles de plomo en los caramelos que derivaron de los tarros de barro. Los productos de arcilla pueden contener cantidades variables de aluminio, arsénico, bario, plomo, níquel, titanio y otros metales traza. Adicionalmente, se han encontrado niveles elevados de 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxina en el bagre criado en granjas y en los huevos de pollos alimentados con una dieta que incluye arcilla de bola de una mina en Mississippi. Adicionalmente, la ingesta crónica de arcilla puede estar asociada con una deficiencia de oligoelementos. Sin embargo, cabe señalar que el grupo de arcillas utilizadas predominantemente en la industria de la cerámica y consumidas por los seres humanos son las caolinitas (arcillas de bola).

Por lo tanto, las arcillas (especialmente las caolinitas) que son ingeridas por seres humanos no deben tener niveles elevados de agentes tóxicos. La composición basada en arcilla de la presente invención se puede usar para tratar o prevenir la toxicidad de las aflatoxinas. Aunque la arcilla se ha usado con fines medicinales durante siglos en África, India y China, y en grupos de nativos americanos, un experto en la materia entiende que existe un potencial de efectos adversos graves con la ingestión oral crónica de ciertas arcillas. Como se describe a continuación, las comunidades científicas y médicas creen que estos efectos adversos pueden superar cualquier beneficio potencial.

La práctica de comer tierra, arcilla u otras sustancias no nutritivas se puede denominar "pica" o "geofagia", y es común en la primera infancia y en pacientes con discapacidad mental o psicóticos. Existe cierta evidencia de que las deficiencias de minerales tal como la deficiencia de hierro pueden conducir a la pica, y la prevalencia es mayor en los países en desarrollo y en las comunidades pobres. La ingestión crónica de arcilla puede llevar a una mala absorción de hierro y acelerar aún más esta afección. No hay evidencias científicas suficientes para recomendar a favor o en contra el uso de arcilla para cualquier afección médica. El potencial de efectos adversos con la ingestión oral crónica de arcilla puede superar cualquier beneficio potencial.

Los productos de arcilla pueden contener cantidades variables de aluminio, arsénico, bario, plomo, níquel, titanio y otros metales traza. Ciertos suplementos de minerales coloidales también pueden contener concentraciones peligrosas de metales radiactivos. La ingestión de ciertas arcillas es posiblemente insegura cuando se usa en pacientes durante el embarazo o la lactancia, o cuando se usa en niños. Algunas arcillas pueden poseer capacidad de unión a potasio, y la ingestión crónica de estas arcillas se ha asociado con hipopotasemia grave, particularmente en pacientes con insuficiencia renal. Se ha sugerido que el consumo habitual de arcillas caolínicas (pica o geofagia) puede provocar una mala absorción de hierro y una deficiencia grave, y puede estar asociada con anemia y envenenamiento por plomo.

Se han informado los siguientes problemas fisiológicos con "pica" o "geofagia:"

La alergia/hipersensibilidad a ciertas arcillas, se puede caracterizar por un aspecto edematoso, miocardiopatía dilatada, poliuria y muerte. Adicionalmente, se observaron sequedad de la piel, ulceraciones de la piel en las extremidades superiores e inferiores de los sujetos.

- 5 Neurológico/SNC: La pica se ha asociado con el desarrollo de envenenamiento por plomo en niños y puede conllevar un riesgo de daño al sistema nervioso central. En un informe de caso, una niña de 6 años murió por complicaciones de envenenamiento por plomo y encefalopatía después de ingerir limonada de una jarra de arcilla vidriada. Se informó que el riesgo de neurolatirismo, un trastorno neurodegenerativo, irreversible que causa la paraparesia espástica del cuerpo que conduce a la parálisis, se cuadruplicó en un estudio de casos y controles en Etiopía cuando se cocinaba un guisante con utensilios de arcilla.

10 Psiquiátrico: La pica habitual puede producirse en pacientes con enfermedades mentales, incluidos trastornos psicóticos.

15 Pulmonar/Respiratorio: En la década de 1960, se informó que los niños con antecedentes de pica estaban predispuestos a desarrollar infecciones respiratorias más frecuentes y graves que los niños sanos. La bronquitis crónica, la disnea y la neumonosis se han asociado con la exposición al polvo en la industria de la arcilla pesada.

Cardiovascular: Se informó que la pica se asociaba con miocardiopatía dilatada y muerte.

20 Gastrointestinal: Comer arcilla puede producir estreñimiento o diarrea. También se ha informado acidez, flatulencia, pérdida de apetito y vómitos después de las comidas. El consumo de arcilla también se ha asociado con obstrucción intestinal y enteritis necrotizante, lo que lleva a la perforación intestinal. Se han informado cálculos de colon en dos niños con pica. La geofagia se ha asociado con hepatoesplenomegalia.

Renal: Las arcillas poseen capacidad de unión a potasio, y la ingestión crónica de arcilla se ha asociado con hipopotasemia grave, particularmente en pacientes con insuficiencia renal, pero no en aquellos que reciben hemodiálisis.

25 Endocrino: La miopatía debida a hipopotasemia grave se ha informado en 1 informe de caso con grandes cantidades de ingestión de arcilla.

Genitourinario: La ingesta crónica de arcilla se ha asociado con poliuria e incontinencia de urgencia, así como con hipogonadismo.

Hematológico: La pica puede provocar una mala absorción de hierro y una deficiencia grave, y se ha asociado con anemia.

30 Musculoesquelético: La miositis se ha asociado con la ingestión crónica de arcilla. Se ha reportado miopatía debido a hipopotasemia grave con grandes cantidades de ingestión de arcilla.

Enfermedad infecciosa: Las infecciones por anquilostomas se han asociado con la ingestión de arcilla. El tétanos contraído de la arcilla se ha descrito en un bebé que comió arcilla y en un recién nacido cuyo cordón umbilical estaba envuelto en arcilla.

35 Hierro, Calcio, Magnesio: Cierta arcilla puede actuar como una resina de intercambio catiónico. El calcio y el magnesio en estas arcillas se pueden intercambiar con hierro, haciendo que el hierro no esté disponible debido a la formación de complejos de hierro insolubles. Puede producirse deficiencia de hierro, y los niveles de calcio o magnesio pueden aumentar.

Potasio: Ciertas arcillas poseen capacidad de unión a potasio y se han asociado con hipopotasemia.

40 Un experto en la materia entiende que no hay evidencias científicas y clínicas suficientes en la literatura para recomendar a favor o en contra del uso medicinal de ciertas arcillas, sin embargo, las ilustraciones actuales en medicina tienden a dejar de usar la arcilla como un tratamiento seguro en pacientes con envenenamiento por aflatoxina o cáncer de hígado en sistemas predispuestos, incluidos los sistemas humanos. Los procedimientos y composiciones de la presente invención utilizan composiciones de arcilla aisladas que no se consumen generalmente por seres humanos ni se usan en la fabricación de utensilios de cerámica para comer y beber. La arcilla procesada de la presente invención tiene una composición química particular que NO imparte efectos adversos para la salud cuando se administra por vía oral (basándose en extensos estudios científicos en seres humanos y animales).

Dembinski y col (Medycyna Weterynaryjna, Warszaw, PL, vol. 41, no. 6, page 359-362) describen el uso de una bentonita de origen polaco en enfermedades gastrointestinales de terneros recién nacidos.

50 Li ("Dispersible montmorillonite tablets for treating e.g. acute and chronic diarrhea, gastritis, esophagitis, colitis, inflammation caused by gastrointestinal reflux and irritable bowel syndrome") describe comprimidos de montmorillonite dispersables para el tratamiento de la diarrea causada por el reflujo gastrointestinal y el síndrome del intestino irritable.

Las comprimidos comprenden relleno, disgregante y esmectita.

Clark y col (Veterinary Microbiology, 63 (1998) 137) describe estudios *in vitro* sobre el uso de arcilla, minerales de arcilla y carbón vegetal para adsorber el rotavirus bovino y el coronavirus bovino.

5 El documento WO8606633 describe una composición antidiarreica que comprende una arcilla de silicato de aluminio y magnesio hidratada, una sal de sodio, una sal de potasio y un azúcar.

Bailey y col, "Efficacy of Montmorillonite clay (NovaSil PLUS) for protecting full-term broilers from aflatoxicosis" Journal of Applied Poultry Research, Applied Poultry Science, 15 (1 de enero de 2006) página 198, desvela el uso de arcilla de Montmorillonita alimentada como NovaSil PLUS en la protección de las aves contra los efectos de la aflatoxina.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona una composición oral para su uso como terapia de apoyo para tratar la diarrea en un sujeto como se define en las reivindicaciones. Un primer aspecto de la invención es una composición para su uso como terapia de apoyo para tratar y prevenir la diarrea. La diarrea puede estar asociada con una enfermedad crónica o infecciosa, un tratamiento que utiliza un agente quimioterapéutico o la radioterapia en un sujeto, o un tratamiento que implica cualquier fármaco que pueda causar diarrea. La composición comprende una cantidad eficaz de una arcilla de aluminosilicato de calcio antidiarreico aislado ("CASAD"), en la que el CASAD aislado tiene un
15 bajo contenido de sodio, está sustancialmente libre de contaminación con dioxina T4 y metales pesados tóxicos, y es capaz de tratar la diarrea. La arcilla pueden ser en cualquier forma adecuada, preferentemente en forma de comprimido, polvo o suspensión y puede administrarse de acuerdo con cualquier protocolo de administración adecuado, incluyendo por vía oral. La arcilla de aluminosilicato de calcio aislado y bajo en sodio tiene una composición química que comprende: CaO por encima de aproximadamente de 3,2%; MgO aproximadamente de 4,0 - 5,4 %; Fe₂O₃ aproximadamente de 5,4 - 6,5; K₂O aproximadamente de 0,50 - 0,90 %; Na₂O aproximadamente de 0,10 - 0,30 %; MnO aproximadamente de 0,01 - 0,03 %; Al₂O₃ aproximadamente de 14,8 - 18,2 %; y SiO₂ aproximadamente de 62,4 - 73,5 %, en la que la composición química se determina por fraccionamiento de rayos X como porcentaje en peso. La arcilla de aluminosilicato de calcio tiene un tamaño de partícula promedio que está entre aproximadamente 5 y 100 micrómetros, preferentemente menos de aproximadamente 80 micrómetros, y lo más preferentemente menos de
20 aproximadamente 50 micrómetros, y está en el intervalo de pH de aproximadamente 5 a 9 en una suspensión o solución. El CASAD es capaz de unirse a agentes quimioterapéuticos como la doxorubicina, proteínas inflamatorias y metabolitos de fármacos. La presente invención también proporciona para su uso una cantidad eficaz de una arcilla de CASAD bajo en sodio aislado en la preparación de un medicamento para la terapia de apoyo de los síntomas de la diarrea como se describe en las reivindicaciones.

30 La diarrea puede estar asociada con una enfermedad crónica o infecciosa, cualquier enfermedad o afección que cause inflamación, o tratamiento del sujeto con un fármaco o agente quimioterapéutico o radioterapia. La composición para su uso comprende una cantidad eficaz de una arcilla de aluminosilicato de calcio antidiarreico aislado ("CASAD"), en la que el CASAD aislado tiene un bajo contenido de sodio, está sustancialmente libre de contaminación con dioxina T4 y metales pesados tóxicos, y es capaz de tratar la diarrea. El CASAD pueden ser en cualquier forma adecuada, particularmente formas de comprimidos, polvo, cápsulas o de suspensión, y pueden administrarse por vía oral o por
35 cualquier procedimiento de administración comúnmente conocido. En un ejemplo particular, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar la diarrea en animales y seres humanos, incluidos los niños.

Otro aspecto de la presente divulgación es un procedimiento para crear una formulación de arcilla de CASAD que comprende la etapa de dimensionar las partículas de arcilla para que estén entre aproximadamente 5 y 100 micrómetros, preferentemente menos de 80 micrómetros, y lo más preferentemente menos de 50 micrómetros. Un
40 aspecto adicional de la presente invención es un procedimiento para crear una formulación de arcilla de CASAD que comprende ingredientes adicionales, concretamente, fármacos adicionales o agentes farmacéuticos o ingredientes inertes tales como vehículos farmacéuticamente aceptables. El procedimiento comprende las etapas de mezclar la arcilla de CASAD con uno o más ingredientes adicionales.

45 También se desvela un procedimiento para mitigar el efecto de una citocina (por ejemplo, TNF- α) en personas predispuestas a la inflamación sistémica y respuestas de fase aguda (por ejemplo, varios trastornos autoinmunitarios, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn o psoriasis). El procedimiento comprende: (a) administrar por vía oral una cantidad eficaz de una arcilla de aluminosilicato de calcio ("CAS"), en la que el CAS aislado está sustancialmente libre de contaminación con dioxina T4 y metales pesados tóxicos y es capaz de unirse la toxina ambiental (p.ej, aflatoxina);
50 (b) esperar un período de tiempo (por ejemplo, menos de aproximadamente 24 horas); y (c) repetir las etapas (a) - (b) hasta que se mitiguen los efectos de los efectos de las citocinas. El CAS aislado tiene una composición química que comprende: CaO aproximadamente de 3,2%; MgO aproximadamente de 4,0 - 5,4 %; Fe₂O₃ aproximadamente de 5,4 - 6,5; K₂O aproximadamente de 0,50 - 0,90 %; Na₂O aproximadamente de 0,10 - 0,30 %; MnO aproximadamente de 0,01 - 0,03 %; Al₂O₃ aproximadamente de 14,8 - 18,2 %; y SiO₂ aproximadamente de 62,4 - 73,5 %; en la que la composición química se determina por fraccionamiento de rayos X como porcentaje en peso. El CAS aislado tiene un tamaño de partícula promedio que está entre aproximadamente 5 y 100 micrómetros, preferentemente menos de aproximadamente 80 micrómetros, y lo más preferentemente menos de aproximadamente 50 micrómetros, y está en el intervalo de pH de aproximadamente 5 a 9 en una suspensión o solución.
55

Breve descripción de los dibujos

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente determinados aspectos de la presente invención. La invención se puede entender mejor haciendo referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de las realizaciones específicas presentadas en el presente documento.

