

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 572 368**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 19/02** (2006.01)

**C07K 16/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA  
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2009 PCT/AU2009/001672**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.07.2010 WO10071924**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2009 E 09833924 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **09.06.2021 EP 2376121**

54 Título: **Tratamiento de la artrosis**

30 Prioridad:

**22.12.2008 US 139679 P**  
**30.03.2009 US 164486 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:  
**16.12.2021**

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF MELBOURNE (100.0%)**  
**Grattan Street**  
**Parkville, Victoria 3052, AU**

72 Inventor/es:

**HAMILTON, JOHN ALLAN y**  
**COOK, ANDREW DAVID**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

## DESCRIPCIÓN

Tratamiento de la artrosis

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a un agonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de la artrosis (OA, nombre derivado del término anglosajón *osteoarthritis* (osteoartritis)), en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF.

**Antecedentes de la invención**

10 La artrosis (OA), también conocida como artritis degenerativa, es una enfermedad principalmente prevalente en las personas ancianas y obesas. La OA es una enfermedad de las uniones articulares, pero a diferencia de la artritis reumatoide (AR), la enfermedad no es sistémica, afectando solamente a una, o a unas pocas, articulaciones. La enfermedad lleva a la destrucción total del cartilago articular, esclerosis de los huesos subyacentes, y formación de osteofitos, dando como resultado la pérdida de movimiento y dolor. El resultado final frecuentemente es la necesidad de una sustitución de toda la articulación.

15 La OA afecta aproximadamente 21 millones de personas en Estados Unidos, comprende el 25 % de todas las visitas al médico de atención primaria, y representa el 50 % de las recetas de todos los AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos). En la actualidad no se dispone de un tratamiento que ralentice o detenga la progresión de la enfermedad; los fármacos actuales simplemente tratan los síntomas. La incidencia y la gravedad de la enfermedad aumentan con la edad. A los 65 años, el 80 % de los americanos muestran evidencias radiográficas de OA, aunque solamente un 60 % de estos serán sintomáticos. El 65 % de todas las enfermedades de articulaciones a los 65 años de edad son OA. En 2006, se produjeron 735.000 hospitalizaciones en Estados Unidos relacionadas con la enfermedad.

20 Los fármacos actuales de la OA tratan los síntomas de la OA en lugar de la propia enfermedad. Los fármacos normalmente usados en el tratamiento de la OA incluyen los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), tales como diacerín, voltarén, mobic y artrotec (nombres genéricos: diclofenaco, misoprostol, meloxicam). Los AINE son principalmente compuestos orales, que actúan inhibiendo la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central (SNC). Otros fármacos habitualmente utilizados incluyen analgésicos no narcóticos, tales como ultram (tramadol), inhibidores de COX-2, tales como celebrax y arcoxia (celecoxib, etoricoxib), analgésicos narcóticos, tales como duragesic (dextropropoxifeno fentanilo), ácidos hialurónicos, tales como supartz, hyalgan, orthovisc y synvisc (Hylan G-F20), y corticoesteroides, tales como prednisolona y metil prednisolona. Los tratamientos actuales de la OA pretenden evitar la necesidad de cirugía mediante ingeniería de tejidos, tal como trasplante de condrocitos; sin embargo, estos tratamientos solamente se pueden aplicar para el tratamiento de la OA en fase final. Otras soluciones para el tratamiento de la OA a tener en cuenta incluyen la proloterapia, en donde un irritante, tal como dextrosa, se inyecta en la articulación afectada, ocasionando de esta forma una reacción inflamatoria aguda, pero también un reforzamiento y, quizás, una curación de los tejidos, ligamentos, tendones, y cartilago. Existe, por lo tanto, una importante necesidad médica no satisfecha de un tratamiento para la OA.

35 Se sabe que algunas citoquinas están implicadas en la artrosis (Blom y col., *Current Drug Targets* (2008) 8:283). Unas cuantas citoquinas, tales como IL-1, una citoquina 'destruccionista', y el factor de crecimiento transformante anabólico, el factor  $\beta$  (TGFD  $\beta$ ), se consideran como potenciales dianas farmacológicas.

40 El factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) es una citoquina que funciona como un factor de crecimiento de leucocitos. GM-CSF estimula los citoblastos para que produzcan granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, y basófilos) y monocitos. Los monocitos salen de la circulación y migran a los tejidos, donde maduran hasta convertirse en macrófagos. Es, por lo tanto, parte de la cascada inmune/inflamatoria natural, mediante la cual, la activación de un pequeño número de macrófagos conduce rápidamente a un aumento de su cantidad, un procedimiento fundamental para luchar contra la infección. La forma activa de GM-CSF se encuentra extracelularmente en forma de homodímero. En particular, GM-CSF se ha identificado como un mediador inflamatorio en trastornos autoinmunes, como la artritis reumatoide (AR), que conduce a una producción aumentada de citoquinas, quimioquinas y proteasas proinflamatorias y, por lo tanto, finalmente a la destrucción articular.

45 El documento WO 06/0234412 describe numerosos biomarcadores de la artrosis, que se identificaron mediante micromatrices de proteínas. Uno de los biomarcadores identificados es GM-CSF, para el que se ha notificado una regulación de cuatro veces en exceso en tejidos OA. Sin embargo, no se proporciona ninguna indicación o sugerencia de que GM-CSF pueda ser también un punto de intervención terapéutica, y una simple regulación de cuatro veces en exceso en tejidos OA, identificada con la tecnología descrita en el documento WO 06/0234412, tampoco lo sugiere. En un campo relacionado, Devalaraja y col (US20020141994A1) mencionan rápidamente la OA entre una lista de indicaciones potencialmente adecuadas para su tratamiento con antagonistas de factores estimulantes de colonias. La lista de indicaciones incluye aterosclerosis, septicemia, asma, enfermedades autoinmunes, osteoporosis y artritis reumatoide. Además de otros factores estimulantes de colonias, tales como M-CSF y G-CSF, GM-CSF es uno de los factores estimulantes de colonias mencionados en Devalaraja y col. De hecho, Devalaraja y col. no incluyen datos, u otras pistas, de por qué el antagonismo de GM-CSF sería adecuado para tratar un sujeto que padece OA.

