

MÉTODO PARA PREVENIR O TRATAR LA PÉRDIDA DE LA AUDICIÓN

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con métodos para prevenir o tratar la pérdida de audición y métodos para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La pérdida de audición se relaciona con el daño de las células ciliadas, por ejemplo, apoptosis de las células ciliadas como consecuencia de, por ejemplo, una situación de estrés continuo o un evento traumático, por ejemplo, que conduce a la activación de vías inflamatorias. La pérdida de audición puede ser causada por un trauma de ruido, por una intervención médica, por lesión isquémica, por un estrés no específico que conduce a una pérdida súbita de la audición o por edad o puede inducirse químicamente, en donde la inducción química se origina, por ejemplo, por un antibiótico o un agente quimioterapéutico. La pérdida de audición infantil podría originarse por deficiencias pre o posnatales en la homeostasis energética de las células neurales. La pérdida de audición puede originarse, además, por disfunción mitocondrial. (C. M. Sue PhD, FRACP1, Cochlear origin of hearing loss in MELAS syndrome, Annals of Neurology. Volumen 43, Número 3, págs. 350–359, marzo 1998). Además, se pudo demostrar un vínculo entre el síndrome metabólico y la pérdida de la audición (Barrenäs ML, Jonsson B, Tuvemo T, Hellström PA, Lundgren M, J Clin Endocrinol Metab. agosto 2005;90(8):4452-6. Epub 31 de mayo de 2005). La pérdida de audición puede ser de origen sensorineural originada por un daño que conduce a la desnutrición de las células en el desarrollo temprano del cerebro.

Las células ciliadas están completamente diferenciadas y no se reemplazan después de la muerte celular (sólo unos pocos miles de células desde el nacimiento). Está bien descrito en la literatura que después del estrés y el daño de las células ciliadas, las células pueden entrar en un estado de reposo sin funcionalidad relacionada con el proceso de la audición mientras permanecen viables en un estado de reposo. Los enfoques para estimular el desarrollo o la regeneración de nuevas células ciliadas, por ejemplo, mediante la administración de factores de crecimiento o mediante terapias basadas en células madre para lograr la modificación de la enfermedad, conllevan el riesgo de efectos secundarios protumorigénicos.

La discapacidad auditiva es un importante problema de salud global con profundo impacto social y económico que afecta a más de 275 millones de personas en todo el mundo. La ocurrencia de pérdida de audición está aumentando rápidamente, debido, por ejemplo, al aumento de la exposición al ruido y el envejecimiento de las poblaciones. Sin terapias farmacéuticas aprobadas disponibles hoy en día, la necesidad médica no satisfecha es muy alta. Particularmente existe la necesidad de proporcionar métodos efectivos para la prevención y tratamiento posterior de la pérdida de audición, que consideren el mantenimiento inmediato, así como también, a largo plazo, de efectos preventivos y/o terapéuticos.

10 SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona generalmente con métodos para prevenir o tratar la pérdida de audición y métodos para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas mediante el uso de un agonista del PPAR. La presente invención proporciona métodos que consideran la protección de las células ciliadas del estrés, por ejemplo, del estrés inducido por el ruido o del estrés inducido químicamente, tal como el estrés inducido por un antibiótico o por un agente quimioterapéutico o del estrés inespecífico que puede causar pérdida de audición. Con el uso de los métodos descritos en la presente descripción, puede lograrse el mantenimiento inmediato y subsiguiente a largo plazo del efecto preventivo y/o terapéutico. En un modelo estándar establecido en la investigación de la pérdida de audición, pudo demostrarse que el tratamiento con un agonista del PPAR protege las células ciliadas, que normalmente al exponerse a un antibiótico se destruyeron en 48 horas. La adición del agonista del PPAR antes del reto con antibióticos fue capaz de impedir la apoptosis de las células ciliadas y la muerte celular en una forma dependiente de la dosis. Sin limitación a la teoría, se supone que la prevención o el tratamiento de la pérdida de audición y/o la prevención o inhibición de la degeneración de las células ciliadas o la muerte de células ciliadas se logra mediante uno o más, o una combinación de las siguientes interacciones de vías: mediante reducción del estrés oxidativo y/o mediante regulación por disminución de la vía de la MAPK a través de la prevención de la fosforilación de JNK y/o mediante la restauración de la sensibilidad a la insulina a través de la vía IRS1, la vía AKT, la vía GLUT4 o la vía GSK3, y/o mediante restauración de la funcionalidad ribosómica y/o mediante mejoramiento del contenido o la funcionalidad mitocondrial.

En un primer aspecto, la presente invención se relaciona con un agonista del PPAR para su uso en un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto.

En un aspecto adicional, la presente invención se relaciona con un agonista del PPAR para usar en un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto.

En aún otro aspecto, la presente invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende un agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable para usar en un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto.

En un aspecto adicional, la presente invención se relaciona con un kit para prevenir o tratar la pérdida de audición o prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto, que comprende un agonista del PPAR.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las Figuras 1 A-C muestran la cuantificación del número promedio de células ciliadas que permanecen en las espiras apical, basal y media del órgano de Corti (OC). Aunque el tratamiento con gentamicina (200 μ M) resultó en una reducción consistente del número de células ciliadas de aproximadamente 50 - 70 % en cada segmento, la pioglitazona en ambas concentraciones (2 μ M y 10 μ M) fue capaz de prevenir significativamente la pérdida de células ciliadas dependiente de gentamicina en todas las espiras. Los valores para cada espira se promediaron para los 10 OC usados para cada condición. Se determinaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en OHC e IHC (OHC = célula ciliada externa, IHC = célula ciliada interna) mediante el uso del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba post-hoc de diferencia menos significativa (LSD) (Stat View 5.0). Las diferencias asociadas con los valores de P inferiores a 0.05 se consideraron estadísticamente significativas. Todos los datos se presentan como la media $\pm$ desviación estándar.

La Figura 2 muestra el cambio en los umbrales auditivos promedio en conejillos de indias determinado por la respuesta auditiva del tronco encefálico (ABR) una semana o dos semanas después del reto de ruido frente a los valores antes del tratamiento. Se calcularon los cambios de los umbrales a frecuencias individuales para cada animal mediante sustracción de valores después de ruidos y antes de ruidos. Se determinaron los promedios por grupo en cada frecuencia. Se calculó un cambio del umbral global para cada grupo de tratamiento y punto de tiempo, al promediar los cambios de frecuencia individuales de más de 8 – 20 KHz. Los datos son media $\pm$ desviación estándar * $p < 0.05$.

Las Figuras 3 A-C muestran la cuantificación del número promedio de células ciliadas que permanecen en segmentos definidos en las espiras medio-basal del órgano de Corti (OC). Mientras el tratamiento con gentamicina (50µM) resultó en una reducción consistente del número de células ciliadas de aproximadamente 50 %, tesaglitazar, muraglitazar y ácido fenofibrico fueron todos capaces de prevenir significativamente la pérdida de células ciliadas dependiente de gentamicina. Los valores se promediaron para los 5-7 OC usados para cada condición. Se determinaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en el número de células ciliadas mediante el uso del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba post-hoc de diferencia menos significativa (LSD) (Stat View 5.0). Las diferencias asociadas con los valores de P inferiores a 0.05 se consideraron estadísticamente significativas. Todos los datos se presentan como la media ± desviación estándar. **** = $p \leq 0.001$.

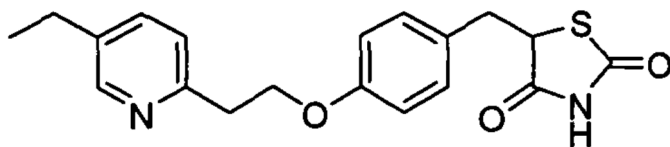
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona métodos para prevenir o tratar la pérdida de audición y métodos para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto.

Con el propósito de interpretar esta descripción, se aplicarán las siguientes definiciones y, cuando sea apropiado, los términos usados en el singular incluirán, además, el plural y viceversa. Debe entenderse que la terminología que se usa en la presente descripción es con el sólo propósito de describir las modalidades particulares y no pretende ser limitante. Los términos "que comprende", "que tiene" y "que incluye" deben interpretarse como términos abiertos (es decir, que significan "que incluyen pero sin limitarse a") a menos que se indique lo contrario.