5 La FIGURA 1 muestra un diagrama de flujo de cómo se evalúa la diarrea aguda.

La FIGURA 2 muestra agentes que comúnmente causan enfermedades gastrointestinales agudas.

La FIGURA 3 muestra las principales causas de diarrea crónica clasificadas por las características típicas de las heces.

10 La FIGURA 4 muestra datos que representan datos analíticos derivados de la espectrometría de masas que muestran la capacidad de absorción de CASAD para el agente quimioterapéutico del cáncer doxorubicina (también conocida como Adriamicina). Los dos espectros inferiores representan análisis de una solución de doxorubicina (1000 ng/ml), mientras que los dos cromatogramas superiores y la casi ausencia de fármaco en solución después de la adición de 1 mg/ml de CASAD (dos cromatogramas superiores).

La FIGURA 5 muestra una tabla que indica los compuestos tóxicos que pueden unirse con el CASAD.

15 La FIGURA 6 muestra dos gráficos que indican que CASAD puede unirse a TNF- α .

La FIGURA 7 muestra cómo se seleccionó la arcilla para la prueba debido a su estado GRAS y su pureza, incluidos los metales traza prioritarios y los niveles de dioxinas.

La FIGURA 8 muestra la clasificación de las isotermas por forma.

La FIGURA 9 muestra las isotermas de HSCAS regular frente a colapsado.

20 La FIGURA 10 muestra los resultados de un análisis de sangre de desmetilación de ^{13}C -aminopirina en 16 perros antes y después de someterse a quimioterapia con doxorubicina.

La FIGURA 11 muestra la medida del inhibidor de la alfa(1) -proteínasa fecal (α -1PI) antes y después de la administración de adriamicina.

Descripción detallada

25 Antes de describir la presente invención con detalle, debe entenderse que la presente invención no se limita a composiciones particulares o sistemas de suministro de composiciones, que pueden variar. Se entenderá también que la terminología usada en el presente documento es con el fin de describir solo realizaciones particulares y no se desea que sea limitante. Además, antes de describir las realizaciones detalladas de la invención, será útil exponer las definiciones que se usan para describir la presente invención. Las definiciones expuestas se aplican solo a los términos
30 que se usan en la presente patente y pueden no ser aplicables a los mismos términos que se usan en otros documentos, por ejemplo, en la literatura científica u otras patentes o solicitudes, incluidas las solicitudes de los presentes inventores o asignadas a propietarios comunes. Adicionalmente, cuando se dan ejemplos, se pretende que sean solo ejemplares y no restrictivos.

35 Se debe tener en cuenta que, tal como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno" y "el" incluyen referentes plurales salvo que el contexto indique claramente otra cosa. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un agente farmacológicamente activo" incluye una mezcla de dos o más de dichos compuestos, la referencia a "una base" incluye mezclas de dos o más bases, y similares.

Al describir y reivindicar la presente invención, se utilizará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones que se exponen a continuación.

40 "Agente activo", "agente farmacológicamente activo", "agente farmacéutico", "composición", y "fármaco" se usa indistintamente en el presente documento para referirse a composiciones y fármacos que son útiles para la prevención y el tratamiento de la cocarcinogénesis vírica química, el cáncer de hígado inducido por aflatoxina, la inflamación inducida por citocinas o la diarrea. Las expresiones también abarcan derivados farmacéuticamente activos, farmacológicamente activos y análogos de dichos fármacos, que incluyen, pero sin limitación, sales, ésteres, amidas,
45 profármacos, metabolitos activos, complejos de inclusión, análogos y similares. Por lo tanto, cuando se usan las expresiones "agente activo", "agente farmacológicamente activo" o "fármaco", debe entenderse que los solicitantes pretenden incluir la composición activa per se, así como las sales, ésteres, amidas, profármacos, metabolitos activos, complejos de inclusión, análogos, etc., farmacéuticamente aceptables, farmacológicamente activos, que se denominan colectivamente en el presente documento "derivados farmacéuticamente aceptables".

50 La presente invención se refiere a composiciones y procedimientos para prevenir o tratar la diarrea usando una cantidad eficaz de una composición basada en arcilla, también conocida como CASAD. La diarrea es un signo común de toxicidad tanto de la quimioterapia citotóxica como de la radioterapia. El tratamiento habitual para la diarrea es la

rehidratación y la administración de antibióticos, modificadores de la motilidad y agentes antiseoretos. Si bien estos tratamientos son útiles en el contexto agudo, algunos seres humanos y animales de compañía no mejorarán o pueden requerir terapia a largo plazo. Los efectos adversos de estos medicamentos, tanto en el entorno agudo como en el crónico, pueden ser problemáticos para el paciente humano o para el animal de compañía, el propietario y el clínico.

- 5 Las composiciones basadas en arcilla de la presente invención pueden administrarse por cualquier vía adecuada, por ejemplo por administración oral, tópica, bucal, inhalación, sublingual, rectal, vaginal, transuretral, nasal, tópica, percutánea, es decir, transdérmica o parenteral (incluyendo intravenosa, intramuscular, subcutánea e intracoronaria). La administración parenteral puede llevarse a cabo utilizando una aguja y una jeringa, o infundirse junto con un líquido intravenoso, como dextrosa al 5% o solución salina normal.
- 10 Otros agentes farmacéuticos que pueden usarse en asociación con la composición basada en arcilla incluyen fármacos que actúan en sitios de unión sináptica y neuroefectora, fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central, un autacoide, fármacos que tratan la inflamación, fármacos cardiovasculares, fármacos que afectan la función renal y el metabolismo de los electrolitos, fármacos que afectan la motilidad uterina, fármacos de actuación local, fármacos para enfermedades parasitarias, fármacos para enfermedades microbianas, fármacos para enfermedades neoplásicas,
- 15 fármacos que actúan sobre la sangre y los órganos formadores de sangre, hormonas, antagonistas de hormonas y vitaminas. Los ejemplos de un agente farmacéutico incluyen, pero sin limitación, un antibiótico, un agente quimioterapéutico, un agente antidiarreico, un esteroide, un opioide y un antiácido gástrico.

- A pesar de no querer limitarse a la teoría, no hay procedimientos absolutos disponibles para eliminar totalmente la diarrea; sin embargo, los enfoques basados en arcilla ofrecen una solución económica y práctica para reducir los
- 20 síntomas dietéticos de la diarrea. Además, el uso de enterosorbentes en la dieta y agentes de unión no específicos para prevenir y tratar los síntomas de la diarrea se describen en los ejemplos a continuación.

Ejemplos

- Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente la presente invención y la manera en que puede llevarse a cabo. Se entenderá, sin embargo, que los detalles específicos dados en los ejemplos se han elegido con
- 25 fines de ilustración solamente y no deben interpretarse como limitantes de la invención.

Ejemplo 1

- Estado GRAS y Estudios de Seguridad para el Uso *in vivo* de Arcilla. Un experto en la materia sería consciente de que las publicaciones científicas apoyan el uso de arcilla de montmorillonita de calcio en piensos para animales. Por ejemplo, el aluminosilicato de sodio y calcio hidratado (HSCAS) se reconoce generalmente como seguro para su uso
- 30 en piensos a un nivel que no exceda el 2,0% (p/p) de acuerdo con una buena práctica de fabricación o alimentación.

- En estudios en animales con arcilla de montmorillonita de calcio, no se han informado efectos adversos del tratamiento con arcilla a niveles de hasta el 2,0% (p/p) en la dieta. En estudios recientes en roedores, la arcilla de montmorillonita de calcio se evaluó en busca de toxicidad potencial y biodisponibilidad de metales traza en ratas preñadas Sprague-Dawley durante el período de gestación después de un alto nivel de exposición en la dieta (2,0% p/p). Las arcillas se
- 35 suplementaron en la dieta equilibrada de ratas Sprague-Dawley durante la gestación a un nivel de 2,0% (p/p). Las evaluaciones de toxicidad se realizaron el día 16 de gestación e incluyeron pesos corporales maternos, ingestas maternas, pesos de camada, además de reabsorciones embrionarias. Se recogieron y pesaron el hígado y los riñones, la tibia, el cerebro, el útero, la placenta combinada y la masa embrionaria combinada. Los tejidos se liofilizaron y luego se realizó un análisis por activación de neutrones (NAA). Los elementos considerados por NAA incluyen: Al, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Ni, Rb, S, Sb, Sc, Se, Sm, Sr, Ta, Th, Te, Th, Ti, Tl, U, V, Yb, Zn y Zr. La espectroscopia de masas de plasma acoplada inductivamente confinó además que A1 estaba por debajo de los límites de detección (0,5 ppm) en el cerebro, lo que indica que no hay una biodisponibilidad significativa de este metal por las interacciones de arcilla en el tracto GI. Los animales suplementados con cualquiera de las dos
- 40 arcillas fueron similares a los controles con respecto a las evaluaciones de toxicidad y el análisis de metales, con la excepción de la disminución de Rb en el cerebro después de la suplementación con arcilla. En general, los resultados de este estudio sugieren que ni la arcilla en concentraciones dietéticas altas, da como resultado una toxicidad manifiesta ni influye en la captación o utilización de minerales en la rata preñada. En algunas realizaciones, la arcilla se seleccionó para la prueba debido a su estado GRAS y sus niveles de prioridad de pureza de metales traza y dioxinas, véase la Figura 7. Por ejemplo, la cantidad de contaminación por metales pesados en una dosis derivada de arcilla de HSCAS es menor que los criterios del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA). Más específicamente, una dosis derivada de 3 g de CAS/día para Co, Cr, Zn, Mo, Se, Ni, Hg, Pb, Cd, As y dioxinas (TCDD y OCDD) está por debajo de los criterios del JECFA.
- 45
- 50

- Otros estudios en roedores y seres humanos han confirmado la seguridad de la arcilla de montmorillonita de calcio para su aplicación en dietas humanas. En el estudio con roedores, las ratas se alimentaron con raciones que contenían
- 55 alrededor de 0, 0,25, 0,5, 1,0 y 2,0% de niveles de arcilla de montmorillonita de calcio. Al final del estudio, se midieron, normalizaron y se compararon para determinar la toxicidad y cualquier interacción de la arcilla con nutrientes críticos, los pesos corporales, la ganancia de peso corporal, el peso de los órganos, la histopatología, la bioquímica del plasma, las vitaminas A y E y los micronutrientes (Fe y Zn) en suero. Después de 6 meses de exposición a la arcilla, no se

observó morbilidad ni mortalidad entre los grupos de tratamiento. No hubo cambios en los órganos principales, bioquímica sérica o niveles de micronutrientes. Las proporciones entre el peso de los órganos y el peso corporal final para el hígado, los riñones, los pulmones, el corazón, el cerebro, el bazo y la tibia entre los grupos de tratamiento en cada sexo no fueron significativamente diferentes. El análisis histopatológico del hígado y los riñones no indicó diferencias entre los controles y los tratamientos con arcilla. Estos resultados sugieren que la inclusión de arcilla a niveles inferiores al 2,0% (p/p) en la dieta no debería dar como resultado una toxicidad manifiesta y puede usarse de manera segura para reducir la exposición a las aflatoxinas en el tracto gastrointestinal. En el estudio con seres humanos, La arcilla de montmorillonita de calcio se analizó inicialmente para detectar metales traza y contenido de dioxinas con el fin de confirmar la composición de la materia y asegurar niveles bajos de contaminación.

La arcilla de montmorillonita de calcio se esterilizó por calor y se empaquetó en cápsulas para su uso en este ejemplo determinado. El diseño del estudio se basó en 2 grupos de tratamiento: 1) dosis baja - 3 x cápsulas de 500 mg x 3 veces/día durante un total de 2 semanas, y 2) dosis alta - 3 x cápsulas de 1.000 mg x 3 veces/día durante un total de 2 semanas. El ensayo de 2 semanas consistió en 50 adultos sanos, de 22-40 años seleccionados por exámenes físicos, análisis de laboratorio de fluidos biológicos y cuestionario iniciales. Un experto en la materia sería capaz de producir cápsulas que se modifiquen a partir de la descripción anterior, que varíe en la dosis, véase la 17ª edición de Remington Pharmaceutical Sciences. Los participantes recibieron cápsulas de arcilla antes de las comidas con una botella de agua de manantial. El personal médico estuvo en el sitio para controlar cualquier queja o efecto adverso. Se tomaron muestras de sangre y orina al final del período de 2 semanas y se realizaron nuevamente análisis de laboratorio y exámenes físicos. Cualquier evento adverso se informó de acuerdo con las directrices de los NIH. El cumplimiento del protocolo de dosificación alcanzó el 100% durante el período de estudio de dos semanas. El análisis de los datos clínicos y bioquímicos para el control de los efectos secundarios, los parámetros de la sangre y urinarios para la función hepática y renal no mostraron ningún efecto adverso específico.