El documento de Amos y col, Rheumatology 10:1201-1209, 2004 describe que la expresión en exceso del inhibidor I<sub>KBα</sub> de NF-<sub>KB</sub> mediada por adenovirus en células sinoviales con artrosis, inhibe la producción de varias citoquinas, incluyendo GM-CSF. El documento de van Holten y col, Arthritis Res Ther: 6:R239-R249, 2004 muestra que IFN-<sub>β</sub> reduce la expresión de IL-6, IL-8, y GM-CSF en la artritis reumatoide y en la artrosis de los sinoviocitos de tipo fibroblasto, y esto se correlaciona con una actividad de NF-<sub>KB</sub> reducida. El documento de Cook y col, Arthritis Res 3:293-298, 2001 muestra que el tratamiento con un anticuerpo neutralizante dirigido contra GM-CSF mejora los síntomas de la artritis inducida por colágeno, un modelo habitualmente utilizado para la artritis reumatoide.

### Sumario de la invención

La presente invención, por primera vez, demuestra que GM-CSF es una diana válida para el tratamiento de la OA. Este hallazgo es nuevo, y la técnica anterior no lo enseña, no lo sugiere ni proporciona ningún motivo para este punto de intervención en el tratamiento de la OA. De acuerdo con ello, la invención proporciona, un agonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de la artrosis, en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a una composición que comprende un antagonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de la artrosis, en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF y, además, en la que dicha composición comprende además uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

También se describe el uso de un antagonista de GM-CSF, en el que el antagonista de GM-CSF es un anticuerpo específico de GM-CSF, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la artrosis.

A lo largo de esta memoria descriptiva, a no ser que el contexto requiera otra cosa, las palabras "comprenden", "tienen" e "incluyen" así como sus respectivas variaciones tales como "comprende", "que comprende", "tiene", "que tiene", "incluye" y "que incluye", se entenderán para implicar la inclusión de un elemento o número entero o grupo de elementos o de números enteros indicados, pero no la exclusión de cualquier otro entero o número entero o grupo de elementos o de números enteros.

### Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** muestra datos cuantitativos de daño articular en diferentes regiones evaluadas según puntuación histológica. La configuración experimental y el sistema de puntuación se describen en el Ejemplo 2. "Lat." significa lateral, "Med." significa medial. Se realizó el análisis estadístico mediante Mann-Whitney. Los datos fueron estadísticamente significativos para Lat. Fémur (p=0,02), Lat Tibia (p=0,003), Med, Tibia (p=0,001), y para todas las regiones (Mean; p=0,002).

La **Figura 2** muestra secciones histológicas ilustrativas de rodillas de control sanas. La ampliación es del 100x. No se observó daño en el cartílago, formación de osteofitos, sinovitis, o deformaciones. S = revestimiento sinovial, C = capa de cartílago.

La **Figura 3** muestra secciones histológicas ilustrativas de rodillas izquierdas de ratones C57/BL6 en un modelo de OA inducida por colagenasa. La ampliación de las secciones individuales se indica en las Figuras. La fila superior de fotografías muestra que el daño en el cartílago, la formación de osteofitos y la sinovitis son evidentes. O = osteofito. S = revestimiento sinovial. La fila inferior de fotografías muestra que también está presente la deformación articular.

La **Figura 4** muestra secciones histológicas ilustrativas de rodillas izquierdas de ratones GM-CSF-/- en un modelo de OA inducida por colagenasa. La ampliación de las secciones individuales se indica en las Figuras. Como se puede observar, las anomalías y/o daños son mucho menos graves en comparación con los ratones C57/BL6 (véase la Figura 3) y son comparables a los ratones de control sanos (véase la Figura 2). O = osteofito. S = revestimiento sinovial.

La **Figura 5** muestra la puntuación histológica de la articulación para el tratamiento terapéutico con un anticuerpo de GM-CSF en un modelo de la OA en ratón. Lat.=Lateral. Med.=Medial. Los resultados se expresaron como promedio ± SEM. Como se puede observar, los ratones tratados con un anticuerpo dirigido contra -GM-CSF muestran menos enfermedad.

La **Figura 6** muestra el resultado de un experimento que evalúa la distribución del peso en la extremidad trasera en un medidor de incapacitación. Los datos son significativos (test de la t no emparejada) a partir del día 27 después de la inducción de OA, como se indica en el gráfico.

### Descripción detallada de la invención

La presente invención demuestra que GM-CSF es una diana válida para el tratamiento de la OA. A este respecto, la invención proporciona, en un aspecto, un agonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de la artrosis, en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF.

Se describen procedimientos para utilizar un antagonista de GM-CSF para conseguir un beneficio profiláctico o terapéutico en el campo de la OA.

También se describen procedimientos terapéuticos que comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho antagonista de GM-CSF a un sujeto que necesite dicho tratamiento. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de dicho antagonista de GM-CSF necesario para desencadenar la respuesta biológica deseada. De acuerdo con la invención sujeta, la cantidad terapéuticamente eficaz es la cantidad de dicho antagonista de GM-CSF necesario para tratar y/o prevenir la artrosis.

"Antagonistas de GM-CSF", tal como se usa en el presente documento, incluye antagonistas de GM-CSF en su sentido más amplio; se incluye cualquier molécula que inhiba la actividad o la función de GM-CSF, o que de cualquier otra forma ejerza un efecto terapéutico sobre GM-CSF. El término antagonistas de GM-CSF puede incluir, pero no se limita a, los anticuerpos que se unen específicamente a GM-CSF, ácidos nucleicos inhibidores específicos de GM-CSF o moléculas orgánicas pequeñas específicas de GM-CSF. También dentro del significado del término antagonista de GM-CSF se encuentran los anticuerpos que se unen específicamente al receptor GM-CSF, ácidos nucleicos inhibidores específicos del receptor GM-CSF o moléculas orgánicas pequeñas específicas del receptor de GM-CSF.