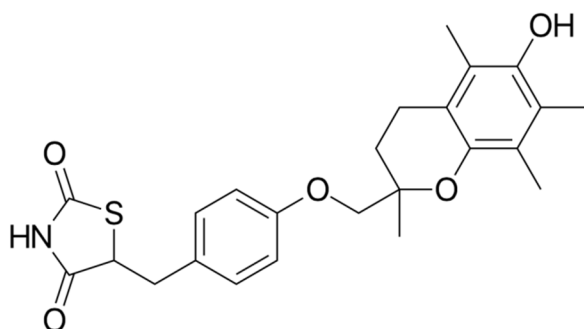
El término "agonista del PPAR" como se usa en la presente descripción se refiere a un fármaco que está activando el receptor proliferador activado de peroxisoma (PPAR) tal como receptor gamma PPAR, receptor alfa PPAR, receptor delta PPAR o combinaciones de estos e incluye agonistas del PPAR gamma tal como, por ejemplo, pioglitazona, troglitazona o rosiglitazona, agonistas del PPAR alfa tal como, por ejemplo, fibratos tales como fenofibrato (ácido fenofibrico), clofibrato o gemfibrozil, agonistas dobles de PPAR (agonistas del PPAR alfa/gamma o del PPAR alfa/delta) tal como, por ejemplo, aleglitazar, muraglitazar, tesaglitazar, ragaglitazar, saroglitazar, GFT505 o naveglitazar, agonistas del PPAR delta tal como, por ejemplo, GW501516, pan agonistas del PPAR (agonista del PPAR alfa/delta/gamma) o moduladores selectivos de PPAR tal como, por ejemplo, INT131 y las sales de estos compuestos. Usualmente se usan en los métodos de la

presente invención los agonistas del PPAR gamma, moduladores de PPAR, agonistas del PPAR alfa y/o agonistas dobles del PPAR alfa/gamma, particularmente se usan en los métodos de la presente invención, los agonistas del PPAR gamma, los agonistas del PPAR alfa y/o agonistas dobles del PPAR alfa/gamma, más particularmente, los agonistas del PPAR gamma se seleccionan del grupo que consiste en pioglitazona, rosiglitazona, troglitazona, preferentemente, pioglitazona, los agonistas del PPAR alfa se seleccionan del grupo que consiste en fenofibrato (ácido fenofibrico), clofibrato y gemfibrozilo, preferentemente, fenofibrato (ácido fenofibrico) y/o agonistas dobles del PPAR alfa/gamma se seleccionan del grupo que consiste en aleglitazar, muraglitazar, tesaglitazar, ragaglitazar, saroglitazar, GFT505 y naveglitazar, preferentemente, muraglitazar o tesaglitazar. Preferentemente se usan agonistas del PPAR gamma en los métodos de la presente invención, con mayor preferencia, agonistas o moduladores de PPAR gamma seleccionados del grupo que consiste en pioglitazona, rosiglitazona, troglitazona, INT 131, se usan aún con mayor preferencia, agonistas del PPAR gamma seleccionados del grupo que consiste en pioglitazona, rosiglitazona y troglitazona. Se usa, con la máxima preferencia, pioglitazona o sus sales, por ejemplo, clorhidrato de pioglitazona. La pioglitazona se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos núm. 4,687,777 o en Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ, Erdmann E, Massi-Benedetti M, Moules IK, Skene AM, Tan MH, Lefèbvre PJ, Murray GD, Standl E, Wilcox RG, Wilhelmsen L, Betteridge J, Birkeland K, Golay A, Heine RJ, Korányi L, Laakso M, Mokán M, Norkus A, Pirags V, Podar T, Scheen A, Scherbaum W, Schernthaner G, Schmitz O, Skrha J, Smith U, Taton J; Investigadores proactivos. Lancet. 8 oct de 2005;366(9493):1279-89, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



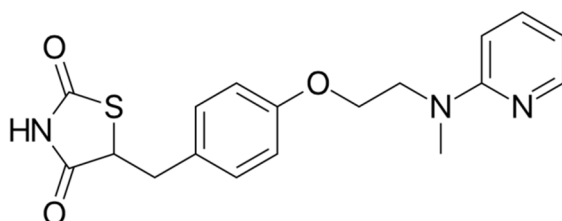
La troglitazona se describe, por ejemplo, en Florez JC, Jablonski KA, Sun MW, Bayley N, Kahn SE, Shamoon H, Hamman RF, Knowler WC, Nathan DM, Altshuler D; Grupo de Investigación del Programa de Prevención de Diabetes. J Clin Endocrinol Metab. Abr, 2007;92(4):1502-9, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:

5



10 La rosiglitazone se describe, por ejemplo, en Nissen SE, Wolski K. N Engl J Med. 14 jun 2007; 356(24):2457-71. Errata en: N Engl J Med. 5 julio 2007; 357(1):100. El fenofibrato se describe, por ejemplo, en Bonds DE, Craven TE, Buse J, Crouse JR, Cuddihy R, Elam M, Ginsberg HN, Kirchner K, Marcovina S, Mychaleckyj JC, O'Connor PJ, Sperl-Hillen JA. Diabetologia. jun 2012; 55(6):1641-50, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:

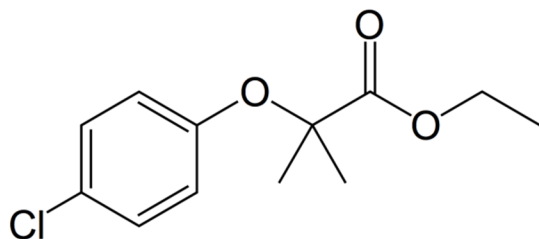
15



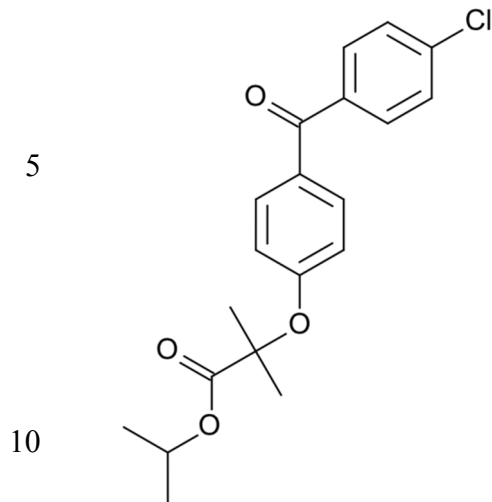
20

El clofibrato se describe, por ejemplo, en Rabkin SW, Hayden M, Frohlich J. Atherosclerosis. oct 1988; 73(2-3):233-40, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:

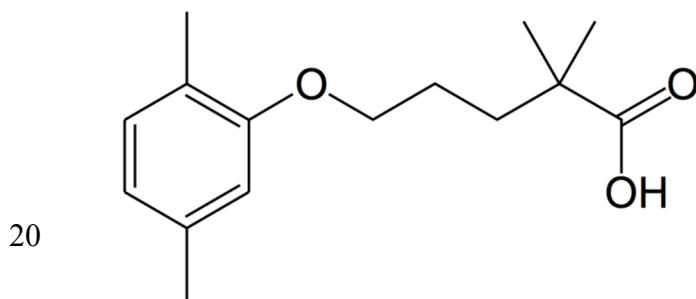
25



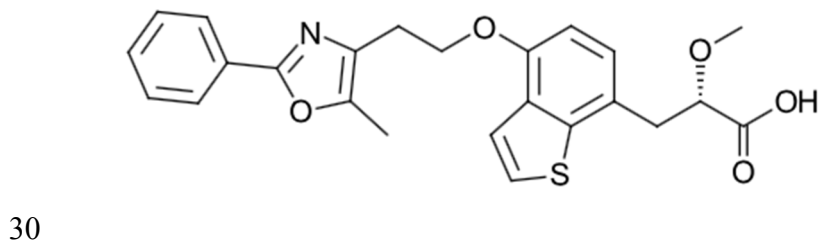
30 El fenofibrato (ácido fenofibrico) se describe, por ejemplo, en Schima SM, Maciejewski SR, Hilleman DE, Williams MA, Mohiuddin SM. Expert Opin Pharmacother. Abr, 2010; 11(5):731-8, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



El gemfibrozil se describe, por ejemplo, en Adabag AS, Mithani S, Al Aloul B, Collins D, Bertog S, Bloomfield HE; Eventos de Veteranos Grupo de Estudio del Ensayo de Intervención de Colesterol de Lipoproteínas de Alta Densidad. Am Heart J. may 2009;157(5):913-8 y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:

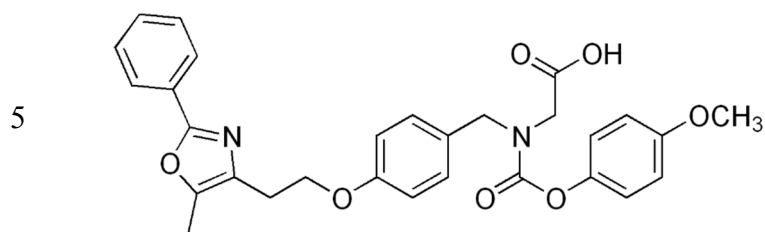


Aleglitazar se describe, por ejemplo, en Lincoff AM, Tardif JC, Schwartz GG, Nicholls SJ, Rydén L, Neal B, Malmberg K, Wedel H, Buse JB, Henry RR, Weichert A, Cannata R, Svensson A, Volz D, Grobbee DE; AleCardio Investigadores. JAMA. 16 Abr, 2014; 311(15):1515-25, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:

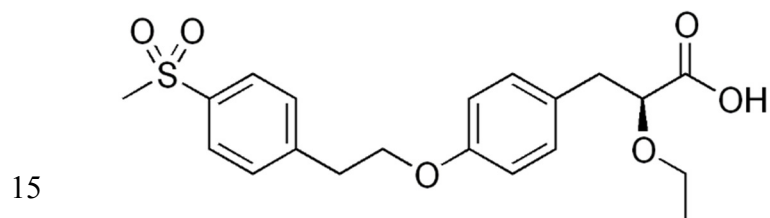


Muraglitazar se describe, por ejemplo, en Fernandez M, Gastaldelli A, Triplitt C, Hardies J, Casolaro A, Petz R, Tantiwong P, Musi N, Cersosimo E, Ferrannini E, DeFronzo RA. Diabetes

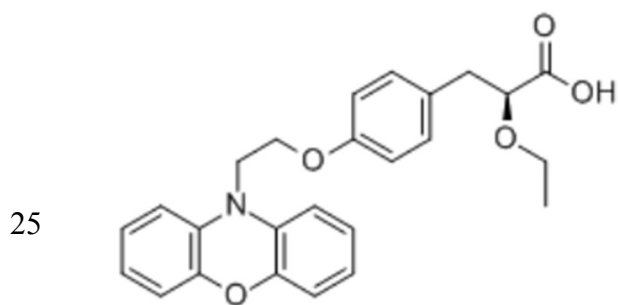
Obes Metab. oct 2011; 13(10):893-902, y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



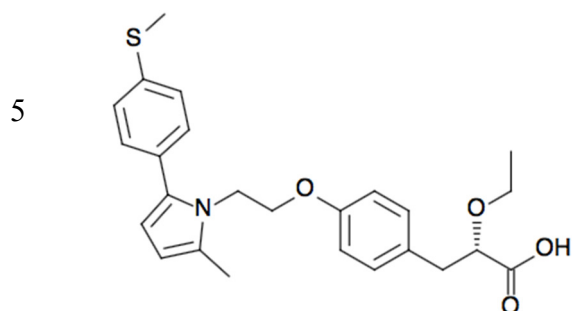
Tesaglitazar se describe, por ejemplo, en Bays H, McElhattan J, Bryzinski BS; Grupo de Estudio
10 GALLANT 6. Diab Vasc Dis Res. Sep 2007;4(3):181-93 y se representa por la fórmula estructural
indicada a continuación:



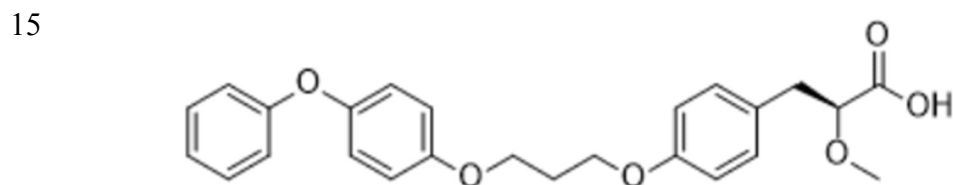
Ragaglitazar se describe, por ejemplo, en Saad MF, Greco S, Osei K, Lewin AJ, Edwards C,
Nunez M, Reinhardt RR; Grupo de Estudio de Escalada de Dosis de Ragaglitazar. Diabetes Care.
20 jun 2004; 27(6):1324-9 y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



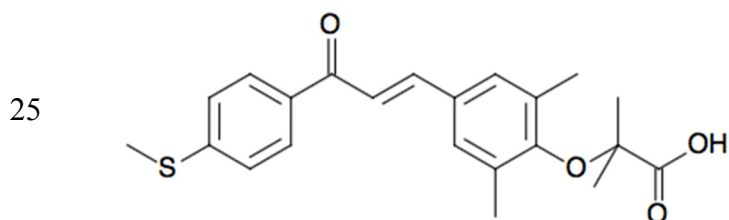
Saroglitazar se describe, por ejemplo, en Agrawal R. Curr Drug Targets. feb 2014; 15(2):151-5. y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



10 Naveglitazar se describe, por ejemplo, en Ahlawat P, Srinivas NR. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. jul-sep 2008; 33(3):187-90. GW501516 se describe, por ejemplo, en Wang X, Sng MK, Foo S, Chong HC, Lee WL, Tang MB, Ng KW, Luo B, Choong C, Wong MT, Tong BM, Chiba S, Loo SC, Zhu P, Tan NS. J Control Release. 10 ene 2015; 197:138-47 y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



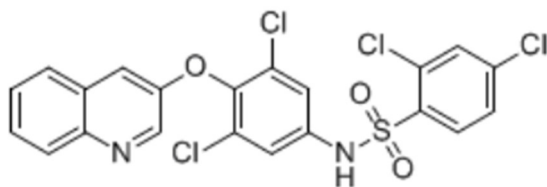
20 GFT505 se describe, por ejemplo, en Cariou B, Staels B. Expert Opin Investig Drugs. oct 2014; 23(10):1441-8 y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:



30 INT131 se describe, por ejemplo, en Taygerly JP, McGee LR, Rubenstein SM, Houze JB, Cushing TD, Li Y, Motani A, Chen JL, Frankmoelle W, Ye G, Learned MR, Jaen J, Miao S, Timmermans PB, Thoolen M, Kearney P, Flygare J, Beckmann H, Weiszmann J, Lindstrom M, Walker N, Liu J,

Biermann D, Wang Z, Hagiwara A, Iida T, Aramaki H, Kitao Y, Shinkai H, Furukawa N, Nishiu J, Nakamura M. Bioorg Med Chem. 15 feb 2013; 21(4):979-92 y se representa por la fórmula estructural indicada a continuación:

5



La activación del PPAR por el agonista de PPAR es usualmente fuerte en el intervalo nanomolar
bajo a un intervalo micromolar bajo, por ejemplo en un intervalo de 0.1 nM a 100 µM. En algunas
modalidades la activación del PPAR es débil o parcial, es decir, se usa un agonista del PPAR en
los métodos de la presente invención que produce una activación máxima del receptor PPAR en un
sistema de ensayo indicador de 10 % a 100 % en comparación con un agonista del PPAR de
referencia que se sabe que causa una activación máxima del PPAR. El objetivo preferido para la
interacción del agonista del PPAR es la célula ciliada, que es la más preferida, las células neurales
y las células endoteliales, e incluye, además, adipocitos, hepatocitos, células inmunitarias tales
como, por ejemplo, macrófagos o células dendríticas o células de músculo esquelético.

El término "pérdida de audición" que se usa en la presente descripción indistintamente con el
término "deficiencia de audición" se refiere a una sensibilidad disminuida a los sonidos
normalmente oídos por un sujeto. La gravedad de una pérdida de audición se clasifica de acuerdo
con el aumento de volumen por encima del nivel habitual necesario antes de que el oyente pueda
detectarlo. El término "pérdida de audición", como se usa en la presente descripción, incluye la
pérdida súbita de la audición (SHL), que se indica, además, en la literatura como "pérdida de
audición súbita neurosensorial". La SHL se refiere a una enfermedad que se caracteriza por una
pérdida de audición neurosensorial rápida, súbita, principalmente en un oído sin causas obvias,
acompañada normalmente con mareos y sin sintomatología vestibular. La SHL se define como
una reducción de la audición superior a 30 dB, sobre al menos tres frecuencias contiguas que
sucede durante un período de 72 horas o menos. La SHL puede originarse, por ejemplo, por estrés
inespecífico.