Descripción y Perfil del Ingrediente. La arcilla de aluminosilicato de calcio (CAS) tiene una composición diferente de la arcilla de aluminosilicato de calcio y sodio hidratada (HSCAS), que tiene un color bronceado oscuro. El CAS tiene la apariencia de un polvo que fluye libremente de color entre blanco y gris-verdoso. El CAS es inodoro y tiene una gravedad específica de aproximadamente 2,4. El CAS aislado es despreciablemente soluble en agua y tiene un pH en el intervalo de aproximadamente 5-9 en suspensión. Debido a los componentes de silicato de sílice y de aluminio, el CAS aislado puede tener algunos efectos adversos si se inhalan las partículas secas, pero no se sospechan efectos adversos para la salud por ingestión. Los valores típicos son los siguientes:

Propiedades Físicas Típicas:

Humedad Libre (LOD)	9 %
Densidad a Granel Suelto	0,64 g/cc 40 lbs/ft3
Densidad a Granel Envasado	0,80 g/cc 50 lbs/ft3
Distribución del Tamaño de partícula:	5 % +100 mesh
	18 % +200 mesh
	60 % +325 mesh

Análisis Químico Típico:

Análisis químico por	% de CaO 3,2 - 4,8
fraccionamiento de rayos X (XRF)	% de MgO 4,0 - 5,4
Espectroscopia (% en peso):	% de Fe ₂ O ₃ 5,4 - 6,5
	% de K ₂ O 0,50 - 0,90
	% de Na ₂ O 0,10 - 0,30
	% de MnO 0,01 - 0,03
	% de Al ₂ O ₃ 14,8 - 18,2
	% de SiO ₂ 62,4 - 73,5

Adicionalmente, las pruebas de los productos de arcilla procesados de la planta de Engelhard (ahora BASF), Jackson, MS han confirmado niveles bajos de 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) en CAS (<0,33 partes por trillón, ppt). La TCDD se da en las especificaciones de Engelhard (BASF) como un índice de la presencia de dioxinas en los

5

Procedimientos para el índice COLE. Una medida de las propiedades expansivas, el índice de *coeficiente de extensibilidad lineal* (COLE) es la relación del volumen de un suelo después de humedecerlo al volumen de suelo antes de humedecerlo menos uno. $COLE = (\text{volumen de arcilla después de humedecer} / \text{volumen de arcilla antes de humedecer}) - 1$ Los valores del índice COLE superiores a 0,03 indican que hay una esmectita significativa (arcilla hinchada) en la muestra. El procedimiento general se puede resumir de la siguiente manera:

10

1. Añadir 5 ml (5 cm³) de arcilla seca a un cilindro graduado de 25 ml.
2. Añadir agua destilada a la arcilla llevando el volumen total a 25 ml.
3. Agitar o remover la suspensión vigorosamente para asegurar una humectación completa de la arcilla.
4. Deje reposar la suspensión durante 24 h. a temperatura ambiente.

15

5. Medir el volumen expandido de arcilla sedimentada.

El potencial de contracción-expansión se correlaciona estrechamente con el tipo y la cantidad de arcilla. El mayor potencial de contracción-expansión se produce en suelos que tienen altas cantidades de arcillas reticulares 2:1, tales como esmectitas. Las arcillas ílticas son intermedias, y las arcillas caoliniticas se ven menos afectadas por el cambio de volumen a medida que cambia el contenido en humedad. Los análisis isotérmicos se muestran en la Figura 8. Las características de la curva de adsorción se muestran en los gráficos H o L, en los que, $r^2 \geq 0,90$; $Q_{max} \geq 0,25$ mol/kg; $K_d \geq 1 \times 10^5$; ΔH_{ads} mínima de - 20 kJ/mol y valores de índice COLE: $\leq 0,8$ después de 24 horas. Adicionalmente, las isothermas de HSCAS+ regular frente a colapsado a 25 °C se muestran en la Figura 9.

20

Ejemplo 2

El carcinoma hepatocelular primario (CHC) produce entre 250.000 y un millón de muertes en todo el mundo por año. El CHC tiene distribuciones geográficas, de sexo y de edad únicas que probablemente están determinadas por factores etiológicos específicos (es decir, hepatitis y exposición a toxinas ambientales). La incidencia de CHC varía ampliamente según la ubicación geográfica. La distribución de CHC también difiere entre los grupos étnicos dentro del mismo país y entre las regiones dentro del mismo país.

25

Las regiones de alta incidencia (más de 15 casos por 100.000 habitantes por año) incluyen el África subsahariana, la República Popular de China, Hong Kong y Taiwán. Más del 40 por ciento de todos los casos de CHC se producen en la República Popular China, que tiene una incidencia anual de 137.000 casos. En cambio, América del Norte y del Sur, la mayor parte de Europa, Australia y partes del Medio Oriente son áreas de baja incidencia con menos de tres casos reportados por 100.000 habitantes por año. Sin embargo, la incidencia en los Estados Unidos ha aumentado durante las últimas dos décadas, posiblemente debido a un gran número de personas con hepatitis crónica de larga duración.

30

Los varones son mucho más propensos a desarrollar CHC que las mujeres, y la disparidad es más pronunciada en las regiones de alta incidencia, en las que los varones se ven afectados de 2,1 a 5,7 veces más frecuentemente que las mujeres (promedio 3,7:1). La proporción disminuye a una media de 2,4:1 en las áreas de incidencia intermedia y es más baja en las regiones de baja incidencia. Aunque no se entienden completamente, se cree que estas diferencias en la distribución por sexo se deben a las variaciones en los estados portadores de hepatitis, la exposición a toxinas ambientales y el efecto trófico de los andrógenos.

35

40

La mayoría de los CHC se producen en pacientes con enfermedad hepática crónica o cirrosis. Por lo tanto, los pacientes mayores con enfermedad hepática de larga duración tienen más probabilidades de desarrollar CHC. Varios estudios prospectivos grandes realizados tanto en Asia como en Europa occidental han indicado una edad media de presentación entre 50 y 60 años. En el África subsahariana, sin embargo, la edad media de presentación de CHC está disminuyendo, con una edad media de 33 años en la presentación.

45

Los esfuerzos para comprender la distribución única de CHC han aumentado la comprensión de los presentes inventores de los factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad. Por lo tanto, se han identificado una variedad de factores de riesgo importantes para el desarrollo de CHC. Estos incluyen el estado de portador de la hepatitis B, toxinas ambientales, infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC), hemocromatosis hereditaria y

cirrosis de casi cualquier causa. Sin embargo, CHC también puede producirse en pacientes sin factores de riesgo conocidos. El papel de la vigilancia en cualquiera de estos trastornos se analiza por separado.

Estado Portador de Hepatitis B. La asociación entre el estado de portador de hepatitis B y el carcinoma hepatocelular se ha demostrado en varios estudios de gran población y en otros informes. En un informe, por ejemplo, se vigilaron 22.707 empleados masculinos del gobierno en Taiwán, el 15 por ciento de los cuales eran portadores del VHB (antígeno de superficie de hepatitis B positivo), entre 1975 y 1978. El riesgo relativo de CHC en estos portadores de HBsAg fue 223 veces mayor que el de los no portadores. En otra serie, el riesgo relativo de HBsAg fue de 6,9 entre 917 pacientes japoneses con cirrosis o hepatitis crónica.

Toxinas Ambientales. Al menos dos toxinas ambientales, la aflatoxina y el agua potable contaminada, pueden contribuir a la patogénesis de la CHC. La *aflatoxina* es una micotoxina que comúnmente contamina el maíz, la soja y el cacahuate. Las altas tasas de ingesta de aflatoxinas en la dieta se han asociado con el CHC. Como ejemplo, los islotes de Penghu en Taiwán tienen una incidencia extremadamente alta de CHC que no está totalmente explicada por el estado del portador del VHB. En un estudio en el que 20 pacientes con CHC de esta región se compararon con 86 controles emparejados por edad, los pacientes tenían más probabilidades de tener aductos de aflatoxina B1-albúmina (65 frente a 37 por ciento; razón de posibilidades ajustada de 5,5); el 94 por ciento de los pacientes eran portadores de HBsAg. En otro estudio de Shanghái, las posibilidades de desarrollar CHC entre individuos con VHB y la exposición a la aflatoxina fueron 59,4 veces la incidencia de la población normal.

Se han demostrado mutaciones del gen supresor de tumores p53 en pacientes con carcinoma hepatocelular que han sido expuestos de manera crónica a aflatoxina. También se han demostrado hallazgos similares en modelos animales de hepatocarcinogénesis en los que se han observado mutaciones de p53 en animales de laboratorio expuestos a VHB y aflatoxinas. El efecto potenciador de estos factores de riesgo también se ha demostrado en ratones transgénicos que expresan el antígeno de superficie de la hepatitis B; en un estudio, algunos de estos ratones se criaron para carecer de uno de los alelos de p53 y/o se expusieron a aflatoxina. A los 13 meses de edad, el CHC de alto grado se desarrolló en los siete ratones con cada uno de los tres factores de riesgo en comparación con el 62 por ciento de los ratones con ambos alelos p53, aunque estaban expuestos a aflatoxina y el 25 por ciento de los ratones que carecían de un alelo p53 pero no estaban expuestos a aflatoxina.

Adicionalmente, se ha vinculado el *agua potable contaminada* al CHC. Por ejemplo, varios estudios realizados en zonas rurales de China han observado una mayor tasa de mortalidad por CHC entre las personas que beben agua de estanques en comparación con las que beben agua de pozo (100 frente a menos de 20 muertes por cada 100.000 habitantes por año). La toxina de algas verde azuladas Microcistina comúnmente contamina estos estanques y se cree que es un fuerte promotor de CHC.

A sabiendas, comer y beber toxinas ambientales que son agentes causales establecidos para el CHC es un riesgo. Sin embargo, muchos ciudadanos del mundo que tienen medios socioeconómicos bajos generalmente tienen la opción de ingerir alimentos contaminados o no comer nada. Dada esta elección, el riesgo de un posible CHC supera el hambre y la muerte segura.

Los efectos de las toxinas ambientales en personas predispuestas al CHC pueden mitigarse administrando oralmente una cantidad eficaz de una arcilla de aluminosilicato de calcio aislada en una cápsula en forma de polvo al menos una vez al día, preferentemente antes, durante o después de cada comida. La arcilla de aluminosilicato de calcio aislado está sustancialmente libre de contaminación con dioxina T4 y metales pesados tóxicos, y es capaz de unirse a las toxinas ambientales (por ejemplo, aflatoxina o microcistina). En una realización preferida, la arcilla de aluminosilicato de calcio aislado tiene una composición química que comprende: CaO aproximadamente de 3,2%; MgO aproximadamente de 4,0 - 5,4 %; Fe₂O₃ aproximadamente de 5,4 - 6,5; K₂O aproximadamente de 0,50 - 0,90 %; Na₂O aproximadamente de 0,10 - 0,30 %; MnO aproximadamente de 0,01 - 0,03 %; Al₂O₃ aproximadamente de 14,8 - 18,2 %; y SiO₂ aproximadamente de 62,4 - 73,5 %; en la que la composición química se determina por fraccionamiento de rayos X como porcentaje en peso. Adicionalmente, la arcilla de aluminosilicato de calcio aislado tiene un tamaño de partícula promedio que es inferior a aproximadamente 100 micrómetros, preferentemente aproximadamente 80 micrómetros.

Ejemplo 3

En medicina, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α , caquexina o caquectina) es una citocina importante involucrada en la inflamación sistémica y en la respuesta de fase aguda. El TNF α fue aislado en 1975 por Carswell y *col.* como un factor soluble liberado por las células hospedadoras que causaba la necrosis de un tumor trasplantado, "sarcoma Meth A". Aunque el TNF α causa la necrosis de algunos tumores, puede estimular el crecimiento de otros. En ese sentido, el nombre es un nombre poco apropiado.

TNF α es un miembro de un grupo de otras citocinas que estimulan la reacción de fase aguda. Es una hormona peptídica de glicoproteína de 185 aminoácidos, escindida a partir de un propéptido de 212 aminoácidos de longitud en la superficie de los macrófagos. Algunas células secretan isoformas más cortas o más largas. Genéticamente se mapea al cromosoma 6p21.3 en seres humanos.

El TNF α es liberado por los glóbulos blancos, el endotelio y otros varios tejidos en el curso del daño, por ej. por