Para las revisiones, véase Ghose y col, J Combin Chem: 1:55-68, 1999 y Lipinski y col, Adv Drug Del Rev 23:3-25, 1997.

Un antagonista de GM-CSF para su uso en la presente invención es un anticuerpo específico de GM-CSF. Dicho anticuerpo puede ser de cualquier tipo, tal como un anticuerpo de murino, rata, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. Un anticuerpo "humano" o fragmento funcional de anticuerpo humano se define por la presente como uno que no sea quimérico (por ejemplo, no "humanizado") y que no proceda (tanto en todo como en parte) de una especie no humana. Un anticuerpo o fragmento de anticuerpo funcional humano se puede derivar de un ser humano o puede ser un anticuerpo humano sintético. Un "anticuerpo sintético humano" se define en el presente documento como un anticuerpo que tiene una secuencia derivada, en todo o en parte, *in silico* a partir de secuencias sintéticas que están basadas en el análisis de secuencias conocidas de anticuerpos humanos. El diseño *in silico* de una secuencia de un anticuerpo humano o fragmento del mismo se puede conseguir, por ejemplo, analizando una base de datos de anticuerpo humano o secuencias de fragmentos de anticuerpo y diseñando una secuencia de polipéptido utilizando los datos obtenidos a partir de los anteriores. Otro ejemplo de un anticuerpo humano o fragmento de anticuerpo funcional es uno que esté codificado por un ácido nucleico aislado de una biblioteca de secuencias de anticuerpo de origen humano (es decir, estando basada dicha biblioteca en anticuerpos tomados de una fuente natural humana).

Un "anticuerpo humanizado" o fragmento de anticuerpo funcional humanizado se define en el presente documento como uno que (i) se ha derivado de una fuente no humana (por ejemplo, un ratón transgénico que tiene un sistema inmunitario heterólogo), dicho anticuerpo se basa en una secuencia de la línea germinal humana; o (ii) quimérico, cuando el dominio variable se deriva de un origen no humano y el dominio constante se deriva de un origen humano o (iii) está injertado con CDR, en la que los CDR del dominio variable tienen origen no humano, mientras que uno o más marcos del dominio variable son de origen humano y el dominio constante (si existe) es de origen humano.

El término "anticuerpo quimérico" o fragmento de anticuerpo quimérico funcional se define en el presente documento como una molécula de anticuerpo que tiene regiones constantes del anticuerpo derivadas de, o que se corresponden con, secuencias encontradas en una especie y regiones variables del anticuerpo derivadas de otra especie. Preferentemente, las regiones constantes del anticuerpo se derivan de, o que se corresponden con, secuencias encontradas en seres humanos, por ejemplo, en una línea germinal o en células somáticas humanas, y las regiones variables del anticuerpo (por ejemplo, las regiones VH, VL, CDR o FR) se derivan de secuencias que se encuentran en un animal no humano, por ejemplo, un ratón, rata, conejo o hámster.

En un aspecto de la presente invención, el anticuerpo específico de GM-CSF es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano.

En un aspecto de la presente invención, el anticuerpo específico de GM-CSF es un anticuerpo humanizado.

Tal como se usa en el presente documento, un anticuerpo "se une específicamente a", "se une específicamente a", es "específico de/para" o "reconoce específicamente" un antígeno (aquí, GM-CSF) si dicho anticuerpo es capaz de discriminar entre dicho antígeno y uno o más antígeno(s) de referencia, puesto que la unión específica no es absoluta, sino una propiedad relativa. El antígeno o antígeno(s) de referencia puede ser uno o más antígeno(s) estrechamente relacionado(s), que se usan como puntos de referencia, por ejemplo, IL-3, IL-5, IL-4, IL-13 o M-CSF. En su forma más general (y cuando no se ha mencionado una referencia definida), "unión específica" se refiere a la capacidad del anticuerpo para discriminar entre el antígeno de interés y un antígeno no relacionado, como se determina, por ejemplo, de acuerdo con uno de los siguientes procedimientos. Dichos procedimientos comprenden, pero no se limiten a las pruebas de transferencia Western, ELISA, RIA, ECL, IRMA y exploraciones de péptidos. Por ejemplo, se puede llevar a cabo un ensayo ELISA normalizado. La puntuación se puede realizar mediante revelado de color convencional (por ejemplo, anticuerpo secundario con peroxidasa de rábano picante y tetrametil bencidina con peróxido de hidrógeno). La reacción en algunos pocillos se puntúa de acuerdo con la densidad óptica, por ejemplo, a 450 nm. Fondo típico (=reacción negativa) puede ser 0,1 DO; la reacción positiva típica puede ser 1 DO. Esto significa que la diferencia positiva/negativa puede ser mayor de 10 veces. Normalmente, la determinación de la especificidad de unión se lleva

a cabo usando no solo un antígeno de referencia, sino un conjunto de aproximadamente tres a cinco antígenos no relacionados, tal como leche en polvo, BSA, transferrina o similares. Adicionalmente, la "unión específica" puede estar relacionada con la capacidad de un anticuerpo para discriminar entre diferentes partes de su antígeno diana, por ejemplo, diferentes dominios o regiones de GM-CSF, o entre uno o más restos de aminoácidos clave o tramos de restos de aminoácidos de GM-CSF.