La pérdida de audición, como se refiere en la presente descripción, se define como una
disminución de la capacidad de escuchar sonidos como lo hacen otras personas. Esto puede

originarse ya sea por pérdida de audición conductiva, pérdida de audición neurosensorial o una combinación de ambos.

La pérdida de audición conductiva significa que las vibraciones no están pasando desde el oído externo al oído interno, específicamente la cóclea. Esto puede ser debido a una acumulación
5 excesiva de cerumen, oído adherido, una infección del oído con inflamación y acumulación de líquido, un tímpano perforado, o un mal funcionamiento de los osículos (huesos en el oído medio). Además, el tímpano puede estar defectuoso.

La pérdida de audición neurosensorial se origina por una disfunción del oído interno, la cóclea, el nervio auditivo o el daño cerebral. Usualmente, este tipo de pérdida de audición se debe al daño de
10 las células ciliadas en la cóclea.

La pérdida de audición, como se refiere en la presente descripción, es usualmente pérdida de audición neurosensorial o una combinación de pérdida de audición conductiva y pérdida de audición neurosensorial. La pérdida de audición neurosensorial puede relacionarse con la edad, con una exposición aguda o constante al ruido o a sustancias químicas, a un trauma cerebral o a un
15 estrés no específico que puede conducir a una pérdida súbita de la audición.

El término "degeneración de células ciliadas", como se usa en la presente descripción, se refiere a una pérdida gradual de la función e integridad de las células ciliadas y/o conducción finalmente a la muerte de células ciliadas.

El término "muerte de células ciliadas" como se usa en la presente descripción se refiere a la apoptosis de las células ciliadas en el oído interno.
20

Los términos "identificación del daño de las células ciliadas" o "detección del daño de las células ciliadas" que se usan indistintamente en la presente descripción se refieren a un método mediante el cual puede determinarse el grado de daño de las células ciliadas en el oído interno. Tales métodos se conocen en la técnica y comprenden, por ejemplo, la imagenología fluorescente de las
25 células ciliadas, como se describe en los ejemplos. Un audiograma que demuestra pérdida de la sensibilidad auditiva a frecuencias de moderadas a altas es indicativo, además, de daños en las células ciliadas. Una disminución del potencial auditivo sin recuperación posterior es además un diagnóstico de daño en las células ciliadas.

El término "pérdida de la audición inducida químicamente" o "pérdida de la audición inducida por una sustancia química" como se refiere en la presente descripción, se refiere a la pérdida de
30 audición que se induce y/o se origina por agentes químicos tales como disolventes, gases, pinturas, metales pesados y/o medicamentos que son ototóxicos.

El término nivel de presión sonora (SPL) o nivel de presión acústica como se refiere en la presente descripción es una medida logarítmica de la presión sonora efectiva de un sonido con respecto a un valor de referencia.

5 El nivel de presión sonora, denominado L_p y medido en dB, por encima de un nivel de referencia estándar, está dado por:

$$L_p = 10 \log_{10} (p_{rms}^2/p_0^2) = 20 \log_{10} (p_{rms}/p_0) \text{ dB(SPL)}$$

10 donde p_{rms} es la raíz cuadrática de la presión sonora, medida en Pa y p_0 es la presión sonora de referencia, medida en Pa. La presión sonora de referencia comúnmente usada en el aire es $p_0 = 20 \mu\text{Pa}$ (Root Mean Squared) o $0.0002 \text{ dinas/cm}^2$, que usualmente se considera el umbral del oído humano.

15 El término "portador farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente descripción, se refiere a un portador o excipiente o diluyente que es adecuado para uso con seres humanos y/o animales sin efectos secundarios adversos indebidos (tales como toxicidad, irritación y respuesta alérgica) correspondiente a una razón de beneficio razonable/riesgo. Puede ser un disolvente, agente de suspensión o vehículo farmacéuticamente aceptables, para suministrar los compuestos instantáneos al sujeto.

20 El término "individuo", "sujeto" o "paciente" se usan, en la presente descripción, indistintamente. En ciertas modalidades el sujeto es un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero sin limitarse a primates (que incluyen los primates humanos y no humanos). En una modalidad preferida, el sujeto es un ser humano.

El término "aproximadamente" como se usa en la presente descripción se refiere a $\pm 5 \%$ de una medida dada.

25 En un aspecto, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para su uso en un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto. En un aspecto adicional de la invención, la presente invención proporciona un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto, cuyo método comprende administrar al sujeto un agonista del PPAR. En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto en una cantidad que es suficiente para
30 prevenir o tratar la pérdida de audición en el sujeto. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un agonista del PPAR para la fabricación de un medicamento para la prevención o tratamiento de la pérdida de audición en un sujeto.

En algunas modalidades preferidas, la pérdida de audición que debe evitarse o tratarse mediante los métodos de la presente invención, se origina por un trauma por ruidos, por una intervención médica, por lesión isquémica, por la edad o se induce químicamente. La pérdida de audición puede ser así una consecuencia de una intervención médica tal como, por ejemplo, el implante coclear.

5 La inducción química se origina, usualmente, por un agente químico, por ejemplo, por un antibiótico o un agente quimioterapéutico. En algunas modalidades preferidas, la pérdida de audición es pérdida de audición súbita. La pérdida de audición originada por la edad comprende, por ejemplo, presbiacusia. Preferentemente, la pérdida de audición originada por un trauma por ruidos, implante coclear, o que se induce químicamente, preferentemente por un antibiótico, se
10 previene o trata mediante los métodos de la presente invención. Con mayor preferencia, la pérdida de audición originada por un trauma por ruidos o que se induce químicamente, preferentemente por un antibiótico, se previene o trata mediante los métodos de la presente invención. En algunas modalidades, la pérdida de audición es de origen sensorineural originada por un daño que conduce a la desnutrición de las células en el desarrollo temprano del cerebro. En este caso, el
15 tratamiento precoz con un agonista del PPAR puede ser modificador de la enfermedad mediante la prevención de un daño adicional.

En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra antes de que el sujeto haya desarrollado o antes de que esté en riesgo de desarrollar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas, muerte de células ciliadas y/o una afección caracterizada por daño en las células
20 ciliadas. En algunas modalidades, el agonista de PPAR se administra después de que el sujeto ha adquirido pérdida de audición, degeneración de células ciliadas, muerte de células ciliadas y/o una condición caracterizada por daño a células ciliadas.

Otras enfermedades, trastornos o afecciones que se relacionan o se originan o se caracterizan por la degeneración de las células ciliadas y/o la muerte de las células ciliadas y que pueden prevenirse o
25 tratarse mediante los métodos de la presente invención son, por ejemplo, la enfermedad de Meniere, vestibulopatía periférica aguda y tinnitus.

Así, en algunas modalidades, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para su uso en un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto, en donde la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas se
30 relaciona y/o se origina por la enfermedad de Meniere, vestibulopatía periférica aguda y/o tinnitus.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para usar en un método para prevenir o tratar la enfermedad de Meniere en un sujeto.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para usar en un método para prevenir o tratar la vestibulopatía periférica aguda en un sujeto.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para su uso en un método para prevenir o tratar el tinnitus en un sujeto.

5

Pérdida de la audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas originadas por un trauma por ruido o por intervención médica

La exposición a ruidos fuertes origina pérdida de audición inducida por el ruido (NIHL) mediante daño de los órganos de Corti. El daño por la NIHL depende tanto del nivel del ruido como de la duración de la exposición. La pérdida de audición puede ser temporal (cambio de umbral temporal, TTS) si un mecanismo de reparación es capaz de restaurar el órgano del Corti. Sin embargo, se convierte en permanente (cambio de umbral permanente, PTS) cuando las células ciliadas o las neuronas mueren. Las modificaciones estructurales correlacionadas con el trauma por ruido son de dos tipos: (1) daño leve de las sinapsis y/o estereocilios de las células ciliadas que puede repararse por mecanismos de reparación celular y explica el TTS y la recuperación y (2) daño severo que induce la apoptosis neuronal y de las células ciliadas que no puede repararse por mecanismos de reparación celular y explica el PTS.

Un trauma por ruido, como se refiere en la presente descripción, es un ruido que es suficiente para causar daño a los órganos de Corti, particularmente un trauma por ruido que origina pérdida de audición temporal o permanente. Un trauma por ruido puede originarse por la exposición a un nivel de presión sonora de al menos 70 dB (SPL), al menos 90 dB (SPL), al menos 100 dB (SPL), al menos 120 dB (SPL) o al menos 130 dB (SPL).

La pérdida de audición puede originarse, además, por una intervención médica usualmente por una intervención médica en el oído, por ejemplo, mediante cirugía de la cóclea, tal como el implante coclear.