- infección. Su liberación es estimulada por otros varios mediadores, tal como la interleucina 1 y la endotoxina bacteriana. El TNF α tiene una serie de acciones en varios sistemas de órganos, por ejemplo: estimulación del eje hipotalámico-hipófisis-suprarrenal mediante la estimulación de la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH); supresión del apetito (de ahí su nombre "caquexina" - caquexia es pérdida grave de peso en la enfermedad);
- 5 en el hígado: estimulación de la respuesta de la fase aguda, lo que lleva a un aumento de la proteína C reactiva y una serie de otros mediadores; Atrae a los neutrófilos de manera muy potente y les ayuda a adherirse a las células endoteliales para la migración; Sobre los macrófagos: el TNF α estimula la fagocitosis y la producción de IL-1, oxidantes y el lípido inflamatorio, la prostaglandina E2 (PGE2). Una concentración localmente creciente de TNF α causará que se produzcan los signos cardinales de la inflamación: calor, hinchazón, enrojecimiento y dolor.
- 10 La inhibición del TNF α con un anticuerpo monoclonal o un receptor circulante tal como infliximab (Remicade®), etanercept (Enbrel®) o adalimumab (Humira®) se utiliza en el tratamiento moderno de diversos trastornos autoinmunitarios tales como la artritis reumatoide, enfermedad de Crohn o psoriasis. Los ensayos clínicos sobre la eficacia de estos fármacos sobre la hidradenitis supurativa están actualmente en curso.
- Dichos fármacos pueden aumentar el riesgo de contraer tuberculosis o causar que una infección latente se active.
- 15 Infliximab y adalimumab (HUMIRA®) tienen advertencias en la etiqueta que indican que los pacientes deben ser evaluados para detectar una infección latente de TB y el tratamiento debe iniciarse antes de comenzar la terapia con estos medicamentos. El TNF- α o los efectos del TNF- α también son inhibidos por varios compuestos naturales, como la curcumina (un ingrediente en la cúrcuma) y las catequinas (en el té verde).
- Adicionalmente, el TNF- α se produce principalmente por monocitos y macrófagos. Se encuentra en células sinoviales y macrófagos en los tejidos. Comparte muchas propiedades con otra citocina: la interleucina 1. El TNF- α se produce
- 20 en muchas enfermedades inflamatorias, y también como respuesta a las endotoxinas de las bacterias, por ejemplo. En general, el TNF- α provoca la estimulación de IL1 y GM-CSF; el daño tisular incrementado por IL1; la inducción de colagenasas por fibroblastos y condrocitos; desempeña un papel en la modulación de la expresión de HLA clase 2, así como de las moléculas de adhesión.
- 25 Los receptores para el TNF- α se encuentran en varias células mononucleares, en la membrana sinovial, así como en la sangre periférica y el líquido sinovial. También hay receptores solubles - receptores que están libres en solución. Los receptores de TNF- α solubles pueden bloquear el TNF- α eliminando y bloqueando los niveles de TNF- α , de modo que haya menos disponible para activar las células mononucleares. Así actúan como inhibidores naturales. La incidencia y el alcance de los niveles del receptor soluble se correlacionan con la actividad de la enfermedad.
- 30 El uso terapéutico del receptor soluble está restringido porque la semivida de la molécula es corta y, por lo tanto, se han intentado combinaciones del receptor soluble con inmunoglobulina u otras moléculas para tratar de aumentar la semivida para permitir aplicaciones terapéuticas. Es la combinación de la forma soluble recombinante de TNFR p75 humano en el fragmento Fc de IGG, que se conoce como etanercept o ENBREL®, que está producida por Immunex Corporation (Thousand Oaks, CA).
- 35 El TNF- α también desempeña un papel central en la patogénesis de la inflamación de la mucosa en la enfermedad de Crohn. La terapia con el anticuerpo monoclonal quimérico contra el TNF (infliximab) ha cambiado profundamente el manejo de la enfermedad de Crohn de lumen refractario y fistulizante. Más de dos tercios de los pacientes con enfermedad de Crohn tratados con infliximab (REMICADE®) logran una remisión y se ha aprobado la terapia de mantenimiento debido a su eficacia conservadora de corticosteroides en la enfermedad de Crohn de lumen refractario
- 40 y fistulizante.
- La eficacia en la enfermedad de Crohn proporcionó el fundamento para los ensayos clínicos de infliximab (y otros agentes anti-TNF) en pacientes con colitis ulcerosa, un trastorno en el que el TNF también puede tener un papel importante. TNF- α se expresa en niveles altos en la mucosa colónica de pacientes con colitis ulcerosa (CU). También hay un aumento de la producción de TNF- α por células mononucleares de la lámina propia del colon y altas
- 45 concentraciones de TNF- α en las heces, los dializados rectales y la orina de los pacientes con CU.
- Un papel potencial para la terapia anti-TNF en la CU se apoyó por primera vez en estudios sobre tamarinos de cabeza de algodón, un animal que desarrolla colitis no granulomatosa difusa espontánea en cautiverio. El tratamiento con un anticuerpo monoclonal humanizado contra TNF- α , CDP571, dio como resultado una mejoría clínica e histológica significativa. Sin embargo, los anticuerpos monoclonales son costosos de producir para las terapias crónicas y se
- 50 buscan continuamente otros agentes anti TNF- α . Por ejemplo, en un estudio piloto, 15 pacientes con colitis ulcerosa activa de leve a moderada se trataron abiertamente con una sola infusión intravenosa de CDP571 (Humicade, un anticuerpo IgG4 humanizado) y se controlaron durante ocho semanas. El tratamiento fue bien tolerado y la semivida plasmática de CDP571 fue de aproximadamente siete días. Hubo una reducción significativa en la actividad clínica una semana después de la infusión, pero solo se observó una reducción moderada (y no estadísticamente significativa)
- 55 a las dos semanas. También se han visto resultados mixtos con este fármaco en el tratamiento de la enfermedad de Crohn.
- La arcilla de la presente invención se une eficazmente a TNF- α . En la presente invención, la absorción de TNF α por CAS se determinó utilizando un ensayo ELISA. Los materiales utilizados fueron los siguientes: TNF- α recombinante

(50 mg/ml de solución patrón en H₂O al 100%); kit ELISA para TNF- α (R&D Systems Inc.); CAS; y suero salino tamponado con fosfato (PBS). Las muestras se prepararon dejando que los componentes del kit ELISA se calentaran a temperatura ambiente antes de comenzar el experimento.

Las muestras de CAS se prepararon suspendiendo 6 concentraciones diferentes de CAS en PBS. Las concentraciones de CAS elegidas para este experimento son 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 50 mg/ml, y 100 mg/ml. Se añadió TNF- α recombinante a cada una de las muestras anteriores a una concentración final de 1000 pg/ml de TNF- α . Al mismo tiempo, se preparó una muestra de 1000 pg/ml de TNF- α en PBS al 100% (sin CAS). Las muestras se mezclaron usando un mezclador vortical durante 30 segundos y se dejaron incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Durante esta incubación, las muestras se mezclaron cada 10 minutos durante 5 segundos con un mezclador vortical. Las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 5 minutos y se aisló el sobrenadante. Se siguió el protocolo estándar para ELISA utilizando estos sobrenadantes y muestras.

Tal como se muestra en la Figura 6A, hubo una reducción significativa en la concentración de TNF- α en la solución después de la exposición a todas las concentraciones de CAS. La Figura 6B muestra la reducción de TNF- α como porcentaje de la muestra de control que no contenía CAS.

Ejemplo 4

La diarrea es una complicación común tanto del cáncer como de su tratamiento. En el paciente canino, la diarrea puede ser el resultado de una indiscreción alimentaria, una enfermedad relacionada o un tratamiento relacionado (debido a la quimioterapia o la radioterapia). Si bien la mayoría de los casos de diarrea son autolimitados o responden a un tratamiento mínimo, en el paciente con cáncer, puede justificarse una terapia adicional. Muchos animales sometidos a terapia tendrán una exposición repetida a la quimioterapia o radioterapia citotóxica. El tratamiento continuado con agentes antisecretorios como la loperamida o antibióticos tales como el metronidazol no está exento del riesgo potencial de complicaciones graves. La loperamida puede dar como resultado sequedad en la boca y náuseas y, a largo plazo, provocar dependencia. El metronidazol, al administrarse a largo plazo, conlleva un mayor riesgo de complicaciones neurológicas. Los agentes tales como CASAD, que no se absorben a través del tracto gastrointestinal, pueden proporcionar una opción más segura para la administración crónica.

La diarrea en el paciente canino no solo afecta al paciente, sino también a la unidad familiar. La diarrea da como resultado un mayor estrés en el cuidador, al requerir trabajo adicional, como viajes adicionales al exterior para evacuar los intestinos, la limpieza de los accidentes fecales y la administración de medicamentos, soluciones de rehidratación y preparación de alimentos. Se ha demostrado que las arcillas de esmectitas en el modelo pediátrico disminuyen la duración de las deposiciones acuosas; por lo tanto, disminuyen la carga de trabajo y la tensión en la unidad familiar. Al disminuir la tensión sobre la unidad familiar, se promueve un mayor cumplimiento y la voluntad de tratar. La calidad de vida del paciente también se mejora al disminuir la duración de un episodio de diarrea posterior a la terapia.

Las dosis de quimioterapia están limitadas por la toxicidad. Los pacientes reciben quimioterapia en función de la dosis máxima tolerada. Una dosis común que limita la toxicidad es la diarrea (intestino grueso y delgado). Una quimioterapia que tiene una alta incidencia de colitis inducida por quimioterapia es la doxorubicina. Al reducir la incidencia y la duración de la diarrea, la dosis máxima tolerada puede incrementarse permitiendo una mejor respuesta y supervivencia.

El agente terapéutico más comúnmente recomendado para la diarrea inducida por quimioterapia o por radioterapia es el metronidazol. El metronidazol es un nitroimidazol sintético con propiedades antibacterianas, antiprotozoarias y antiinflamatorias. Debe utilizarse con precaución en seres humanos y animales con insuficiencia hepática, ya que se metaboliza en el hígado. La neurotoxicidad se ha asociado con dosis más altas y administración crónica.

Alternativamente, la sulfasalazina se ha recomendado para el tratamiento de la diarrea inducida por quimioterapia. La sulfasalazina es un antibiótico con propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. Las reacciones adversas potenciales incluyen queratoconjuntivitis seca (KCS), hepatotoxicidad, anemia hemolítica y leucopenia. Los animales, específicamente las razas de perros negros y bronceados, tienen un mayor riesgo de reacciones adversas.

La esmectita de magnesio dioctaédrica es una arcilla de origen natural compuesta por láminas finas de silicato de aluminomagnesio. Esta composición no solo se ha utilizado en muchos otros países para el tratamiento de las diarreas infecciosas agudas pediátricas; sino que también se ha utilizado para el tratamiento de enfermedades diarreicas crónicas tales como la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad de Crohn y las alergias alimentarias. El mecanismo de acción comúnmente informado de la arcilla de esmectita es la adsorción de toxinas, antígenos y bacterias lumbales. Otros mecanismos de acción propuestos incluyen modificaciones de las propiedades reológicas de la mucosa gastrointestinal, propiedades antiinflamatorias, aumento de la secreción de mucopolisacárido 2 (MUC2) y restauración de la integridad luminal.

El trabajo reciente de González y col., muestra que en el modelo de ratas, la arcilla de esmectita reguló negativamente la respuesta inflamatoria; y redujo los niveles de mieloperoxidasas e IL-1 β , lo que indica una menor infiltración y actividad de neutrófilos y monocitos en las muestras de tejido intestinal. La arcilla de esmectita también aumentó la secreción de MUC2 en el colon, proporcionando así una barrera mejorada para los contenidos lumbales. Adicionalmente, la arcilla de esmectita inhibió la secreción basolateral de IL-8 de una manera dependiente de la dosis.

Los resultados sugieren que la arcilla de esmectita fue tan eficaz como la sulfasalazina en un modelo experimental de colitis crónica.

En el modelo de conejo para la diarrea infecciosa experimental, se demostró que la arcilla de esmectita disminuye la mucólisis bacteriana y la destrucción de las membranas de la superficie luminal por bacterias patógenas. Se usó *Escherichia coli* 0128B12 para crear una situación invasiva y toxigénica para intentar determinar el mecanismo de acción de la arcilla de esmectita. Se demostró que la arcilla de esmectita favorece la absorción de toxinas al tiempo que permite la absorción de electrolitos luminales. Además, los niveles de enzimas de membrana de disacaridasa y fosfatasa alcalina se elevaron en el modelo de arcilla de esmectita, lo que es consistente con los efectos protectores sobre la superficie luminal en presencia de una bacteria toxigénica invasiva.

En el modelo pediátrico, la arcilla de esmectita se ha utilizado para tratar la diarrea infecciosa aguda. En un ensayo abierto, aleatorizado y multicéntrico en Lituania, la duración de la diarrea fue significativamente más corta cuando se usó arcilla de esmectita en combinación con una solución de rehidratación oral, que, cuando se trató con una solución de rehidratación oral sola (42,3 +/- 24,7 horas frente a 61,8 +/- 33,9 horas). Un estudio similar doble ciego controlado con placebo en Egipto encontró que aunque la arcilla de esmectita no afectó el volumen inicial de heces; disminuyó la duración de la diarrea de 73 a 53 horas cuando se usó en combinación con la rehidratación oral.

La mayoría de las fuentes de esmectita dioctáédrica contienen contaminantes, tal como metales pesados tóxicos y dioxina, que prohíben el uso a largo plazo o en dosis altas. La mayoría de estas arcillas de esmectita contienen sodio o magnesio como el catión primario de la capa en la estructura cristalina. Estos iones pueden tener un efecto negativo en el balance electrolítico del paciente críticamente enfermo. Adicionalmente, la mayoría de las arcillas mencionadas anteriormente no estaban bien caracterizadas o tenían un tamaño de partícula y contenido de humedad variables. En el paciente críticamente enfermo, las partículas pesadas tienden a asentarse y se retienen en el tracto gastrointestinal, dando como resultado la retención de material debido a la mala motilidad intestinal.

La arcilla aislada utilizada en la presente invención es un aluminosilicato de calcio estéril único con un tamaño de partícula promedio de aproximadamente 100 micrómetros o menos, bajo contenido de sodio y arcilla de aluminosilicato de calcio antidiarreico, codificado CASAD. Esta arcilla aislada tiene un alto contenido de Ca/Mg y estaba sustancialmente libre de dioxinas T4, metales pesados tóxicos y no contenía aglutinantes ni rellenos. La arcilla aislada también tiene un bajo contenido de sodio cuando se compara con otras arcillas basadas en calcio y no tiene ninguna de las desventajas asociadas con las arcillas que se han descrito en detalle anteriormente. La arcilla aislada se formó en comprimidos de 500 miligramos (mg) que se empaquetaron individualmente en papel de aluminio laminado. Las pastillas que tienen un diámetro de aproximadamente 1 cm se formaron usando una prensa de comprimidos (Stokes Pennwalt Tablet Press, Warminster, PA).

Históricamente, se ha informado de muerte en relación con la toxicosis aguda y a corto plazo asociada con la administración de doxorubicina a perros con tumores malignos. Por ejemplo, en un ejemplo, se utilizaron 185 perros con tumores malignos medibles confirmados histológicamente en un estudio para determinar la toxicidad del antibiótico antitumoral antraciclina, doxorubicina, que se administró una o dos veces (a un intervalo de 21 días) a una tasa de 30 mg/m² de área de superficie corporal, por vía intravenosa. Durante este estudio, 7 perros murieron como resultado directo de la toxicosis inducida por doxorubicina y 16 murieron como resultado directo de la enfermedad neoplásica maligna. Se evaluó cada perro para detectar signos de toxicosis durante 3 semanas después de que se administrara la última dosis (15 perros recibieron 1 dosis, 170 perros recibieron 2 dosis) o hasta que el perro muriera, lo que ocurriera primero. Los signos más comunes de toxicosis fueron vómitos, diarrea, colitis, anorexia y prurito. La probabilidad de toxicosis inducida por doxorubicina disminuyó significativamente (P menos de 0,0001) en relación inversa con el peso corporal. Los perros con signos de toxicosis durante el intervalo de 21 días desde la administración de la primera dosis de doxorubicina fueron 17,2 veces (P menor que 0,01; intervalo de confianza del 95%; 5,5, 54,2) más propensos a desarrollar signos de toxicosis durante el intervalo de 21 días a partir de la segunda dosis de doxorubicina. El estado de rendimiento de cada perro se evaluó utilizando un esquema de rendimiento de Karnofsky modificado; la única vez que el estado de rendimiento se vio afectado negativamente en gran medida por la toxicosis inducida por doxorubicina fue durante el período de 21 días, comenzando con la segunda dosis (P menor que 0,0001). (Ogilvie GK, y col., "Acute and Short-term Toxicoses Associated with the Administration of Doxorubicin to Dogs with Malignant Tumors." Am Vet Med Assoc. Diciembre de 1989 1;195(11):1584-7).