Asimismo, tal como se usa en el presente documento, una "inmunoglobulina" (Ig) se define en el presente documento como una proteína que pertenece a la clase IgG, IgM, IgE, IgA, o IgD (o cualquier subclase de las mismas), e incluyen todos los anticuerpos convencionalmente conocidos, y fragmentos funcionales de los mismos. Un "fragmento funcional" de un anticuerpo/inmunoglobulina se define por la presente como un fragmento de un anticuerpo/inmunoglobulina (por ejemplo, una región variable de una IgG) que retiene la región de unión a antígeno. Una "región de unión a antígeno" de un anticuerpo se suele encontrar en una o más regiones hipervariables de un anticuerpo, es decir, las regiones CDR-1, 2, y/o 3; sin embargo, las regiones variables "marco" también pueden jugar un papel importante en la unión al antígeno, tal como proporcionar una estructura para las CDR. Preferentemente, la "región de unión a antígeno" comprende al menos los restos de aminoácidos 4 a 103 de la cadena variable ligera (VL) y de 5 a 109 de la cadena variable pesada (VH), más preferentemente los restos de aminoácidos 3 a 107 de VL y 4 a 111 de VH, y se prefiere especialmente la totalidad de las cadenas VL y VH (posiciones de aminoácidos de 1 a 109 de VL y de 1 a 113 de VH; numeración de acuerdo con el documento WO 97/08320). Una clase preferida de inmunoglobulinas para su uso en la presente invención es IgG. "Fragmentos funcionales" de la invención incluyen el dominio de un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento Fab, scFv o construcciones que comprenden dominios únicos variables de inmunoglobulina o polipéptidos de anticuerpos de dominio único, por ejemplo, dominios variables de cadena pesada únicos o dominios variables de cadena ligera únicos. El F(ab')<sub>2</sub> o Fab se puede genomanipular para minimizar o eliminar completamente las interacciones intermoleculares de disulfuro que se producen entre los dominios C<sub>H1</sub> y C<sub>L</sub>.

Un anticuerpo de la invención se puede derivar de una biblioteca de anticuerpos recombinantes que está basada en secuencias de aminoácidos que se han diseñado *in silico* y se han codificado mediante ácidos nucleicos que se han creado sintéticamente. El diseño *in silico* de una secuencia de anticuerpo se consigue, por ejemplo, analizando una base de datos de secuencias humanas y diseñando una secuencia de polipéptido utilizando los datos obtenidos a partir de los anteriores. Los procedimientos para diseñar y obtener secuencias creadas *in silico* se describen, por ejemplo, en Knappik y col, J. Mol. Biol. 296:57, 2000; Krebs y col, J. Immunol. Methods. 254:67, 2001; Rothe y col, J. Mol. Biol. 376:1182, 2008 y patente de Estados Unidos n.º 6.300.064 concedida a Knappik y col 2000, más arriba.

Cualquier anticuerpo específico de GM-CSF se puede usar en la presente invención. Los anticuerpos ilustrativos se describen en el documento US 11/914.599.

Otros anticuerpos ilustrativos incluyen anticuerpos que comprenden una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada como se representa gráficamente en la SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada gráficamente en la SEQ ID NO: 2. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que se derivan una secuencia de aminoácidos que comprende una región variable de la cadena pesada como se representa gráficamente en la SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada gráficamente en la SEQ ID NO: 2. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que tienen la misma especificidad y/o unión con el mismo epítipo que los anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena pesada como se representa gráficamente en la SEQ ID NO:1 o una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada gráficamente en la SEQ ID NO:2. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena pesada que tiene al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o al menos un 95 % de homología con la secuencia representada en la SEQ ID NO:1. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena ligera que tiene al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o al menos un 95 % de homología con la secuencia representada en la SEQ ID NO:2.

SEQ ID NO: 1:

Met Glu Leu Ile Met Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Val His  
 Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly  
 Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp  
 Tyr Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Asp Trp  
 Ile Gly Tyr Ile Ala Pro Tyr Ser Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Glu  
 Phe Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala  
 Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr  
 Cys Ala Arg Arg Asp Arg Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 Thr Thr Leu Arg Val Ser Ser Val Ser Gly Ser

SEQ ID NO: 2:

Met Gly Phe Lys Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Tyr Met Leu  
 Leu Trp Leu Ser Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Ile Gln Ser Gln  
 Lys Phe Val Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys  
 Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asn Val Ala Trp Leu Gln Gln Lys Pro  
 Gly Gln Ser Pro Lys Thr Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Ser Gly  
 Arg Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile  
 Leu Thr Ile Thr Thr Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys  
 Gln Gln Phe Asn Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu  
 Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro  
 Ser Ser Lys Gly Glu Phe

5

10

15

Otros anticuerpos ilustrativos que se pueden usar en la presente invención son anticuerpos que comprenden una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada como se representa gráficamente en la SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada gráficamente en la SEQ ID NO: 4. Otros anticuerpos ilustrativos incluyen anticuerpos que se derivan de una secuencia de aminoácidos que comprende una región variable de la cadena pesada como se representa gráficamente en la SEQ ID NO:3 o una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada gráficamente en la SEQ ID NO:4. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que tienen la misma especificidad y/o unión con el mismo epítipo que los anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena pesada como se representa gráficamente en la SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada gráficamente en la SEQ ID NO: 4. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena pesada que tiene al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o al menos 95 % de homología con la secuencia representada en la SEQ ID NO:3. Otros anticuerpos ilustrativos adicionales incluyen anticuerpos que comprenden una región variable de la cadena ligera que tiene al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o al menos 95 % de homología con la secuencia representada en la SEQ ID

NO:4.

SEQ ID NO. 3: MOR pesada

**QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMNWVRQAPGKGLEWVSGIENKYAGGA  
 TYAASVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFGTDFWQGTLVTYSS**

SEQ ID NO: 4: MOR ligera

**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDSIGKKYAYWYQQKPGQAPVLVIYKKRPSGIPERFSGSNS  
 5 GNTATLTISGTQAEDEADYYCSAWGDKGMVFGGGTKLTVLGQ**

En un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de GM-CSF en la que el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada que tiene al menos un 90 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y una región variable de la cadena ligera que tiene al menos un 90 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de GM-CSF en la que el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada que tiene al menos un 95 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y una región variable de la cadena ligera que tiene al menos un 95 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.

15 En un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de GM-CSF en la que el anticuerpo comprende la región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y la región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.