En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra antes de que el sujeto se exponga a un trauma por ruido o intervención médica. En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra después de que el sujeto se expone a un trauma por ruido o intervención médica. En una modalidad particular, el agonista del PPAR se administra antes de la cirugía coclear, es decir, antes de que el sujeto se someta a cirugía coclear.

Pérdida de la audición, degeneración de las células ciliadas o muerte de las células ciliadas por la edad

La pérdida de audición originada por la edad referida además en la literatura como "pérdida de audición relacionada con la edad" es el efecto acumulativo del envejecimiento en la audición.

5 Normalmente es una pérdida de audición progresiva, bilateral, simétrica, sensorineural relacionada con la edad. La pérdida de audición es más marcada a frecuencias más altas. Existen cuatro tipos patológicos de pérdida de audición originada por la edad:

1) sensorial: se caracteriza por la degeneración de los órganos de Corti. 2) neural: se caracteriza por la degeneración de las células del ganglio espiral. 3) estriado/metabólico: se caracteriza por
10 atrofia de estrías vasculares en todas las espiras de la cóclea. 4) conducto coclear: debido al endurecimiento de la membrana basilar, lo que afecta así su movimiento.

La pérdida de la audición originada por la edad para prevenirse o tratarse por los métodos de la presente invención se relaciona, usualmente, con el primer tipo patológico, es decir, pérdida de audición caracterizada por degeneración del órgano de Corti. Así, en algunas modalidades, el
15 agonista del PPAR se administra al sujeto antes de la degeneración del órgano de Corti, por ejemplo antes del daño o apoptosis de las células ciliadas y/o antes de la degeneración de las células ciliadas o la muerte de las células ciliadas.

Pérdida de audición químicamente inducida, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas

20 La pérdida de audición, la degeneración de las células ciliadas o la muerte de las células ciliadas puede inducirse químicamente, es decir, mediante un agente químico, por ejemplo, un antibiótico, un fármaco, un agente quimioterapéutico, metales pesados o agentes orgánicos. Los antibióticos que pueden causar pérdida de audición incluyen por ejemplo cefalosporinas tales como cefalexina
25 (Keflex), cefaclor (Ceclor) y cefixima (Suprax); Aminoglucósidos tales como gentamicina, tobramicina y estreptomina; Macrólidos, tales como eritromicina, azitromicina (Zithromax) y claritromicina; Sulfonamidas tales como trimetoprim-sulfametoxazol o tetraciclinas tales como tetraciclina o doxiciclina. Particularmente, la pérdida de audición, la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas se previene o trata eficazmente mediante los métodos de la
30 presente invención en un sujeto expuesto a gentamicina.

Los agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, agentes anticancerígenos que pueden originar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas, incluyen, por

ejemplo, agentes que contienen platino, por ejemplo cisplatino y carboplatino, preferentemente cisplatino. Los fármacos que pueden originar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas incluyen, por ejemplo, furosemida, quinina, aspirina y otros salicilatos. Los metales pesados que pueden causar pérdida de audición incluyen, por ejemplo, mercurio, plomo. Los agentes orgánicos que pueden originar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas incluyen, por ejemplo, tolueno, xileno o estireno. En algunas modalidades, el agonista PPAR se administra al sujeto antes de exponer al sujeto a un agente químico, impidiendo de este modo al sujeto una pérdida de audición inducida químicamente, una degeneración de las células ciliadas o una muerte de células ciliadas. En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto después de que el sujeto se expone a un agente químico, lo que trata de este modo al sujeto que tiene pérdida de audición inducida químicamente, degeneración de células ciliadas o muerte células ciliadas.

En una modalidad preferida, cuando la pérdida de audición se origina por un trauma por ruido o se induce químicamente, el agonista del PPAR se administra al sujeto antes de la exposición del sujeto al trauma por ruido o al producto químico, en donde se previene al menos 50 %, preferentemente al menos 60 %, con mayor preferencia al menos 70 %, particularmente al menos 80 %, más particularmente al menos 90 % del daño celular de las células ciliadas originado por el trauma por ruido o el agente químico.

En un aspecto de la invención, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para su uso en un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto. En un aspecto adicional de la invención, la presente invención proporciona un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto, cuyo método comprende administrar al sujeto un agonista del PPAR. En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto en una cantidad que es suficiente para prevenir o inhibir la degeneración de las células ciliadas o la muerte de las células ciliadas en el sujeto. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un agonista del PPAR para la fabricación de un medicamento para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto.

En algunas modalidades, la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto se origina por un trauma por ruido, por la edad, por una intervención médica, por pérdida de audición súbita o eventos isquémicos tales como lesión isquémica, o se induce químicamente en donde la inducción química se origina, por ejemplo, por un antibiótico o un agente

quimioterapéutico. El trauma por ruido, la edad, una intervención médica, una pérdida de audición súbita o eventos isquémicos, o la inducción química pueden originar degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas en un sujeto como se describió anteriormente para los métodos para prevenir o tratar la pérdida de audición.

- 5 En algunas modalidades, la pérdida de audición, la degeneración de las células ciliadas o la muerte de las células ciliadas se origina por el daño de las células ciliadas. En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto antes de la identificación de dicho daño de las células ciliadas, es decir, antes de la aparición del daño en las células ciliadas. En una modalidad preferida, cuando el daño de las células ciliadas se origina por un trauma por ruido o se induce químicamente,
- 10 el agonista del PPAR se administra al sujeto antes de la exposición del sujeto al trauma por ruido o al producto químico, en donde se previene al menos 50 %, preferentemente al menos 60 %, con mayor preferencia al menos 70 %, particularmente al menos 80 %, más particularmente al menos 90 % del daño celular de las células ciliadas originado por el trauma por ruido o el agente químico. La identificación/aparición del daño de las células ciliadas se determina, usualmente, mediante la
- 15 evaluación del estado de las células ciliadas que puede realizarse fácilmente como se ha descrito anteriormente o como se describe en los ejemplos.

Composiciones farmacéuticas para uso en los métodos de la invención

- En la presente descripción se proporcionan, además, composiciones farmacéuticas que incluyen un
- 20 agonista del PPAR y, por ejemplo, un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables para uso en los métodos descritos en la presente descripción. Así, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para usar en un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto, en donde el agonista del PPAR se administra al sujeto como una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente,
- 25 excipiente o portador farmacéuticamente aceptables. Además se proporciona por la presente invención una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables para usar en un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto. En algunas modalidades la composición farmacéutica se administra al sujeto en una cantidad que es suficiente para prevenir o tratar la pérdida de audición
- 30 en el sujeto. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto, cuyo método comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o

portador farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades la composición farmacéutica se administra al sujeto en una cantidad que es suficiente para prevenir o tratar la pérdida de audición en el sujeto. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar la pérdida de audición en un sujeto.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un agonista del PPAR para usar en un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto, en donde el agonista del PPAR se administra al sujeto como una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables. Además se proporcionan por la presente invención composiciones farmacéuticas que comprenden el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables para usar en un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto. En algunas modalidades, la composición farmacéutica se administra al sujeto en una cantidad que es suficiente para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en el sujeto. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto, cuyo método comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades la composición farmacéutica se administra al sujeto en una cantidad que es suficiente para prevenir o tratar la pérdida de audición en el sujeto. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de una composición farmacéutica que comprende el agonista del PPAR y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para prevenir o inhibir la degeneración de las células ciliadas o la muerte de las células ciliadas en un sujeto.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas incluyen otros agentes medicinales o farmacéuticos, diluyentes, excipientes, portadores, adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de soluciones, sales para regular la presión osmótica, y/o tampones. Los diluyentes son, por ejemplo, agua, glicoles, aceites o alcoholes. Los portadores son, por ejemplo, almidones o azúcares. Los excipientes son, por

ejemplo, sustancias surfactantes, emulsionantes, estabilizadores, conservantes, saborizantes o cargas.