La diarrea intratable en perros con cáncer se define como heces acuosas sueltas y persistentes sin resolución a pesar de usar medidas de tratamiento habitual como metronidazol, sulfasalazina o enfoques dietéticos por un período de no menos de 48 horas. En otro ejemplo, un total de 19 perros con cáncer se trataron con CASAD. De los 19 perros, 16 tenían datos suficientes para el análisis, y tres animales tenían datos incompletos. Seis pacientes tenían diarrea que no se consideraba relacionada con el tratamiento. En esta agrupación, 5 de los 6 pacientes tuvieron una resolución de sus signos clínicos, y un paciente tuvo un conjunto de datos incompleto. Las causas de la diarrea en esta agrupación incluyen: indiscreción dietética, colitis por estrés y como resultado del proceso neoplásico. Estos pacientes tenían un promedio de 4,2 días de diarrea antes de comenzar a tomar CASAD. Uno de estos pacientes tenía un historial de 14 días de diarrea antes de iniciar CASAD, que se resolvió dentro de los 3 días posteriores a la administración de CASAD. La mayoría de los pacientes recibieron al menos un (1) ciclo de metronidazol antes de comenzar el ensayo. Cuando fue apropiado, se realizó flotación fecal con ZnSO₄ y cultivos. Los pacientes se incorporaron al ensayo con CASAD y recibieron 500 mg por vía oral cada seis (6) horas hasta que hubo dos (2) deposiciones formadas consecutivas. La

resolución de la diarrea se definió como dos deposiciones formadas consecutivas. Los datos registrados incluyen la fecha y el tipo de la quimioterapia más reciente, la duración de la diarrea antes de iniciar CASAD y el tiempo para la resolución de la diarrea. El tiempo promedio de resolución de la DI fue de 3,2 días en los pacientes con respuesta conocida.

La invención actual también se utilizó, en un ejemplo adicional, en trece pacientes en los que la quimioterapia fue la causa incitante de la diarrea, siendo la doxorubicina la causa más comúnmente informada ($n = 5$). También se informó de otros diversos agentes de quimioterapia a incluir: vincristina (2), ciclofosfamida (2), lomustina (2), vinblastina (1) y carboplatino (1). Los pacientes tenían una media de 5,2 días entre la administración de quimioterapia y el inicio de la diarrea, lo que es consistente con la toxicidad GI de la quimioterapia citotóxica. Los pacientes tenían un promedio de 4,4 días de diarrea antes de comenzar a tomar CASAD. La mayoría de los propietarios informaron mejoras dentro de las 48 horas y una resolución completa de los signos en 2,9 días. La absorción de doxorubicina por CAS se determinó utilizando un ensayo de espectro de masas, como se muestra en la figura 4. La Figura 5 muestra que 1 mg/ml de CASAD absorbe más del 99% de la doxorubicina de la solución cuando la concentración del fármaco es de 100 ng/ml o menos. Incluso a una concentración de fármaco relativamente alta de 1000 ng/ml (1 microgramo/ml), el 95% del fármaco se elimina de la solución mediante CASAD.

CASAD fue bien tolerado con solo una reacción adversa informada. Un paciente experimentó estreñimiento como resultado del tratamiento con CASAD. No se informaron otras reacciones adversas durante el período de estudio.

En general, se encontró que CASAD era bien tolerado con solo un evento adverso informado durante el período de tratamiento. Este paciente experimentó estreñimiento como resultado del tratamiento. Esta afección se resolvió rápidamente con la interrupción de CASAD.

Basándose en los resultados de estos ejemplos, Se puede usar CASAD se puede usar como agente preventivo para la diarrea inducida por radioterapia y quimioterapia. La arcilla de esmectita puede retrasar el inicio de la colitis inducida por radioterapia en el paciente humano. CASAD puede ser un agente preventivo eficaz o incluso disminuir la duración de la diarrea inducida por el tratamiento, puede aumentar la dosis máxima tolerada de radiación o quimioterapia y; por lo tanto, mejorar potencialmente las tasas de respuesta y los tiempos de supervivencia.

Ejemplo 5

Una mujer blanca de 56 años que había sido diagnosticada con síndrome de intestino irritable durante más de 40 años y continuaba experimentando episodios de diarrea acuosa profusa, especialmente al ingerir ciertos alimentos complejos que contenían almidón. Estos episodios de diarrea eran precedidos por retortijones abdominales y dolor que continuaba durante varias horas.

Se ofreció un comprimido de 500 mg de CASAD al sujeto inmediatamente después de un episodio de diarrea. Informó que el dolor abdominal y los retortijones desaparecieron a los 30 minutos de la ingestión de CASAD. Se fue a la cama después de que el dolor hubiera disminuido e informó 8 horas de sueño muy reparador. En la mañana ella informó que tenía heces formadas. Ella no experimentó un episodio de diarrea durante más de dos semanas, lo que informó como "inusual".

Posteriormente, tuvo la oportunidad de comenzar a experimentar retortijones abdominales y dolor, lo que, según informó, indicaba que iba a producirse un episodio de diarrea en 1 hora. Le ofrecieron otro comprimido de 500 mg de CASAD que ingirió fácilmente. Informó que los retortijones y el dolor disminuyeron en aproximadamente 30 minutos y que no se produjo ningún episodio de diarrea. Desde este momento, si tiene un retortijón y/o dolor e ingiere un comprimido de 500 mg de CASAD con al menos 100 ml de agua, no tiene un episodio de diarrea. En un período de 60 días, ingirió cinco comprimidos de 500 mg sin eventos adversos y no informó episodios de diarrea.

Existen las ventajas de usar arcilla de un cierto tamaño de partículas que tiene bajos niveles de metales pesados y dioxinas, incluyendo (a) menor toxicidad; (b) mayor área de superficie para la sorción; (c) mayor área de superficie para el recubrimiento; (d) mayor número de partículas para adjuntar o unir con partículas tóxicas o moléculas en el medio ambiente. Los comprimidos también se disuelven rápidamente en el tracto digestivo.

Las ventajas terapéuticas de usar un CAS de tamaño de partícula pequeño que es bajo en metales pesados tóxicos y dioxinas es que se reduce la toxicidad de la composición en comparación con la arcilla. Los ejemplos han demostrado que algunos niveles de metales pesados y dioxinas están presentes en la arcilla en bruto, pero al analizar el tamaño de las partículas, es posible reducir el nivel de toxinas de manera significativa, disminuyendo la toxicidad y haciendo que el producto sea más seguro. El tamaño de partícula más pequeño tiene el beneficio adicional de aumentar el área de superficie y permitir una mayor adsorción de toxinas causantes de diarrea en el tracto gastrointestinal ("GIT", por sus siglas en inglés). Hay un área de superficie aumentada para recubrir el GIT. Adicionalmente, hay más partículas de CAS que se unen a partículas o moléculas tóxicas en el entorno del GIT.

La forma de dosis de comprimido tiene la ventaja terapéutica de que los comprimidos pueden tragarse y disolverse rápidamente en el estómago. Es deseable tener la disolución del comprimido tan rápido como lo permita el estómago. El CASAD se debe mezclar completamente con los contenidos del GIT. Este sitio de dosis y acción de mezcla le da a CASAD la máxima oportunidad para adsorber sustancias tóxicas en el GIT. Además, el comprimido se puede

administrar con la dosis adecuada.

Ejemplo 6

Los perros con enfermedad hepática tienen una capacidad de desmetilación hepática disminuida. La doxorrubicina es un agente quimioterapéutico que se usa comúnmente para la terapia de perros con neoplasias malignas. El objetivo de este ejemplo fue evaluar el efecto de una dosis única administrada de doxorrubicina sobre la capacidad de desmetilación hepática.

Se realizó un análisis de sangre de desmetilación de ^{13}C -aminopirina en 16 perros antes y después de someterse a quimioterapia con doxorrubicina para la neoplasia maligna. Se tomó una muestra de sangre de referencia de 1 ml, seguida de una inyección intravenosa de 2 mg/kg de ^{13}C -aminopirina y la recolección de otra muestra de 1 ml de sangre a los 45 minutos después de la administración de ^{13}C -aminopirina. Las muestras de sangre se colocaron inmediatamente en tubos Vacutainer que contenían 2 ml de ácido clorhídrico 6M y el porcentaje de dosis de ^{13}C administrado como ^{13}C -aminopirina se determinó en función de la espectrometría de masas de fracciones. Dos semanas después del tratamiento con doxorrubicina, se repitió la prueba sanguínea de desmetilación de ^{13}C -aminopirina de la misma manera y los resultados se compararon con los obtenidos antes de la quimioterapia mediante una prueba t pareada. Se consideró un p -valor de $<0,05$ como estadísticamente significativo.

Los resultados se muestran en la Figura 10. El intervalo de referencia establecido en 45 perros sanos fue de 0,08 a 0,200. Ninguno de los 16 perros mostró ningún efecto secundario clínicamente obvio del análisis de sangre de desmetilación de ^{13}C -aminopirina antes o después de la administración de doxorrubicina. El aclaramiento a los 45 minutos después de la administración de ^{13}C -aminopirina aumentó en todos los perros después del tratamiento con doxorrubicina. La media $\pm$ DE aclaramiento a los 45 minutos después de la administración de ^{13}C -aminopirina fue de $0,0767 \pm 0,0253$ antes de la primera administración de doxorrubicina y se incrementó significativamente 14 días después (antes de la segunda administración de doxorrubicina) a $0,09562 \pm 0,0074$ (valor de $p = 0,0073$).

Los resultados indican que el tratamiento con doxorrubicina en perros conduce a una disminución significativa en la capacidad de desmetilación hepática. No está claro si este daño se produce como un efecto directo sobre el hepatocito durante la administración del fármaco o si se produce como un efecto indirecto de la exposición del hepatocito a metabolitos de doxorrubicina activos e inactivos a través de la recirculación enterohepática. La administración de CASAD reducirá el ciclo enterohepático de la doxorrubicina y los metabolitos, reduciendo así la hepatotoxicidad y la morbilidad del paciente.

Ejemplo 7

El aclaramiento de los inhibidores de la alfa(1)-proteinasa fecal (α -1PI) es un marcador confiable y no invasivo para la enteropatía por pérdida de proteínas en animales y canes. Además, el intestino canino es un buen modelo para el intestino humano, por lo que los resultados de las pruebas en perros pueden considerarse relevantes para los seres humanos. En este ejemplo, se analizaron varios perros. Las muestras fecales se recogieron diariamente durante 3 días después de cada administración de Adriamicina. Se utilizó un ELISA para medir las concentraciones de α -1PI en extractos fecales.

Las muestras fecales estaban disponibles para el análisis después de ambos tratamientos de quimioterapia de 13 perros. Los resultados se muestran en la Tabla 1 a continuación. Las concentraciones de α -1PI fecal, expresadas como micro g/g de heces, no fueron significativamente diferentes después de los dos tratamientos. Sin embargo, las concentraciones de α -1PI fecal (media, mediana, mínima-máxima) fueron significativamente mayores en perros con síntomas gastrointestinales (diarrea, vómitos, pérdida de apetito) que en los perros sin estos síntomas (las casillas con sombra indican episodios sintomáticos).

Tabla 1

Nº de perro	m α -1PI - pd. 1	m α -1PI - pd. 2
1	4,25	0,53
2	0	0
3	6,85	14,26
4	0,47	4 57

(continuación)

Nº de perro	m α -1PI - pd. 1	m α -1PI - pd. 2
5	13,23	1,83

6	0	1,3
7	0	21,29
8	0	0
9	0	0
10	9,38	3,76
11	1,38	1,34
12	2,83	1,7
13	0,7	0,85

El uso de CASAD anulará la inflamación, reducirá la concentración de la concentración de α -1PI fecal en las heces y, por lo tanto, reducirá la morbilidad del paciente. Los resultados de ELISA confirmarán la eficacia de CASAD al mostrar una disminución en el biomarcador α -1PI.

Ejemplo 8

- 5 El curso clínico de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) en perros se caracteriza por exacerbaciones y remisiones espontáneas, lo que dificulta la evaluación de la carga de la enfermedad. Un estudio previo en 58 perros proporcionó la validación de un sistema de puntuación objeto para evaluar la EII en perros y la respuesta al tratamiento.

- 10 Entre los 14 perros con suficiente historial médico y la información de comunicación del propietario, el índice de actividad de la enfermedad intestinal inflamatoria canina (CIBDAI) mostró una buena correlación con la morbilidad del paciente. El CIBDAI es una medida confiable de la actividad inflamatoria en la inflamación intestinal canina y el CIBDAI se puede usar para medir la capacidad de CASAD para tratar o prevenir la enfermedad inflamatoria del intestino canino. La tabla 2 a continuación muestra los resultados del estudio. Los criterios utilizados para la puntuación en la tabla se encuentran en la parte inferior de la tabla. Los perros en el estudio recibieron una dosis de Adriamicina "paliativa" (30 mg/m², IV cada 14 días). Se esperan síntomas relacionados con la inflamación intestinal en menos del
- 15 10% de los perros tratados.