Anticuerpos ilustrativos alternativos que se pueden utilizar en la presente invención son anticuerpos que comprenden una secuencia H-CDR3 seleccionada de:

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp  
 1 5 10

(SEQ ID NO. 5),

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro  
 1 5 10

20 (SEQ ID NO:6),

Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

(SEQ ID NO:7),

Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

(SEQ ID NO:8),

Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro  
 1 5 10

(SEQ ID NO:9),

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp  
 1 5 10

(SEQ ID NO:10),

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser  
 1 5 10

25 (SEQ ID NO:11),

Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr  
 1 5 10

(SEQ ID NO:12),

Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

(SEQ ID NO:13),

Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn  
 1 5 10

(SEQ ID NO:14),

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro  
 1 5 10

(SEQ ID NO:15),

y

Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

(SEQ ID NO:16).

5

Preferentemente, los anticuerpos que comprenden una secuencia de H-CDR3 seleccionada entre una cualquiera de las SEQ ID NO. 5-16, comprenden adicionalmente la siguiente secuencia de H-CDR1:

Asp Tyr Leu Leu His  
 1 5

(SEQ ID NO:17),

y/o la siguiente secuencia de H-CDR2:

Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Gly

10 (SEQ ID NO:18),

y/o la siguiente secuencia de L-CDR1

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ile Leu Asn  
 1 5 10

: (SEQ ID NO:19),

y/o la siguiente secuencia de L-CDR2:

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser  
 1 5

15

(SEQ ID NO:20),

y/o la siguiente secuencia de L-CDR3:

Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg Thr  
 1 5

(SEQ ID NO:21).

Los anticuerpos ilustrativos alternativos que se pueden utilizar en la presente invención son anticuerpos que comprenden la siguiente secuencia H-CDR1:

Arg Ala Ser His Arg Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala  
 1 5 10

(SEQ ID NO:22),

y/o la siguiente secuencia de L-CDR2:

Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr  
 1 5

(SEQ ID NO:23),

y/o la siguiente secuencia de L-CDR3:

Gln Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Val Thr  
 1 5

(SEQ ID NO:24),

y/o la siguiente secuencia de H-CDR1:

Gly Tyr Ile Phe Pro Thr Phe Ala Leu His  
 1 5 10

(SEQ ID NO:25),

y/o la siguiente secuencia de H-CDR2:

Ser Ile Asn Thr Ala Ser Gly Lys Thr Lys Phe Ser Thr Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

(SEQ ID NO:26),

y/o la siguiente secuencia de H-CDR3:

Asp Arg Phe Gln Asn Ile Met Ala Thr Ile Leu Asp Val  
 1 5 10

(SEQ ID NO:27).

15 Preferentemente, dicho anticuerpo comprende todos las CDR de las SEQ ID NO. 22-27.

También se describen procedimientos para el tratamiento de la artrosis en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento la etapa de administrar un antagonista de GM-CSF a dicho sujeto, en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF. "Sujeto", tal como se usa en este contexto, se refiere a cualquier mamífero, incluyendo roedores, tal como un ratón o una rata, y primates, tal como el macaco (*Macaca fascicularis*), el mono rhesus (*Macaca mulatta*) o seres humanos (*Homo sapiens*). Preferentemente, el sujeto es un primate, lo más preferible un ser humano.

También se describe una composición que comprende dicho antagonista de GM-CSF capaz de antagonizar la capacidad del GM-CSF para activar, proliferar, inducir el crecimiento y/o la supervivencia de las células en un sujeto que padece de artrosis, o que se sospecha que padece de artrosis, comprendiendo adicionalmente dicha composición uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos dirigidos contra el GM-CSF de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de los papeles del GM-CSF en la artrosis.

También se describe un procedimiento para la profilaxis de la artrosis en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento la administración de un antagonista de GM-CSF a dicho sujeto, en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF. "Profilaxis" tal como se usa en este contexto se refiere a los procedimientos destinados a prevenir el inicio de una enfermedad o que retrasan el inicio de una enfermedad.

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de la artrosis, en la que dicho antagonista de GM-CSF es un anticuerpo específico de GM-CSF y, además, en la que dicha composición comprende además uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

También se describe el uso de dicho antagonista de GM-CSF en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la artrosis.

5 Las composiciones de la presente invención son preferentemente composiciones farmacéuticas que comprenden un antagonista de GM-CSF, en el que el antagonista de GM-CSF es un anticuerpo específico de GM-CSF, y un vehículo, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de la artrosis. Dichos vehículos, diluyentes y excipientes son bien conocidos en la materia, y el técnico experto encontrará una formulación y una vía de administración que sea la mejor adecuada para tratar un sujeto con un anticuerpo específico de GM-CSF.

10 También se describen ratones genéticamente alterados que tienen un genotipo GM-CSF  $-/-$ . Los términos ratón "inactivado genéticamente", un ratón "perturbado en" algún gen, y un ratón con un "genotipo  $-/-$ " se utilizan indistintamente en la presente invención, y son términos reconocidos en la materia. Los correspondientes animales son deficientes en un gen correspondiente, aquí GM-CSF, en ambos alelos del cromosoma.

**Ejemplo 1:**

**Generación de un ratón GM-CSF $-/-$**

15 La generación del ratón GM-CSF $-/-$  se describe en Stanley y col (1994). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:5592. En resumen, los ratones quiméricos se generaron mediante microinyección de células ES derivadas de 129/OLA (H-2b) que tienen un gen GM-CSF perturbado en blastocitos C57BL/6 (H-2b) hospedadores. Los transmisores de la línea germinal del alelo GM-CSF mutado se cruzaron con ratones C57BL/6 durante 11 generaciones, produciendo ratones GM-CSF $+/-$  que se cruzaron homocigóticamente para generar los ratones GM-CSF $-/-$ , GM-CSF $+/-$ , y GM-CSF $+/+$  usados en los experimentos. El estado del genotipo GM-CSF se determinó mediante análisis por PCR del ADN de la cola. Los animales se alimentaron con pienso convencional para roedor y agua a voluntad, y se alojaron con sus compañeros de camada del mismo sexo en jaulas revestidas de polvo de arena. Los ratones de ambos sexos se introdujeron en los experimentos a las 8 - 15 semanas de edad.