En otras modalidades, las composiciones farmacéuticas contienen, además, otras sustancias terapéuticas. Opcionalmente, en las composiciones farmacéuticas se incluyen agentes
5 otoprotectores, tales como antioxidantes, ácido alfa lipoico, calcio, fosfomicina o quelantes de hierro, para contrarrestar los posibles efectos ototóxicos que pueden surgir del uso de agentes terapéuticos específicos o excipientes, diluyentes o portadores.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas incluyen un colorante para ayudar a mejorar la visualización de la composición farmacéutica cuando se aplica. En otras modalidades,
10 las composiciones farmacéuticas incluyen, además, uno o más agentes de ajuste del pH o agentes tamponadores para proporcionar un pH adecuado de endolinfa o perilinfa. Los agentes de ajuste del pH o tampones adecuados incluyen, pero sin limitarse a, acetato, bicarbonato, cloruro de amonio, citrato, fosfato, sales farmacéuticamente aceptables de estos o combinaciones o mezclas de estos. Tales agentes de ajuste del pH y tampones se incluyen en una cantidad necesaria para
15 mantener el pH de la composición entre un pH de aproximadamente 5 y aproximadamente 9, en una modalidad preferida, un pH entre aproximadamente 6.5 y aproximadamente 7.5.

Modos de Administración y Tratamiento

Los fármacos administrados al oído interno y/o al oído medio se han administrado
20 sistemáticamente a través de las vías oral, intravenosa o intramuscular. El agonista del PPAR o la composición farmacéutica usada en los métodos descritos en la presente descripción se administra usualmente oralmente, tópicamente en el oído o mediante inyección en el oído interno y/o en el oído medio, preferentemente mediante inyección en el oído medio. Para algunas vías de administración, por ejemplo para inyección en el oído interno y/o en el oído medio, se puede usar
25 un sistema de liberación sostenida. En algunas vías de administración, la penetración del ingrediente activo se facilita mediante potenciadores de transporte como, por ejemplo, ácido hialurónico, DMSO. En algunas vías de administración, particularmente cuando el agonista del PPAR o la composición farmacéutica se administra por inyección en el oído interno y/o en el oído medio, se usa una formulación tixotrópica o termogelificante para permitir una administración
30 indolora y formar un gel o una composición altamente viscosa que garantiza una liberación prolongada y continua del ingrediente activo dentro del oído interno y/o en el oído medio. En algunas vías de administración, particularmente cuando el agonista del PPAR o la composición

farmacéutica se administra como gotas óticas, puede usarse una formulación que mejora la penetración a través de la piel, lo que conduce a la activación local del PPAR en la región del oído.

El agonista del PPAR o la composición farmacéutica puede situarse en contacto con la cresta de la

abertura de la cóclea, la ventana anular, la cavidad timpánica, la membrana timpánica, la oreja

media o la oreja externa. En modalidades adicionales o alternativas, el agonista del PPAR o la

composición farmacéutica puede administrarse en o cerca de la membrana de la ventana anular a

través de inyección intratimpánica. En otras modalidades, el agonista del PPAR o la composición

farmacéutica se administra en o cerca de la ventana anular o de la cresta de la abertura de la cóclea

hasta la entrada a través de una incisión postauricular y manipulación quirúrgica en o cerca de la

ventana anular o la zona de la cresta de la abertura de la cóclea. Alternativamente, el agonista del

PPAR o la composición farmacéutica se aplica mediante una jeringa y una aguja, en donde la aguja

se inserta a través de la membrana timpánica y se guía hasta el área de la ventana anular o de la

cresta de la abertura de la cóclea. Después, el agonista del PPAR o la composición farmacéutica se

deposita sobre o cerca de la ventana anular o de la cresta de la abertura de la cóclea para un

tratamiento localizado.

Preferentemente, el agonista del PPAR o la composición farmacéutica como se describe en la

presente descripción se administra mediante inyección intratimpánica en el oído interno y/o en el

oído medio, preferentemente en el oído medio. La inyección intratimpánica de agentes

terapéuticos es la técnica de inyectar un agente detrás de la membrana timpánica dentro del oído

medio y/o interno, preferentemente dentro del oído medio.

En una modalidad, las composiciones descritas en la presente descripción se administran

directamente sobre la membrana de la ventana anular a través de inyección transtimpánica. En otra

modalidad, las composiciones aceptables para la oreja descritas en la presente descripción, se

administran sobre la membrana de la ventana anular a través de un acercamiento no transtimpánico

al oído interno. En modalidades adicionales, la composición descrita en la presente descripción se

administra sobre la membrana de la ventana anular a través de un acercamiento quirúrgico a la

membrana de la ventana anular que comprende la modificación de la cresta de la abertura de la

cóclea.

En una modalidad, el sistema de suministro es un aparato con jeringa y aguja que es capaz de

perforar la membrana timpánica y acceder directamente a la membrana de la ventana anular o a la

cresta de la abertura de la cóclea de la oreja interna.

En algunas modalidades, el dispositivo de suministro es un aparato diseñado para la administración de agentes terapéuticos al oído medio y/o interno. A modo de ejemplo solamente: GYRUS Medical GmbH ofrece microotoscopios para la visualización y entrega de fármacos al nicho de la ventana anular; Arenberg ha descrito un dispositivo de tratamiento médico para suministrar fluidos a estructuras del oído interno en las patentes de Estados Unidos Núms. 5,421,818; 5,474,529; y 5,476,446. La solicitud de patente de Estados Unidos núm. de serie 08/874,208 describe un método quirúrgico para implantar un conducto de transferencia de fluidos para suministrar agentes terapéuticos al oído interno. La publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos núm. 2007/0167918 describe además un aspirador óptico combinado y un dispensador de medicación para el muestreo de fluido intratimpánico y la aplicación de medicamento.

El agonista del PPAR o la composición farmacéutica descrita en la presente descripción son útiles en procedimientos quirúrgicos que incluyen, a modo de ejemplos no limitantes, la cirugía de cóclea, laberrinotomía, mastoidectomía, estapedectomía, sacculotomía endolinfática o similares. En una modalidad preferida, el agonista del PPAR o la composición farmacéutica, como se describe en la presente descripción, se administra antes de procedimientos quirúrgicos, particularmente, antes de la cirugía de cóclea.

El agonista del PPAR o la composición farmacéutica descrita en la presente descripción, se administra para tratamientos preventivos y/o terapéuticos. Los tratamientos preventivos comprenden tratamientos profilácticos. En aplicaciones preventivas, el agonista del PPAR o la composición farmacéutica se administra a un sujeto que se sospecha que tiene o que está en riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección como se describe en la presente descripción. En aplicaciones terapéuticas, el agonista del PPAR o la composición farmacéutica se administran a un sujeto tal como un paciente que ya sufre de un trastorno descrito en la presente descripción, en una cantidad suficiente para curar o al menos detener parcialmente los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección como se describe en la presente descripción. Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad y curso de la enfermedad, trastorno, o afección, terapias previas, el estado de salud y respuesta a los fármacos del sujeto, y el criterio del médico que lo trata.

En el caso en donde la condición del sujeto no mejora, la administración del agonista del PPAR o de la composición farmacéutica puede administrarse crónicamente, lo que es, durante un período de tiempo prolongado, que incluye durante toda la vida del sujeto para mejorar, o de otra manera controlar o limitar, los síntomas de la enfermedad o afección del sujeto.

En el caso en donde el estado del sujeto mejora, la administración del agonista del PPAR o de la composición farmacéutica puede administrarse continuamente; alternatively, la dosis del fármaco que se administra puede reducirse temporalmente o suspenderse temporalmente durante cierto período de tiempo (es decir, un "descanso del fármaco").

- 5 Una vez que se ha producido la mejora de las afecciones óticas del paciente, se administra un agonista del PPAR de mantenimiento o la dosis de la composición farmacéutica si es necesario. Posteriormente, la dosis o la frecuencia de administración, o ambas, se reduce opcionalmente, en función de los síntomas, hasta un nivel en el que se mantiene la mejora de la enfermedad, trastorno o afección.
- 10 En algunas modalidades preferidas, el agonista del PPAR o la composición farmacéutica se administra mediante una sola inyección en el oído interno y/o en el oído medio, preferentemente mediante una sola inyección intratimpánica en el oído interno seguido de administración oral o mediante una sola inyección intratimpánica en el oído medio, seguido por administración oral, que se prefiere, o por administración como gotas óticas con penetración dentro del oído interno. La
- 15 administración oral puede proporcionarse crónicamente, que es, durante un período prolongado de tiempo, que incluye durante toda la duración de la vida del sujeto. En algunas modalidades después de un tratamiento a largo plazo, por ejemplo, un tratamiento a largo plazo con el uso de la administración oral, capacidad de audición se incrementa en base a una reactivación de las células ciliadas desde un estado de reposo. En algunas modalidades después de un tratamiento a largo
- 20 plazo, por ejemplo tratamiento a largo plazo con el uso de la administración oral, la capacidad de audición se incrementa en base a un aumento del número de células ciliadas o de la función de células ciliadas posterior a la activación del PPAR.