Tabla 2

Nº de perro	Pre Adria 1	Post Adria 1	Pre Adria 2	Post Adria 2
Perro 1	A.0	A.0	A.0	A.2
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.1	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
	Día 21 - El propietario informó evacuación durante 3 días después de Adria nº 2			
Perro 2	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.1	C.0	C.0
	D.0	D.0	D.0	D.2

(continuación)

Nº de perro	Pre Adria 1	Post Adria 1	Pre Adria 2	Post Adria 2
	E.0	E.0	E.0	E.2
	F.0	F.0	F.0	F.0
	Día 21 - Comenzó la diarrea, tratada con Flagyl, resuelta en 2 días			
Perro 3	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.2
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
Perro 4	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.2	F.0	F.0
Perro 5	A.2	ND	ND	ND
	B.0	ND	ND	ND
	C.0	ND	ND	ND
	D.0	ND	ND	ND
	E.0	ND	ND	ND
	F.0	ND	ND	ND
El paciente fue sometido a eutanasia 5 días después del tratamiento inicial debido a complicaciones inducidas por la quimioterapia.				
Perro 6	A.0	A.0	A.0	A.3
	B.1	B.0	B.0	B.3
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
El paciente fue sometido a eutanasia el día 15 por hemoabdomen				
Perro 7	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.0	C.0	C.0

(continuación)

Nº de perro	Pre Adria 1	Post Adria 1	Pre Adria 2	Post Adria 2
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
Perro 8	A.0	A.1	A.0	A.0
	B.0	B.2	B.1	B.2
	C.0	C.2	C.0	C.1
	D.0	D.3	D.0	D.3
	E.0	E.2	E.0	E.2
	F.0	F.0	F.0	F.0
	Día 7 - Diarrea, sin comer, vomitó una vez		Día 21 - Diarrea durante 3 días, sin comer durante 3 días	
Perro 9	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.0	D.1	D.1	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
	El paciente tenía heces blandas consistentes, incluso en las semanas previas al tratamiento.			
Perro 10	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
Perro 11	A.0	A.1	A.0	A.0
	B.1	B.2	B.0	B.0
	C.0	C.2	C.0	C.0
	D.0	D.2	D.0	D.0
	E.0	E.1	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0
	Adria nº 2 retrasado debido a vómitos, diarrea, disminución del apetito y trombocitopenia			
Perro 12	A.0	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.1	C.0	C.1

(continuación)

Nº de perro	Pre Adria 1	Post Adria 1	Pre Adria 2	Post Adria 2
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.1
Perro 13	A.1	A.0	A.0	A.0
	B.0	B.0	B.0	B.0
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.0	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.1
Perro 14	A.0	A.0	A.0	A.1
	B.0	B.0	B.0	B.1
	C.0	C.0	C.0	C.0
	D.1	D.0	D.0	D.0
	E.0	E.0	E.0	E.0
	F.0	F.0	F.0	F.0

Día 21 - Letárgico durante 1 semana después de Adria Nº 2, disminución del apetito

Criterios para la evaluación del índice de actividad de la enfermedad intestinal inflamatoria canina (CIBDAI):

A. Actitud/actividad

0 = normal
1 = ligeramente disminuida
2 = moderadamente disminuida
3 = gravemente disminuida

B. Apetito

0 = normal
1 = ligeramente disminuida
2 = moderadamente disminuida
3 = gravemente disminuida

C. Vómitos

0 = ninguno
1 = ligera (1 episodio/semana)
2 = moderada (2-3 episodios/semana)
3 = grave (>3 episodios/semana)

D. Consistencia de las heces

0 = normal
1 = heces ligeramente blandas o sangre fecal, moco o ambas
2 = heces muy blandas
3 = diarrea acuosa

E. Frecuencia de las heces

0 = normal
1 = ligeramente disminuida (2-3 veces/día)
2 = moderadamente aumentada (4-5 veces/día)
3 = gravemente aumentada (> 5 veces/día)

F. Pérdida de peso

0 = ninguna
1 = ligera (<5 % de pérdida)
2 = moderada (5-10 % de pérdida)
3 = grave (>10 % de pérdida)

Puntuaciones de CIBDAI:

0-3 = enfermedad clínicamente insignificante
4-5 = EII ligera
6-8 = EII moderada
9 o mayor= EII grave

Ejemplo 9

32 perros presentaron diarrea después de la administración de un agente de quimioterapia tal como doxorubicina, cytoxan, vincristina, lomustina y otros por un período mínimo de 48 horas. Se administró CASAD en comprimidos de 500 mg por vía oral a los perros tratados contra cáncer cuatro veces al día (*q.i.d.*). Otros agentes farmacéuticos o medicamentos, como se muestra a continuación, también se administraron a ciertos perros de acuerdo con las Mejores Prácticas Clínicas, utilizando la dosificación habitual y acostumbrada. En la medida permitida por la programación, se administró simultáneamente CASAD y la otra medicación. Después del tratamiento con CASAD, los síntomas clínicos de la diarrea se resolvieron en 24-72 horas en 25 perros. No se observaron interacciones negativas (anorexia, vómitos, náuseas, letargo, anafilaxis) con ningún fármaco adicional en ninguno de los 32 perros. La doxiciclina es un antibiótico de tetraciclina; Clavamox es un antibiótico de penicilina; flagyl es metronidazol, un antibiótico antiinflamatorio de colon; Imodium® es un opioide débil; prednisona es un esteroide. Los resultados se muestran en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3

Nº de perro	CASAD	doxiciclina	clavamox	flagyl	Imodium ®	prednisona	1=resuelta 0= no resuelta	1=interacción 0=no interacción
1	1			1		1	1	0
2	1			1			1	0
3	1			1		1	1	0
4	1					1	1	0
5	1					1	1	0
6	1			1			1	0
7	1			1		1	1	0
8	1		1			1	1	0
9	1			1			1	0
10	1			1			1	0
11	1	1		1		1	1	0
12	1					1	1	0
13	1			1		1	1	0
14	1			1			1	0
15	1			1		1	1	0
16	1	1				1	1	0
17	1	1		1			1	0
18	1					1	1	0
19	1						1	0
20	1			1			1	0
21	1			1	1		1	0
22	1			1		1	1	0
23	1					1	1	0
24	1			1			1	0
25	1			1		1	1	0
26	1	1				1	0	0
27	1			1			0	0
28	1			1		1	0	0
29	1	1		1		1	0	0
30	1					1	0	0
31	1					1	0	0
32	1					1	0	0
	32	5	2	20	1	21	25	0

Ejemplo 10

La cantidad de dioxina presente en la arcilla de CASAD que contiene una variedad de tamaños de partículas y la cantidad de dioxina presente en la arcilla de CASAD después de dimensionarse para contener solo partículas de menos de 80 micrómetros se midió usando GC y un espectrómetro de masas. Antes del dimensionamiento, la arcilla de CASAD contenía las cantidades de dioxinas que se muestran en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4

Analito	Concentración Encontrada (pg/l)	Límite de detección(pg/l)
2,3,7,8-TCDD	--	0,024
1,2,3,7,8-PeCDD	--	0,025
1,2,3,4,7,8-HxCDD	--	0,039
1,2,3,6,7,8-HxCDD	--	0,044
1,2,3,7,8,9-HxCDD	--	0,042
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,121	0,043
Analito	Concentración Encontrada (pg/l)	Límite de detección(pg/l)
OCDD	1,243	0,108
Tetradioxinas Totales	1,284	0,024
Pentadioxinas Totales	1,820	0,025
Hexadioxinas Totales	1,994	0,039
Heptadioxinas Totales	--	0,043

5 Tal como se muestra en la Tabla 4, la arcilla de CASAD antes del dimensionamiento contenía 0,121 pg/l de dioxina heptaclorada (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD) y 1,243 pg/l de dioxina octaclorada (OCDD). Además, el total de tetradioxinas se midió en 1,284 pg/l, el total de pentadioxinas se midió en 1,820, y el total de hexadioxinas se midió en 1,994. Las otras dioxinas analizadas estaban ausentes o en un nivel por debajo del límite de detección del aparato de análisis. Después se dimensionó la arcilla de CASAD para que contuviera solo partículas de menos de 80 micrómetros de tamaño. Se realizó el mismo análisis de contenido de dioxinas. Los resultados se muestran en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5

Analito	Concentración Encontrada (pg/l)	Límite de detección(pg/l)
2,3,7,8-TCDD	--	0,024
1,2,3,7,8-PeCDD	--	0,025
1,2,3,4,7,8-HxCDD	--	0,039
1,2,3,6,7,8-HxCDD	--	0,044
1,2,3,7,8,9-HxCDD	--	0,042
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	--	0,043
OCDD	0,362	0,108
Tetradioxinas Totales	--	0,024
Pentadioxinas Totales	--	0,025
Hexadioxinas Totales	--	0,039
Heptadioxinas Totales	--	0,043

10 Los resultados muestran que el contenido de dioxinas se reduce considerablemente en la arcilla de CASAD que tiene un tamaño de partícula inferior a 80 micrómetros. La única dioxina detectada restante fue la dioxina octaclorada (OCDD), a una cantidad reducida de 0,362 pg/l. Por lo tanto, la arcilla de la presente invención es de menor toxicidad que otras arcillas.

Un experto en la materia aprecia fácilmente que la presente invención está bien adaptada para llevar a cabo los objetivos y obtener los fines y ventajas mencionados, así como los inherentes a los mismos. Por lo tanto, debe ser

evidente que una composición de CASAD en forma de cápsula y de comprimido son diferentes, y estas formas diferentes de dosificaciones orales, así como cualquier otra forma de dosificación, pueden usarse como un procedimiento para prevenir o tratar la intoxicación ambiental por toxinas, cáncer de hígado relacionado, o los síntomas de la diarrea. Adicionalmente, la invención abarca las variaciones de la composición y de los procedimientos. Por ejemplo, las técnicas pueden cambiar a medida que se necesite la fabricación de cantidades mayores de la composición. Los materiales, procedimientos, procesos y técnicas descritos en el presente documento son actualmente representativos de las realizaciones preferidas y pretenden ser ejemplares. Se entiende que un experto en la materia de las ciencias farmacéuticas tendría disponibles muchos libros de referencia farmacéuticos, tal como la 17ª edición de Remington's Pharmaceutical Sciences. Alfonso Gennaro editor, Mack Publishing Company Easton, Pennsylvania 18042, que permitirían modificar y cambiar las formulaciones para las composiciones y procedimiento de la presente invención.

Referencias citadas

Documentos de patentes de los estados unidos

La Patente de Estados Unidos 5.178.832, expedida a Phillips, y col., el 12 de enero de 1993, y titulada "Selective Immobilization and Detection of Mycotoxins in Solution."

La Patente de Estados Unidos 5.165.946 expedida a Taylor, y col., el 24 de noviembre de 1992, titulada "Animal Feed Additive and Method for Inactivating Mycotoxins Present in Animal Feeds."

Otras publicaciones

Remington's Pharmaceutical Sciences 17ª Edición. Alfonso Gennaro editor, Mack Publishing Company Easton, Pennsylvania 18042, Entire Book, páginas 1-1983.

Remington's Pharmaceutical Sciences 17ª Edición. Alfonso Gennaro editor, Mack Publishing Company Easton, Pennsylvania 18042, Capítulo 68, páginas 1278-1321.

Remington's Pharmaceutical Sciences 17ª Edición. Alfonso Gennaro editor, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042, Capítulo 84, páginas 1492-1517.

Yao-Zong Y, Shi-Rong L, Delvaux. Comparative efficacy of diactahedral smectite (Smecta) and a probiotic preparation in chronic functional diarrhea. Dig Liver Dis. 2004;36(12):824-848.

Gonzalez R, de Medina FS, Martinez-Augustin O, y col. Anti-inflammatory effect of diosmectite in hapten-induced colitis in the rat. British Journal of Pharmacology 2004; 141:951-960.

Rateau JG, Morgant G, Droy-Proit MT, y col. A histological, enzymatic and water-electrolyte study of the action of smectite, a mucoprotective clay, on experimental infectious diarrhoea in the rabbit. Current Medical Research and Opinions. 1982;8(4):233-241.

Narkeviciute I, Rudzeviciene O, Leviniene G, y col. Management of Lithuanian Children's Acute Diarrhoea with Gastrolit Solution and Dioctahedral Smectite. European Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2000;4:419-424.

Madkour AA, Madina EM, El-Azzouni, y col. Smectite in Acute Infectious Diarrhea in Children: A double blinded Placebo Controlled Clinical Trial. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 1993;17:176-181.

Samuel MJ. Paediatric Forum: Acute Diarrhea. African Health 1995;17(2):27, 29-30.

Szajeska H, Dziechciarz P, Mrukowicz J. Meta-Analysis: Smectite in the treatment of acute infectious diarrhea in children. Aliment Pharmacol Ther. 2006;23(2):217-227.

Yen ZS, Lai MS. Best Evidence Topic Report. Smectite for Acute Diarrhoea in Children. Emerg Med Journal. 2006;23(1):65-66.

Desjeux JF, Mary JY, Flori YA. Agents for diarrhoea in children. The Lancet 1991;337:924-925.

Weber W. A new suspension form of smectite (Liquid 'Diasob') for the treatment of acute diarrhea: a randomized comparative study. Pharmatherapeutica. 1988;5(2):256-260.

Hombrink J, Frohlich D, Glatzel M, y col. Prevention of radiation-induced diarrhea by smectite. Results of a double blinded randomized, placebo-controlled multicenter study. Strahlenther Onkol. 2000;176(4):173-179.

Ogilvie GK, y col., "Acute and Short-term Toxicoses Associated with the Administration of Doxorubicin to Dogs with Malignant Tumors." Am Vet Med Assoc. 1 de diciembre de 1989; 195(11):1584-7.

Wang J-S, Luo H, Billam M, Wang Z, Guan H, Tang L, Goldston T, Afriyie-Gyawu E, Lovett C, Griswold J, y col.

2005. Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil) in humans. Food Additives and Contaminants 22:270-279.