**Ejemplo 2:**

**Validación de GM-CSF como diana de la artrosis**

25 Los ratones GM-CSF $-/-$  se compararon con los ratones C57/BL6 (véase, por ejemplo, Mills y col, J Immunol 164:6166-6173, 2000) en un modelo experimental de la artrosis.

30 Procedimiento: Los ratones (n=10 por grupo) recibieron una inyección intra-articular de colagenasa en la rodilla izquierda el día -2 y el día 0 (Blom y col, Arthritis Rheum 56:147-157, 2007). El día 42 se sacrificó a los ratones, se recuperaron las articulaciones de la rodilla, se fijaron, se descalcificaron, se incluyeron en parafina y se cortaron a 7  $\mu$ m con un micrótopo. Los cortes se tiñeron a continuación con Safranin-O/Fast Green y hematoxilina y eosina para demostrar la patología articular. La patología investigada incluye: daño al cartílago, sinovitis, formación de osteofitos y deformación articular.

El sistema de puntuación utilizado para la patología del cartílago fue la siguiente:

	Calidad	
35	0	Normal
	1	Irregular pero intacto
	1,5	Irregular con superficie rugosa
	2	Fibrilación superficial
	2,5	Fibrilación superficial con pocas células en la capa de cartílago.
40	3	Fisuras verticales
	3,5	Ramificación y/o fisuras horizontales, rupturas en la línea de flujo
	4	Pérdida de cartílago que no se extiende a la línea de flujo
	4,5	Pérdida de cartílago que se extiende a la línea de flujo
	5	Pérdida de cartílago más allá de la línea de flujo, pero que no se extiende hasta el hueso
45	5,5	Pérdida de cartílago que se extiende hasta el hueso
	6	Pérdida de hueso/remodelación/deformación
	Etapa	
	1	<10 % área dañada
	2	10-25 % área dañada
50	3	25-50 % área dañada
	4	50-75 % área dañada

El grado se multiplica por la etapa para obtener la puntuación.

Este sistema de puntuación se basa en un procedimiento de reconocimiento para evaluar la histopatología de OA en la OA clínica y experimental. Véase Pritzker y col, Osteoarthritis Cartilage 14:13-29, 2006. El grado se define como una progresión profunda de la OA al interior del cartílago. La etapa se define como la extensión horizontal de la afectación del cartílago, es decir, lo mucho que el cartílago está afectado. El grado se multiplica por la etapa para obtener la puntuación para obtener una puntuación global, de forma que represente una valoración combinada de la gravedad y la extensión de la OA. Se puntúan hasta seis cortes por ratón.

Resultados: La inspección de estas articulaciones mostró que el ratón GM-CSF-/- muestra menos patología articular de la rodilla que el ratón de control, lo que indica el papel de GM-CSF en la patología y progresión de la artrosis normal. La patología observada en los ratones C57/BL6 incluye daño severo en la capa de cartílago, formación de osteofitos, deformación de la articulación y sinovitis. Los ratones GM-CSF-/- no mostraron formación de osteofitos ni deformación articular, y mucho mecho menos daño con pérdida de cartílago y sinovitis.

Los datos cuantitativos del daño articular en diferentes regiones se muestra en la Figura 1. La histología representativa se muestra en las Figuras 2 (rodillas de control sanas), 3 (rodillas izquierdas de C57/BL6) and 4 (rodillas izquierdas de GM-CSF-/-). Los ratones deficientes en el gen GM-CSF desarrollaron menos patología OA inducida por colagenasa, en comparación con los ratones C57BL/6.

En resumen, los ratones GM-CSF-/- mostraron una patología articular de la rodilla fuertemente disminuida en comparación con los ratones C57/BL6 en un modelo experimental de la artrosis y el GM-CSF se ha validado como diana farmacológica para la intervención en la artrosis.

### **Ejemplo 3:**

#### ***Eficacia terapéutica de los antagonistas de GM-CSF en el tratamiento de la OA***

En este experimento, los autores utilizaron un anticuerpo monoclonal específico de GM-CSF para demostrar que un antagonista de GM-CSF puede ser eficaz para tratar la artrosis.

#### ***Modelo de la OA inducida por colágeno en ratón:***

Los ratones C57BL/6 recibieron 1 unidad de colagenasa de tipo VII intraarticularmente en la rodilla derecha los días 0 y 2 para inducir la inestabilidad de la articulación (véase Blom y col., (2004) Osteoarthritis Cartilage. 12; 627-35).

#### ***Tratamiento con el anticuerpo dirigido contra GM-CSF:***

20 ratones se dividieron aleatoriamente entre 2 grupos (10 ratones/grupo).

Grupo 1 (n = 10): anticuerpo dirigido contra GM-CSF (22E9)

Grupo 2 (n = 10): anticuerpo control de isotipo de IgG2a.

Los ratones se trataron por vía intraperitoneal, tres veces a la semana durante 6 semanas con 250 µg/ratón/tratamiento con anticuerpo dirigido contra GMC-CSF (22E9) o anticuerpo control de isotipo de IgG2a. El tratamiento comenzó 4 días antes de la inducción de OA (profiláctico), es decir, los ratones se trataron el día -4, día -2, día 0 (el día de la primera inyección de colagenasa), a continuación 3 veces a la semana hasta el final de experimento a las 6 semanas). En las semanas 2, 4 y 6, se extrajo sangre de los ratones. Se analizó el suero para determinar el contenido en anticuerpo y la inmunogenicidad contra 22E9. Ambos, el anticuerpo de control y el anticuerpo dirigido contra GM-CSF se purificaron hasta contener menos de 10 unidades de endotoxina/ml.

El anticuerpo 22E9 se utilizó como anticuerpo dirigido contra GM-CSF ilustrativo. 22E9, que es un isotipo de IgG2a, es un anticuerpo de rata dirigido contra IgG de ratón específico de GM-CSF. 22E9 se adquirió en AbD Serotec (Martinsried, Alemania; N.º de Cat. N° 1023501). Existen proveedores alternativos, por ejemplo, eBioscience (San Diego, CA, EE.UU., N.º de cat. 14-7331).