La cantidad del agonista del PPAR a administrar variará en dependencia de factores tales como el compuesto particular, el estado de la enfermedad y su gravedad, de acuerdo con las circunstancias

25 particulares que rodean al caso, que incluyen, por ejemplo, el agonista específico del PPAR que se administra, la vía de administración, la afección que se trata, el área diana que se trata y el sujeto o huésped que se trata.

En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto en una dosis que está por debajo de la dosis necesaria para el tratamiento de diabetes con el uso de un agonista del PPAR. En

30 algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto en una dosis que es un factor de 8-20 veces inferior que la dosis máxima evaluada y probada para el tratamiento de la diabetes, particularmente un factor de 8-20 veces inferior que la dosis máxima evaluada y probada para el

tratamiento de la diabetes en humanos. La dosis máxima evaluada y probada para el tratamiento de la diabetes en humanos, por ejemplo, para un agonista del PPAR gamma, tal como pioglitazona, está usualmente en el intervalo de aproximadamente 30-45 mg/día. En algunas modalidades en la dosis del agonista del PPAR usada, los efectos secundarios observados en el tratamiento de la diabetes no están presentes.

En algunas modalidades, el agonista del PPAR se administra al sujeto en una dosis que está por debajo de la dosis activa para el efecto antidiabético o antidislipidémico del agonista del PPAR, particularmente, una dosis que está por debajo de la dosis activa para efecto antidiabético o antidislipidémico del agonista del PPAR en humanos.

En algunas modalidades, un agonista del PPAR, usualmente agonistas del PPAR gamma, agonistas del PPAR alfa y/o agonistas dobles del PPAR alfa/gamma, preferentemente un agonista del PPAR gamma, con mayor preferencia, pioglitazona se administra en humanos por vía oral en una dosis de 0.05-30 mg/día, preferentemente 0.1-10 mg/día, con mayor preferencia, 0.5-5 mg/día.

En algunas modalidades, el agonista del PPAR, usualmente agonistas del PPARgamma, agonistas del PPAR alfa y/o agonistas dobles del PPAR alfa/gamma, preferentemente un agonista del PPAR gamma, con mayor preferencia, pioglitazona se administra en humanos tópicamente en el oído usualmente en una concentración de 0.001 % p/v hasta 10 % p/v, preferentemente en una concentración de 0.005 % p/v hasta 5 % p/v, con mayor preferencia en una concentración de 0.01 % p/v hasta 2 % p/v. Usualmente se administran 50 µl a 1 ml, preferentemente 1 ml de una solución que contiene el agonista del PPAR.

En algunas modalidades, el agonista del PPAR, usualmente agonistas gamma del PPAR, agonistas del PPAR alfa y/o agonistas dobles del PPAR alfa/gamma, preferentemente un agonista del PPAR gamma, con mayor preferencia, pioglitazona, se administra en humanos por inyección dentro del oído interno y/o dentro del oído medio a una concentración de 0.005 % p/v hasta 10 % p/v, preferentemente 0.01 % p/v hasta 5 % p/v, por inyección única. Usualmente se inyectan 50 µl hasta 1 ml, preferentemente 1 ml de una solución que contiene el agonista del PPAR mediante inyección única.

Los métodos de identificación de pacientes que se sospecha que tienen, o en riesgo de desarrollar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas se incluyen además en la presente invención. En algunas modalidades, los pacientes que se sospecha que tienen o que están en riesgo de desarrollar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas se identifican mediante la medición de niveles de adiponectina sérica y/o

plasmática, particularmente la medición de niveles de adiponectina de alto peso molecular. En algunas modalidades, la monitorización del éxito del tratamiento y/o la identificación del sujeto, por ejemplo, la identificación del sujeto que se sospecha tiene, o en riesgo de desarrollar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte células ciliadas, se logra mediante medición de los niveles de adiponectina sérica y/o plasmática.

Kits/Artículos de Fabricación

La descripción proporciona, además, kits para prevenir o tratar la pérdida de audición y/o prevenir o inhibir la degeneración de células ciliadas o la muerte de células ciliadas en un sujeto, preferentemente en humanos. Tales kits generalmente comprenderán uno o más agonistas del PPAR o la composición farmacéutica descrita en la presente descripción, e instrucciones para usar el kit. La descripción contempla, además, el uso de uno o más agonistas del PPAR o la composición farmacéutica descrita en la presente descripción, en la fabricación de medicamentos para tratar, menguar, reducir o mejorar los síntomas de una enfermedad, disfunción o trastorno en un mamífero, tal como un humano que tiene, se sospecha que tiene o en riesgo de desarrollar pérdida de audición, degeneración de células ciliadas o muerte de células ciliadas.

En algunas modalidades, los kits incluyen un portador, paquete o recipiente que está compartimentado para recibir uno o más recipientes tales como viales, tubos y similares, cada uno de los recipientes que incluye uno de los elementos separados para usarse en un método descrito en la presente descripción. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas y tubos de ensayo. En otras modalidades, los recipientes están formados a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico.

Los artículos de fabricación proporcionados en la presente descripción generalmente comprenderán uno o más agonistas del PPAR o la composición farmacéutica descrita en la presente descripción y materiales de envasado. Ejemplos de materiales de envasado farmacéutico incluyen, pero sin limitarse a, envases tipo burbuja, botellas, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, viales, recipientes, jeringas, botellas y cualquier material de envasado adecuado para una composición seleccionada y el modo deseado de administración y tratamiento.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Protección contra el daño de células ciliadas inducido por antibióticos

Los órganos de Corti se obtuvieron de ratas Sprague-Dawley el día 5 después del nacimiento y se colocaron en cultivo de órganos. El tratamiento con gentamicina resultó en pérdida de 50 - 70 %
5 de las células ciliadas después de 48 horas en cultivo. El cotratamiento con pioglitazona fue protector, al evitar casi completamente la pérdida de células ciliadas dependiente de gentamicina y preservar en gran medida la morfología del órgano.

Métodos

10 Procedimientos con animales

Todos los procedimientos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con protocolos aprobados por the Kantonalen Veterinäramt, Basilea, Suiza. Se usaron ratas Sprague-Dawley del día 5 (p5) después del nacimiento para los estudios. Los estudios se realizaron *in vitro*, con el uso de explantes del órgano de Corti (OC) de animales p5. Los animales se sacrificaron y las cócleas se
15 disecaron cuidadosamente para separar el órgano de Corti del ganglio espiral, estrias vasculares y membrana de Reissner [Sobkowicz HM, Loftus JM, Slapnick SM. Acta Otolaryngol Suppl. 1993;502:3-36].

Cultivo de tejidos

20 Los OC se recolectaron, después se colocaron en medio de cultivo [medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con FCS al 10 %, 25 mM de HEPES y 30 U/ml de penicilina (Invitrogen, Carlsbad, CA, Estados Unidos)] y se incubaron durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera De 95 % de O₂/5 % de CO₂. Después de ese período, se reemplazó el medio de cultivo por medio fresco que no contenía compuesto o 200µM de gentamicina sola o 200 µM de
25 gentamicina con 2 o 10 µM de pioglitazona, y se incubó durante 48 horas a 37 °C. Se usaron explantes de diez OC para cada condición de tratamiento.

Conteo de células ciliadas

Después de la incubación con los compuestos, los OC se fijaron en paraformaldehído al 4 %, se
30 lavaron y después se tiñeron con una faloidina conjugada con fluoresceína (FITC) para detectar las células ciliadas interiores y exteriores. Después de la tinción, los OC se visualizaron y fotografiaron con el uso de un microscopio de fluorescencia (Olympus FSX100). Las células

ciliadas externas e internas se cuantificaron por separado para las espiras apical, basal y media de cada órgano de Corti. Los valores para cada espira se promediaron para los 10 OC usados para cada condición. Se determinaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en los números de OHC e IHC mediante el uso del análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba post-hoc de diferencia menos significativa (LSD) (Stat View 5.0). Las diferencias asociadas con los valores de P inferiores a 0.05 se consideraron estadísticamente significativas. Todos los datos se presentan como la media $\pm$ desviación estándar.