REIVINDICACIONES

1. Una composición oral para su uso como terapia de apoyo para tratar la diarrea en un sujeto que comprende: una cantidad eficaz de un aluminosilicato de calcio antidiarreico aislado ("CASAD") bajo en sodio, en la que el CASAD bajo en sodio aislado tiene un tamaño de partícula promedio entre 5 y 100 micrómetros, está sustancialmente libre de contaminación con dioxinas y metales pesados tóxicos y tiene una composición química que comprende CaO por encima de aproximadamente 3,2%; MgO que oscila desde 4,0 a 5,4 %; Fe₂O₃ que oscila desde 5,4 a 6,5 %; K₂O que oscila desde 0,50 a 0,90 %; Na₂O que oscila desde 0,10 a 0,30 %; MnO que oscila desde 0,01 a 0,03 %; Al₂O₃ que oscila desde 14,8 a 18,2 %; y SiO₂ que oscila desde 62,4 a 73,5 %; en la que, la composición química se da como porcentaje en peso.
2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la diarrea está asociada con una o más afecciones o enfermedades por tratamiento seleccionadas del grupo que comprende;
 - (a) una enfermedad infecciosa o crónica en el sujeto,
 - (b) una enfermedad o afección que causa inflamación a través de la acción de proteínas inflamatorias en el sujeto, y el CASAD aislado es capaz de unirse a las proteínas inflamatorias,
 - (c) el tratamiento utilizando un fármaco que se metaboliza en metabolitos de fármaco en el sujeto, y el CASAD aislado es capaz de unirse a los metabolitos del fármaco;
 - (d) el tratamiento utilizando un agente quimioterapéutico en el sujeto, y el CASAD aislado es capaz de unirse al agente quimioterapéutico,
 - (e) el tratamiento con doxorrubicina, o
 - (f) el tratamiento utilizando radiación en el sujeto.
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el CASAD aislado tiene un tamaño de partícula promedio que está entre aproximadamente 5 y 50 micrómetros.
4. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el CASAD aislado tiene un pH en el intervalo de aproximadamente 5 a 9 en una suspensión.
5. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el CASAD aislado está en forma de comprimido, polvo, cápsula o suspensión.
6. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende adicionalmente uno o más agentes farmacéuticos o vehículos farmacéuticamente aceptables.
7. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que uno o más agentes farmacéuticos comprenden uno o más antibióticos, agentes quimioterapéuticos, agentes antidiarreicos, esteroides, opioides o antiácidos gástricos.
8. El uso de una cantidad eficaz de una arcilla de aluminosilicato de calcio antidiarreico aislado ("CASAD") bajo en sodio, en la que el CASAD aislado está sustancialmente libre de contaminación con dioxinas y metales pesados tóxicos, en la preparación de un medicamento para terapia de apoyo de los síntomas de la diarrea, en la que el CASAD bajo en sodio aislado tiene un tamaño de partícula promedio entre 5 y 100 micrómetros y tiene una composición química que comprende CaO por encima de aproximadamente el 3,2%; MgO que oscila desde 4,0 a 5,4 %; Fe₂O₃ que oscila desde 5,4 a 6,5 %; K₂O que oscila desde 0,50 a 0,90 %; Na₂O que oscila desde 0,10 a 0,30 %; MnO que oscila desde 0,01 a 0,03 %; Al₂O₃ que oscila desde 14,8 a 18,2 %; y SiO₂ que oscila desde 62,4 a 73,5 %;

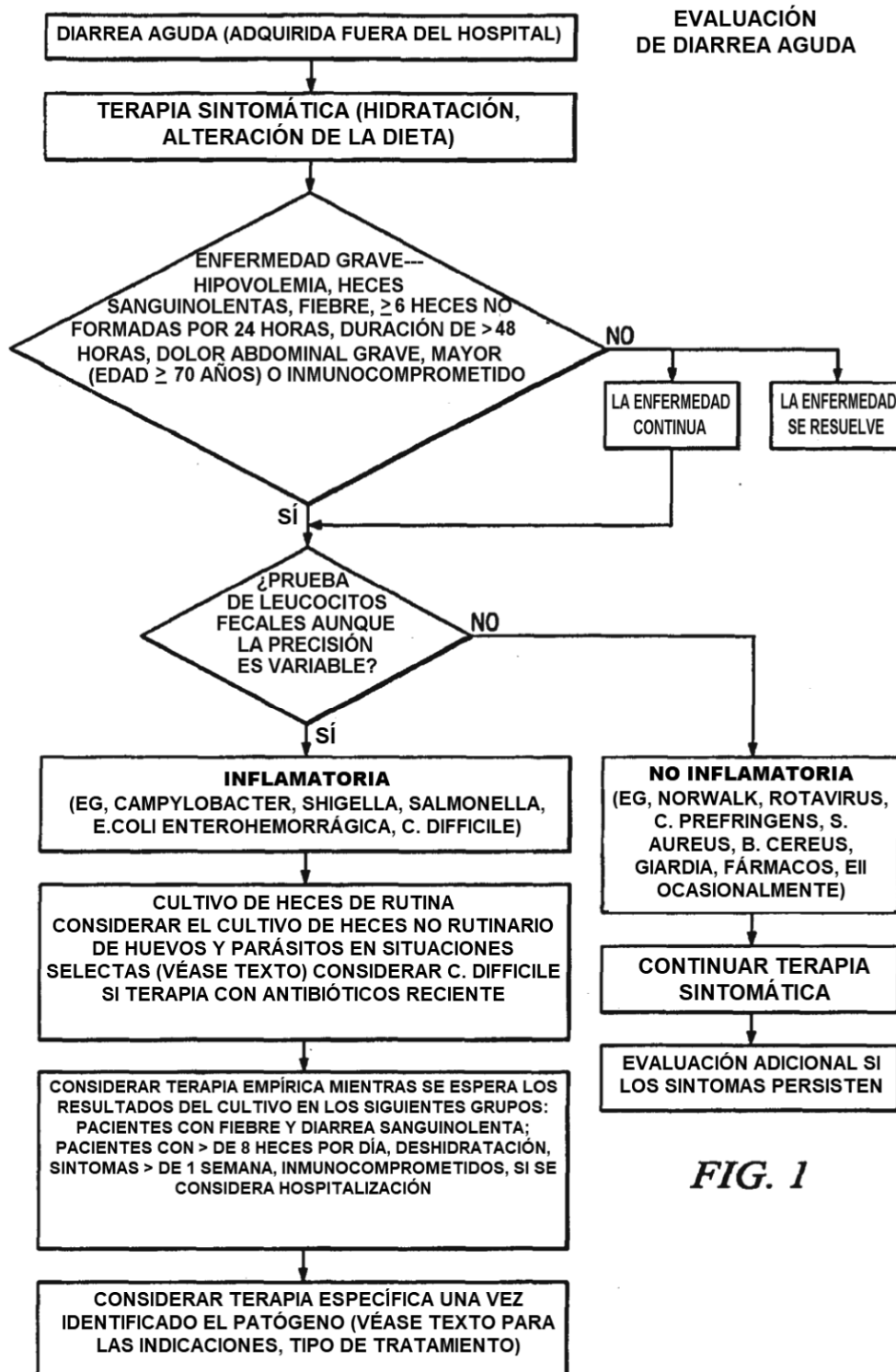


FIG. 1

AGENTES QUE COMUNMENTE CAUSAN ENFERMEDAD GASTROINTESTINAL AGUDA*† BACTERIAS SALMONELLA SHIGELLA CAMPYLOBACTER ESCHERICHY COLI 0157:H7 CLOSTRIDIUM DIFFICILE VIRUS CALCIVIRUS (TIPO NORWALK Y VIRUS RELACIONADOS) ROTAVIRUS ADENOVIRUS TIPOS 40 Y 41 ASTROVIRUS PROTOZOOS GIARDIA CRYPTOSPORIDIUM ENTAMOEBY HISTOLYTICA * ESTOS ORGANISMOS COMUNMENTE CAUSAN INFECCIÓN GASTROINTESTINAL AGUDA EN NIÑOS Y ADULTOS POR LO DEMÁS SANOS EN PAÍSES DESARROLLADOS. LA FRECUENCIA DE INFECCIÓN ES SIMILAR ENTRE DICHOS PAÍSES- POR EJEMPLO, LOS ESTADOS UNIDOS, REINO UNIDO, FRANCIA Y ARGENTINA. • LA ENFERMEDAD SINTOMÁTICA A MENUDO SE PRODUCE EN BEBÉS O NIÑOS MUY PEQUEÑOS. † REPRODUCIDO CON EL PERMISO DE: MUSHERR, DM, MUSER, BL. CONTAGIOUS ACUTE GASTROINTESTINAL INFECTIONS, N ENGL J MED 2004; 351 :2417. COPYRIGHT © 2004 MASSACHUSETTS MEDICAL SOCIETY.
--

FIG. 2

PRINCIPALES CAUSAS DE DIARREA CRÓNICA CLASIFICADA POR CARACTERÍSTICAS DE LAS HECES TÍPICAS †	
DIARREA OSMÓTICA	DIARREA SECRETORA
INGESTIÓN DE Mg PO ₄ , SO ₄	ABUSO DE LAXANTES (LAXANTES NO OSMÓTICOS)
MALABSORCIÓN	SÍNDROMES CONGÉNITOS (CLORIDORREA)
DE CARBOHIDRATOS	TOXINAS BACTERIANAS
DIARREA GRASA	MALABSORCIÓN DEL ÁCIDO BILIAR ILEAL
SÍNDROMES DE MALABSORCIÓN	ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL
ENFERMEDADES DE LAS MUCOSAS	COLITIS ULCEROSA
SÍNDROME DE INTESTINO CORTO	ENFERMEDAD DE CROHN
DIARREA POSTRRESECCIÓN	COLITIS (LINFOCÍTICA) MICROSCÓPICA
CRECIMIENTO EXCESIVO DE BACTERIAS	COLITIS COLAGENOSA
EN EL INTESTINO DELGADO	DIVERTICULITIS
ISQUEMIA MESENTÉRICA	VASCULITIS
INSUFICIENCIA PANCREÁTICA	FÁRMACOS Y VENENOS
EXOCRINA	MOTILIDAD DESORDENADA
ÁCIDO BILIAR LUMINAL INADECUADO	DIARREA POSTVAGOTOMÍA
DIARREA INFLAMATORIA	DIARREA POST SIMPATECTOMÍA
ENFERMEDAD INFLAMATORIA	NEUROPATÍA AUTONÓMICA DIABÉTICA
INTESTINAL	HIPERTIROIDISMO
COLITIS ULCEROSA	SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE
DIVERTICULITIS	TUMORES NEUROENDOCRINOS
YEUÑOILEITIS ULCERATIVA	GASTRINOMA
ENFERMEDADES INFECCIOSAS	VIOMA
COLITIS PSEUDOMEMBRANOSA	SOMATOSTATINOMA
INFECCIONES BACTERIANAS INVASIVAS	MASTOCITOSIS
TUBERCULOSIS, YERSINOSIS, OTRAS	SÍNDROME CARCINOIDE
INFECCIONES VÍRICAS ULCERANTES	CARCINOMA MEDULAR DE TIROIDES
CITOMEGALOVIRUS	NEOPLASIA
HERPES SIMPLE	CARCINOMA DE COLON
AMEBIASIS/OTROS PARÁSITOS	LINFOMA
INVASIVOS	ADENOMA VELLOSO
COLITIS ISQUÉMICA	ENFERMEDAD DE ADDISON
COLITIS POR RADIACIÓN	DIARREA EPIDÉMICA
NEOPLASIA	SECRETORA (BRINERD)
CÁNCER DE COLON	DIARREA SECRETORA IDIOPÁTICA
LINFOMA	
† A PARTIR FINE, KD, SCHILLER, LR, AGA TECHNICAL REVIEW ON THE EVALUATION AND MANAGEMENT OF CHRONIC DIARRHEA, GASTROENTEROLOGY 1999; 116:1464.	