#### ***Histología:***

6 semanas después de las inyecciones finales; se realizó la histología de las articulaciones de rodilla de los ratones. Se recuperaron las articulaciones de la rodilla, se fijaron, se descalcificaron, se incluyeron en parafina y se cortaron a 7 µm con un micrótopo. Los cortes se tiñeron con Safranin-O/Fast Green y hematoxilina y eosina para demostrar la patología articular. La patología investigada incluyó: daño al cartílago, sinovitis, formación de osteofitos y deformación articular.

Se usó en la patología articular el mismo sistema de puntuación que en el Ejemplo 2. El grado se multiplica por la etapa para obtener la puntuación.

Se utilizó el siguiente sistema de puntuación para la sinovitis (sistema de puntuación de la capa sinovial):

0 Sin cambios en comparación con las articulaciones normales

1 Engrosamiento del revestimiento sinovial y cierta entrada de células inflamatorias

- 2 Engrosamiento del revestimiento sinovial y entrada intermedia de células inflamatorias
- 3 Engrosamiento profundo del revestimiento sinovial y entrada máxima observada de células inflamatorias.

**Medidas del dolor:**

5 Un indicador del dolor utilizado para los modelos de la OA es la distribución diferencial del peso medido con un medidor de incapacitación. El instrumento mide los cambios en la distribución del peso entre la extremidad inferior actuada y la extremidad inferior del lado contrario no actuada. Se dejó que los ratones se aclimataran al equipo en tres ocasiones antes del experimento. El peso colocado sobre cada extremidad inferior se midió durante un periodo de 5 segundos. Se tomaron tres medidas independientes para cada ratón y punto temporal; después, se promediaron. Las mediciones se realizaron 2 veces a la semana durante la totalidad del experimento. Los resultados se expresan como extremidad que recibió inyección de colagenasa/extremidad de control x 100.

**Resultados:**

Para todas las áreas analizadas durante la histología (salvo el fémur medial), es decir, el fémur lateral, la tibia lateral, y la tibia medial, se observó una tendencia clara hacia una menor enfermedad en los ratones tratados con el anticuerpo dirigido contra GM-CSF. En la Figura 5 se representan gráficamente los resultados.

15 La evaluación de la distribución del peso, como medida del dolor asociado a la artritis, mostró un desplazamiento significativo alejándose de la rodilla artrítica desde el día 27 en adelante en el grupo tratado con el mAb dirigido contra GM-CSF, en comparación con el grupo tratado con el mAb de control. En la Figura 6 se representan gráficamente los resultados.

20 Los ratones tratados con un antagonista de GM-CSF mostraron menos enfermedad en comparación con los ratones tratados con el anticuerpo de control. Los ratones tratados con el antagonista de GM-CSF también mostraron significativamente menos dolor en las últimas etapas de la enfermedad en comparación con los ratones tratados con el anticuerpo de control. Los ratones tratados con el anticuerpo control de isotipo mostraron signos de artrosis significativamente aumentados en comparación con los ratones que recibieron el anticuerpo específico de GM-CSF. Esto demuestra que los antagonistas de GM-CSF son eficaces para el tratamiento de la OA.

**Ejemplo 4:**

**Eficacia terapéutica de un anticuerpo específico de GM-CSF que comprende las SEQ ID NO. 1 o 2**

30 Se repitió el ejemplo 3, en el que, como antagonista de GM-CSF, se utilizó un anticuerpo específico de GM-CSF que comprende una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada como se ha representado en la SEQ ID NO: 1 o que comprende una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada en la SEQ ID NO: 2. Se pueden usar otras especies que no sean un ratón, en particular, una especie para la que el anticuerpo utilizado en este experimento muestre reactividad cruzada. Preferentemente, la especie animal utilizada en este experimento es la rata.

35 Los animales tratados con el anticuerpo control de isotipo muestran signos de artrosis significativamente aumentados, en comparación con los animales que recibieron un anticuerpo específico de GM-CSF que comprenden una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada como se ha representado en la SEQ ID NO: 1 o que comprende una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada en la SEQ ID NO: 2. Esto demuestra la eficacia de los anticuerpos en el tratamiento de la OA.

**Ejemplo 5:**

**Eficacia terapéutica de un anticuerpo específico de GM-CSF que comprende las SEQ ID NO. 3 o 4**

40 Se repitió el ejemplo 3. Como antagonista de GM-CSF, se utilizó un anticuerpo específico de GM-CSF que comprende una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada como se ha representado en la SEQ ID NO: 3 o que comprende una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada en la SEQ ID NO: 4. Se pueden usar otras especies que no sean un ratón, en particular, una especie para la que el anticuerpo utilizado en este experimento muestre reactividad cruzada. Preferentemente, la especie animal utilizada en este experimento es la rata.

50 Los animales, por ejemplo, rata, tratados con el anticuerpo control de isotipo muestran signos de artrosis significativamente aumentados, en comparación con los animales que recibieron un anticuerpo específico de GM-CSF que comprenden una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada como se ha representado en la SEQ ID NO: 3 o que comprende una secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera representada en la SEQ ID NO: 4. Esto demuestra la eficacia de los anticuerpos en el tratamiento de la OA.

**Ejemplo 6:*****Eficacia terapéutica de los anticuerpos específicos de GM-CSF que comprenden las SEQ ID NO: 5-20***

Se repitió el ejemplo 3. Como antagonista de GM-CSF, se usó un anticuerpo específico de GM-CSF que comprende una secuencia de H-COR3 seleccionada entre cualquiera de las SEQ ID NO. 5-16. Preferentemente, dichos anticuerpos comprenden generalmente la secuencia H-CDR1 de la SEQ ID NO: 16, y/o la secuencia H-CDR2 de la SEQ ID NO: 17, y/o la secuencia L-CDR1 de la SEQ ID NO: 18, y/o la secuencia L-CDR2 de la SEQ ID NO: 19), y/o la secuencia L-CDR3 de la SEQ ID NO: 20). Se pueden usar otras especies que no sean un ratón, en particular, una especie para la que el anticuerpo utilizado en este experimento muestre reactividad cruzada. Preferentemente, la especie animal utilizada en este experimento es la rata.