Resultados

- Los órganos de Corti sin tratar se conservaron bien después de 48 horas en cultivo, con la presentación de filas ordenadas intactas de células ciliadas exteriores (OHC) y células ciliadas interiores (IHC). El tratamiento solo con pioglitazona, tanto a 2 como 10 μ M no tuvo efecto en el número y morfología de las células ciliadas, lo que indica no hubo efecto adverso directo de la pioglitazona (Figuras 1 A-C). En contraste, el tratamiento con 200 μ M de gentamicina resultó en destrucción y pérdida casi completa de las células ciliadas (Figuras 1 A-C). La pioglitazona tanto a 2 como 10 μ M fue capaz de antagonizar los efectos de la gentamicina y conservar el número y morfología de las células ciliadas (Figuras 1 A-C). El análisis cuantitativo de imágenes se realizó para contar las IHC y OHC por separado en las espiras apical, basal, y media de cada órgano de Corti. Aunque el tratamiento con gentamicina resultó en una reducción consistente del número de células ciliadas de aproximadamente 50 - 70 % en cada segmento, la pioglitazona en ambas concentraciones fue capaz de prevenir completamente la pérdida de células ciliadas dependiente de gentamicina en todas las espiras.

Ejemplo 2: Protección contra la pérdida de audición inducida por el ruido

- Se aplicó una formulación de pioglitazona o vehículo solo en la mitad de las orejas de conejillos de indias. Los animales se expusieron a un trauma por ruido (ruido de banda ancha de 4 - 20 kHz, 115 dB (SPL) y el registro de la sensibilidad de audición en el intervalo de frecuencia estándar se realizó 7-14 días más tarde. Los resultados obtenidos en la prueba de audición se compararon con los valores basales antes de la lesión. La pioglitazona protege la audición, lo que resulta en una reducción de > 50 % en los cambios de umbral en los animales tratados con pioglitazona frente a los controles con vehículo.

Métodos

Procedimientos con animales

El modelo de conejillo de indias es la especie animal preferida en la investigación de la audición.

- 5 La aplicación del agente así como el trauma por ruido se aplicó bajo anestesia general. A su llegada, los animales experimentaron un periodo de aclimatación de al menos una semana antes de los experimentos. Los animales se alojaron en parejas con acceso ad libitum a alimentos y agua en un ambiente controlado de temperatura y humedad en un ciclo luz/oscuridad de 12h/12h. El protocolo se aprobó por el comité gubernamental de uso de animales de Berlín, Alemania.
- 10 Los conejillos de indias se anestesiaron primero y se evaluó la audición mediante un método ABR estándar y después en grupos de tratamiento. Cada animal recibió una sola aplicación de la sustancia de prueba en la ventana anular en ambas orejas. Al día siguiente, los animales se expusieron a 115 dB de ruido de banda ancha durante 2 horas bajo anestesia. Una y dos semanas después de la exposición al ruido, los animales se sometieron a una segunda evaluación de la
- 15 audición.

- Los animales se dosificaron con una única aplicación de 40 µl de formulación de pioglitazona o vehículo coincidente, sobre la ventana anular coclear en ambas orejas el día anterior a la exposición al ruido. Para este enfoque, se perforó un agujero en la parte rostral del cráneo para acceder directamente a la ampolla que permite la aplicación de fármacos a la ventana anular bajo
- 20 control visual.

- Los animales se expusieron al ruido en una cámara a prueba de ruidos (0.8x0.8x0.8 m, atenuación mínima de 60 dB) durante 2 h al ruido blanco de banda ancha (5-20 kHz) a 115 dB de nivel de presión acústica (SPL) bajo anestesia (60 mg/kg de ketamina y 6 mg/kg de xilacina). El ruido se suministró para las dos orejas por altavoces (HTC 11.19, Visaton, Haan, Alemania) colocados
- 25 sobre la cabeza del animal. Los altavoces se conectaron a un amplificador de audio (Tangent AMP-50, Aulum, Dinamarca) y un reproductor de DVD.

Evaluación de la audición

- En la línea base antes de la exposición al ruido y en los días 7 y 14 después del ruido, se
- 30 registraron respuestas auditivas del tronco cerebral (ABR) específicas de la frecuencia (2; 4; 8; 12; 16; 20; 24; 28; 32; 36; 40 kHz) en todos los animales tratados y en los controles. Los estímulos auditivos se suministraron para las dos orejas en diferentes SPL con un generador sinusoidal

(Modelo SSU2, Werk Fernmeldewesen, Berlín, Alemania). La salida de frecuencia se controló y ajustó con un contador digital (Contador digital 1941A, Fluke, Scarborough, Ontario, Canadá). Se colocaron electrodos con aguja subdérmica en el vértice (activo), mastóide (referencia) y en un pie (tierra). Las grabaciones de las ABR se realizaron con un sistema de medición Viking IV (Viasys Healthcare, Conshohocken, Pensilvania). Las respuestas del tronco cerebral se amplificaron (100,000x), filtraron (paso de banda de 0.15–3 kHz), y se promediaron (300x) por el sistema Viking IV. Las amplitudes de las ondas de las ABR se midieron a diferentes intensidades de sonido mediante el cambio de la atenuación de la amplificación de la señal. Se calculó la función de amplitud-crecimiento para cada frecuencia probada, y se ajustó una regresión lineal a la porción lineal de los datos. El umbral de audición pudo calcularse para cada frecuencia mediante la extrapolación de la función amplitud-crecimiento de la línea de regresión a cero. A partir de estos datos, se calcularon diferencias del umbral (cambios de umbral medio) entre el control y los animales expuestos al ruido mediante el uso de los valores promedio. Los resultados se representan como pérdida relativa media de audición ($\pm$ desviación estándar) en decibeles (dB) de los grupos experimentales en comparación con los controles.

Resultados

Los animales tratados con el vehículo mostraron una pérdida promedio de audición significativa de 31.9 ± 2.2 dB (media $\pm$ desviación estándar) en el intervalo de frecuencias de exposición al ruido (5 - 20 kHz) en una semana. La pioglitazona proporcionó una protección significativa de aproximadamente 60 % de la pérdida de audición inducida por ruido, con sólo cambios de umbral modestos de 12.7 ± 1.3 dB (media $\pm$ desviación estándar) (Figura 2).

A las dos semanas, se observó una ligera recuperación en ambos grupos. Los animales tratados con vehículo mostraron una pérdida promedio de audición significativa de 27.3 ± 12.6 dB (media $\pm$ desviación estándar) en dos semanas. Los animales tratados con pioglitazona mostraron sólo cambios de umbral modestos de 6.3 ± 3.9 dB (media $\pm$ desviación estándar) en dos semanas. (Figura 2). Estos datos demuestran la eficacia de la pioglitazona para proteger la audición.

Ejemplo 3: Protección contra el daño de las células ciliadas inducido por antibióticos por agonistas dobles del PPAR α / γ y un agonista selectivo del PPAR α

El experimento se llevó a cabo de manera similar a los experimentos en el ejemplo 1. El tratamiento con gentamicina resultó en una pérdida de 50 % de células ciliadas después de una

exposición de 24 horas en los OC en cultivo de ratón. El tratamiento con los agonistas dobles del PPAR α/γ muraglitazar y tesaglitazar y con el ácido fenofibrico, agonista selectivo del PPAR α , protegió contra la pérdida de células ciliadas dependiente de gentamicina.

5 Métodos

Los métodos fueron similares a los del Ejemplo 1. Las diferencias principales fueron que se usaron OC de ratón en lugar de OC de rata. Además, el tratamiento se realizó durante 24 horas con 50 μ M de gentamicina. El número de OC usados para cada condición experimental fue 3-5. Las concentraciones de las sustancias de prueba fueron 2 μ M y 10 μ M para tesaglitazar y muraglitazar, y 25 μ M y 150 μ M para el ácido fenofibrico.

Resultados

Los órganos de Corti no tratados se conservaron bien después de 24 horas en cultivo al presentar filas ordenadas intactas de células ciliadas externas (OHC) y células ciliadas internas (IHC).

15 Ninguna de las sustancias de prueba solas y ninguna concentración tuvo un efecto sobre el número o la morfología de las células ciliadas, lo que indica que no hay efectos adversos directos (Figuras 3 A-C). En cambio, el tratamiento con 50 μ M de gentamicina resultó en una pérdida de aproximadamente 50 % de las células ciliadas (Figuras 3 A-C). Tesaglitazar tanto a 2 como 10 μ M fue capaz de antagonizar los efectos de la gentamicina y conservar el número y la morfología de las células ciliadas (Figura 3 A). Muraglitazar no fue efectivo a 2 μ M pero fue parcialmente protector a 10 μ M (Figura 3 B). El ácido fenofibrico no fue efectivo a 25 μ M pero fue completamente protector a 150 μ M (Figura 3 C).