FIG. 3

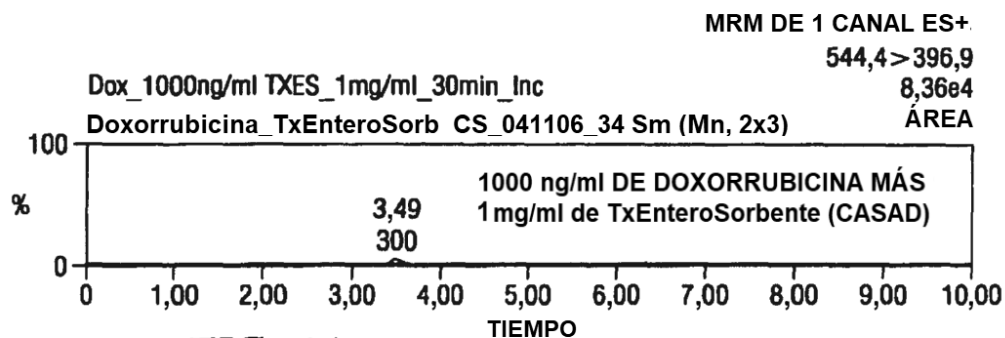


FIG. 4A

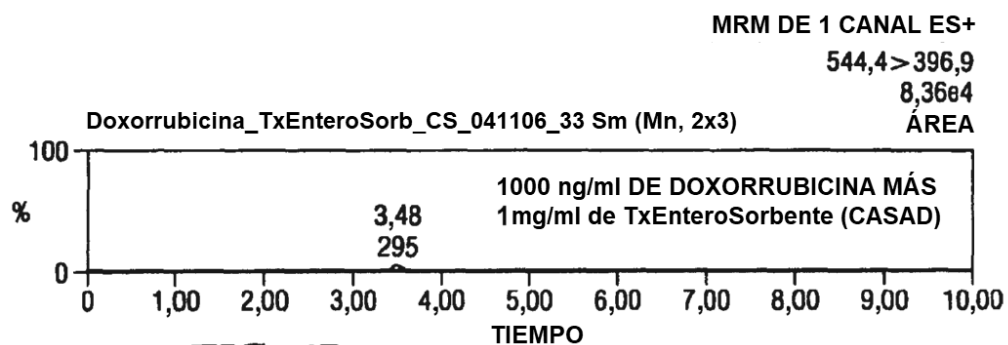


FIG. 4B

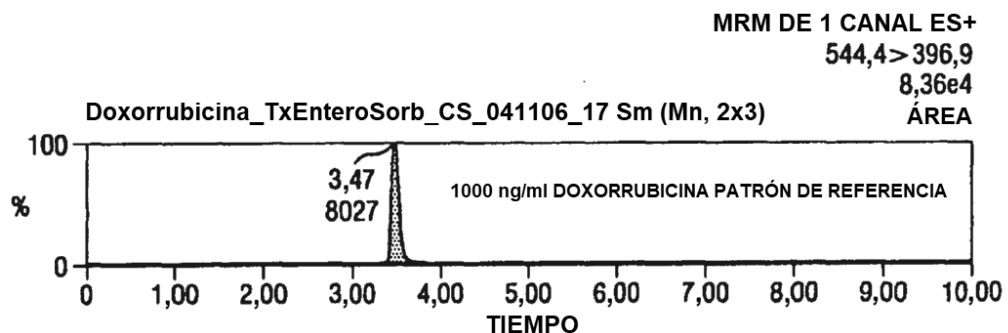


FIG. 4C

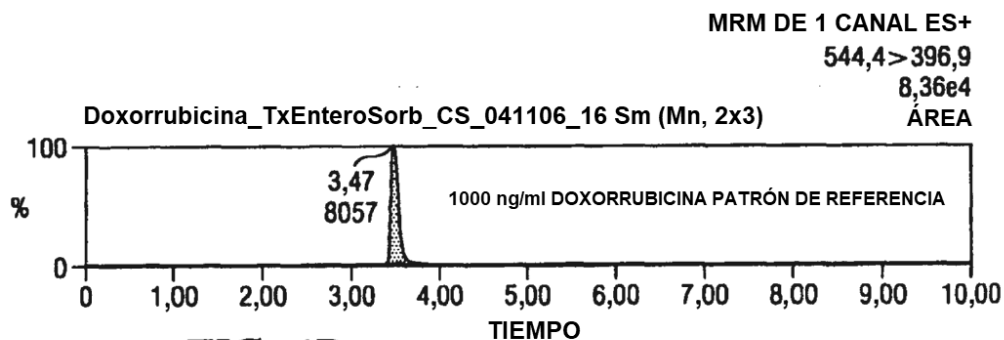
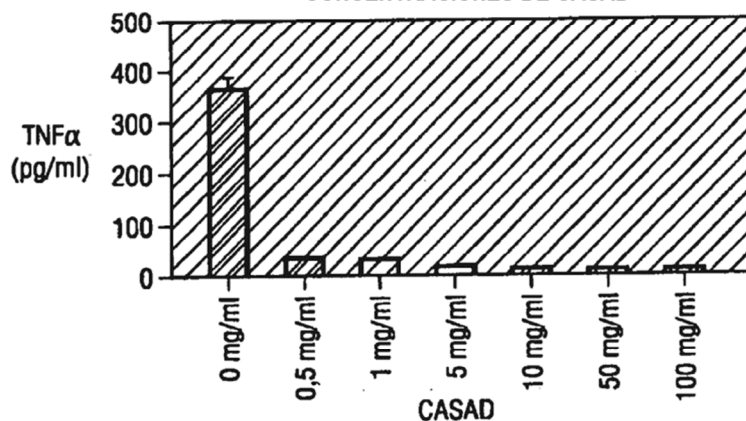


FIG. 4D

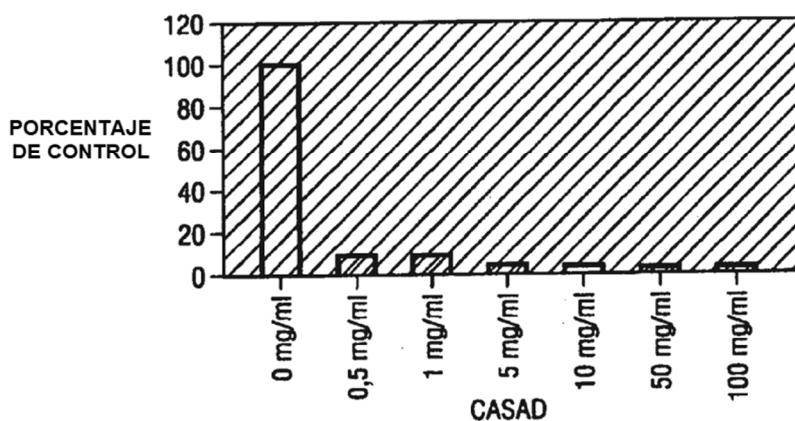
FIG. 5

CONCENTRACIÓN DE DOXORRUBICINA ANTES DE INCUBACIÓN	CONCENTRACIÓN DE DOXORRUBICINA DESPUES DE INCUBACIÓN	REDUCCIÓN DE DOXORRUBICINA CONTENIDO DESPUÉS DE INCUBACIÓN CON CASAD
(ng/ml)	(ng/ml)	(%)
5	0	100
10	0	100
50	BLQ	>99
100	BLQ	>99
500	17,5	96,5
1000	55	94,5

TNF α RECOMBINANTE PRESENTE DESPUÉS
DE LA EXPOSICIÓN A DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE CASAD

**FIG. 6A**

PORCENTAJE DE TNF α RESTANTE DESPUÉS
DE LA EXPOSICIÓN A DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE CASAD

**FIG. 6B**

METALES Y DIOXINAS PRIORITARIOS EN CAS			
CONTAMINANTE ^a (METALES Y DIOXINAS)	CONCENTRACIÓN EN CAS ug/g (ppm) ^b	AMT EN 3g DE DOSIS DE CAS (mg) ^c	JECFA-1998 (mg/día) ^d
Co	1,86	0,0056	0,016
Cr	9,70	0,0291	0,250
Zn	119,26	0,3578	10,000
Mo	<2,00	<0,006	0,110
Se	0,08	0,0002	0,057
Ni	4,00	0,012	0,300
Hg	<0,10	<0,0003	0,043
Pb	13,90	0,0417	0,210
Cd	0,20	0,0006	0,060
As	2,90	0,0087	0,310
DIOXINAS (ppt)	ng/Kg (ppt)	pg/Kg IN-día	pg/Kg IN-día
TCDD, ETC.	ND	----	2,300
OCDD	2,34	0,1003	?

^a METALES TÓXICOS PRIORITARIOS BASADOS EN EPA (SUPERFONDO) Y JUNTO CON CRITERIOS DEL COMITÉ MIXTO FAO/OMS DE EXPERTOS EN ADITIVOS ALIMENTARIOS (JECFA);

^b CONCENTRACION EN EL SN DETERMINADA MEDIANTE ANÁLISIS POR ACTIVACIÓN DE NEUTRONES Y ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA;

^c DOSIS DERIVADA DE METAL EN 3 G DE CAS/DÍA (ASUMIENDO BIODISPONIBILIDAD DE LA CONCENTRACIÓN TOTAL);

^d INGESTA TOLERABLE DE METAL A PARTIR DE ALIMENTOS BASADA EN JECFA.
ND = NO DETECTABLE, CAS= ALUMINOSILICATO DE CALCIO

FIG. 7

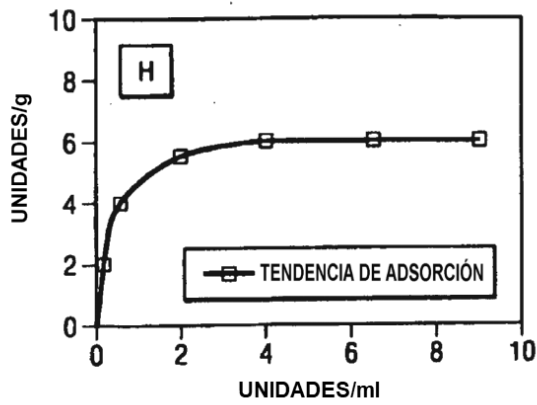


FIG. 8A

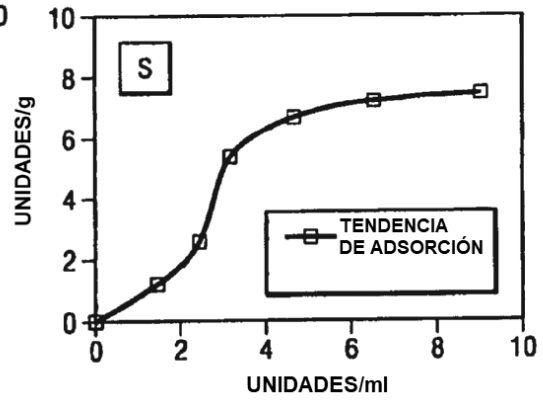


FIG. 8B

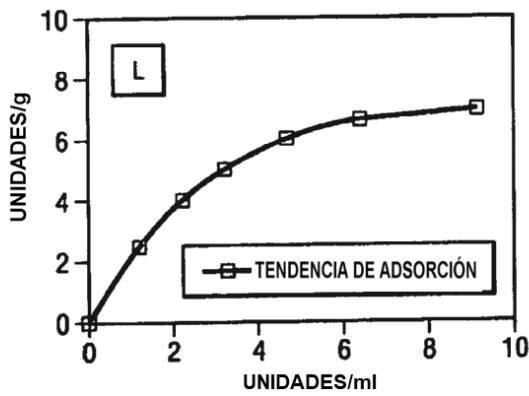


FIG. 8C

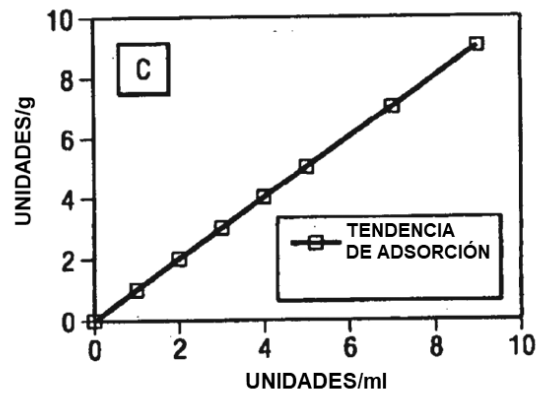


FIG. 8D

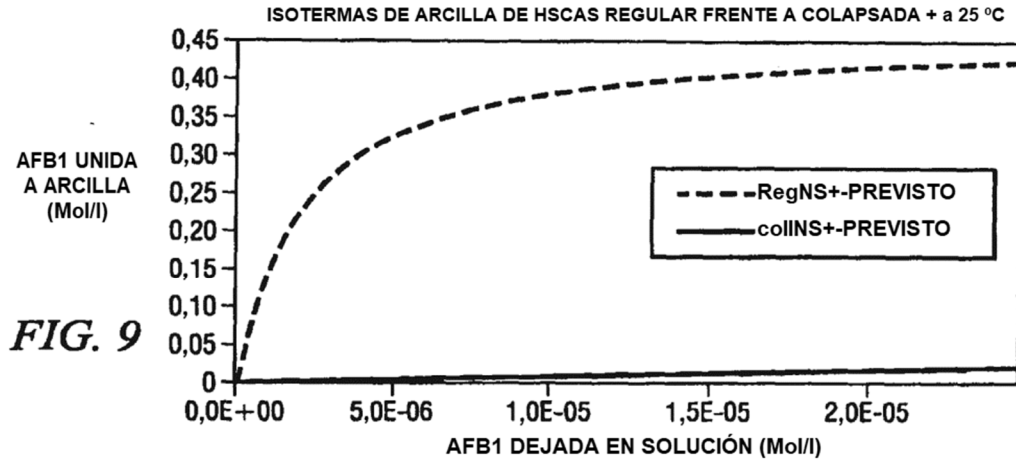


FIG. 9

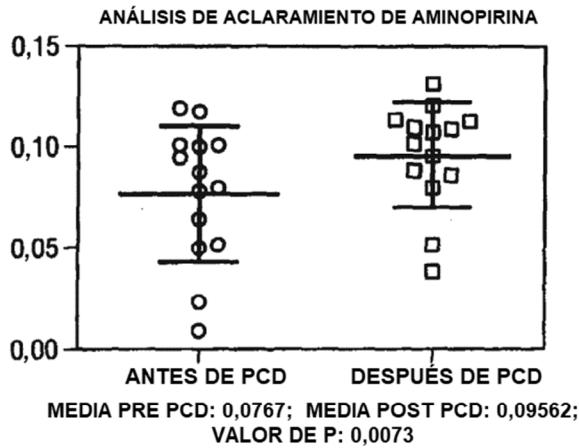


FIG. 10

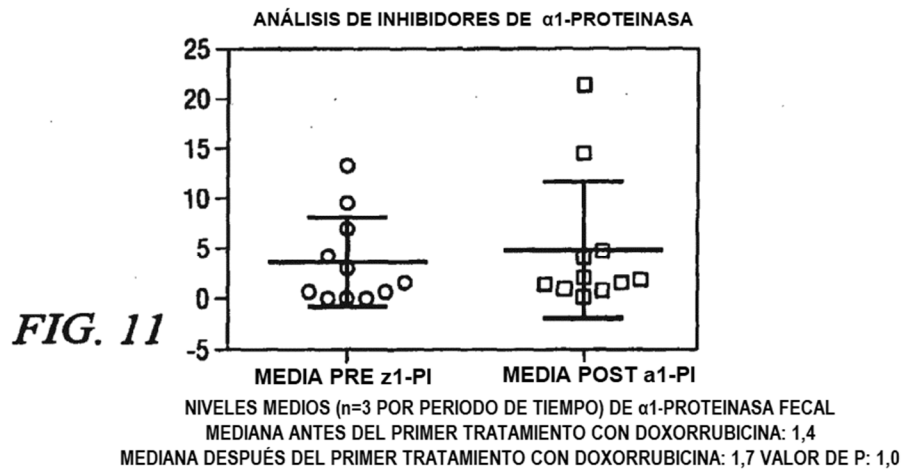


FIG. 11