Los animales, por ejemplo, rata, tratados con el anticuerpo control de isotipo mostraron signos de artrosis significativamente aumentados en comparación con los animales que recibieron un anticuerpo específico de GM-CSF de acuerdo con el presente ejemplo. Esto demuestra la eficacia de los anticuerpos en el tratamiento de la OA.

**Ejemplo 7:*****Eficacia terapéutica de los anticuerpos específicos de GM-CSF que comprenden las SEQ ID NO: 21-26***

Se repitió el ejemplo 3. Como antagonista de GM-CSF, se usó un anticuerpo específico de GM-CSF que comprende la secuencia de L-CDR1 de la SEQ ID NO:22, y/o la secuencia L-CDR2 de la SEQ ID NO:23, y/o la secuencia L-CDR3 de la SEQ ID NO:24, y/o la secuencia H-CDR1 de la SEQ ID NO:25, y/o la secuencia H-CDR2 de la SEQ ID NO:26, y/o la secuencia H-CDR3 de la SEQ ID NO:27). Preferentemente, dicho anticuerpo comprende todos las CDR de las SEQ ID NO: 22-27. Se pueden usar otras especies que no sean un ratón, en particular, una especie para la que el anticuerpo utilizado en este experimento muestre reactividad cruzada. Preferentemente, la especie animal utilizada en este experimento es la rata.

Los animales, por ejemplo, rata, tratados con el anticuerpo control de isotipo mostraron signos de artrosis significativamente aumentados en comparación con los animales que recibieron un anticuerpo específico de GM-CSF de acuerdo con el presente ejemplo. Esto demuestra la eficacia de los anticuerpos en el tratamiento de la OA.

**Ejemplo 8:*****Eficacia terapéutica de los anticuerpos específicos del receptor de GM-CSF***

Se repitió el Ejemplo 3, con la diferencia que se usó un anticuerpo monoclonal específico del receptor de GM-CSF en lugar de un anticuerpo monoclonal específico del GM-CSF.

Como antagonista de GM-CSF, se utilizó un anticuerpo específico del receptor del GM-CSF que comprende una secuencia de aminoácidos de una secuencia H-CDR3 representada en una cualquiera de las SEQ ID NO: 27-45. Se pueden usar otras especies que no sean un ratón, en particular, una especie para la que el anticuerpo utilizado en este experimento muestre reactividad cruzada. Preferentemente, la especie animal utilizada en este experimento es la rata.

Los animales, por ejemplo, rata, tratados con el anticuerpo control de isotipo mostraron signos de artrosis significativamente aumentados en comparación con los animales que recibieron un anticuerpo específico del receptor de GM-CSF de acuerdo con el presente ejemplo. Esto demuestra la eficacia de los anticuerpos en el tratamiento de la OA.

**Ejemplo 9:*****Ensayo clínico***

Se llevó a cabo un ensayo clínico en pacientes adultos que padecían artrosis de la rodilla. El objetivo del ensayo clínico aleatorizado, doblemente enmascarado, controlado por placebo, es determinar las diferencias comparativas entre los antagonistas de GM-CSF de la presente invención y el placebo para el alivio global del dolor y la calidad de vida en una muestra total de 30 pacientes con artrosis (OA) de la rodilla diagnosticada. Otro objetivo es determinar la seguridad y la tolerabilidad de los antagonistas de GM-CSF de la presente invención por la determinación de los acontecimientos adversos, exploraciones físicas y signos vitales.

***Procedimientos:***

Treinta pacientes (aproximadamente 15 varones adultos y 15 mujeres adultas), de 40 años de edad y superior, con un diagnóstico clínico de artrosis de la(s) rodilla(s) y dolor de rodilla comprobado durante al menos 15 días en el mes anterior a las pruebas se inscribieron en el experimento. Los pacientes recibieron una cantidad terapéuticamente eficaz de antagonistas de GM-CSF o un placebo (por ejemplo, una vez cada dos semanas durante aproximadamente seis meses).

Se utilizaron en este estudio las escalas Western Ontario y McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC; Bellamy y col, J Rheumatol 15(12):1833-40, 1988) y el instrumento de calidad de vida SF-36v2 (Quality Metric Health Outcomes Solutions, Lincoln, RI). El WOMAC es una medición en forma de cuestionario autoadministrado específico de la enfermedad acerca del estado de salud. Demuestra los síntomas clínicamente importantes en las áreas del dolor, rigidez y función física en pacientes con artrosis de la cadera y/o rodilla. El índice consiste en 24 preguntas (5 sobre el dolor, 2 sobre la rigidez y 17 sobre la función física) y se puede completar en menos de 5 minutos. El WOMAC es un instrumento válido, fiable y sensible para detectar cambios clínicamente importantes en el estado de salud tras una variedad de intervenciones (farmacológicas, nutritivas, quirúrgicas, de psicoterapia, etc.). El cuestionario WOMAC es válido para evaluar los efectos de la intervención en artrosis de cadera o de rodilla. El instrumento de calidad de vida SF-36v2 es una encuesta multiobjetivo sobre el estado de salud administrada en un formulario corto que incluye 36 preguntas. Proporciona un perfil de 8 escalas de puntuaciones funcionales sobre la salud y el bienestar, y también una medida resumen de la salud física y mental psicométricamente basada y un índice de utilidad de la salud basado en preferencias. Es una medida genérica, en oposición a un instrumento que esté destinado a una edad específica, enfermedad, o grupo de tratamiento. De acuerdo con ello, el SF-36v2 ha demostrado su utilidad en encuestas de población general y específica, comparando la carga relativa de enfermedades, y para diferenciar los beneficios para la salud producidos por una amplia gama de diferentes tratamientos. El SF-36v2 proporciona información sobre los siguientes aspectos y subconjuntos de salud; salud física (que comprende funcionamiento físico, papel físico, dolor corporal y salud general) y salud mental (que comprenden vitalidad, actividad social, papel emocional y salud mental).

**Resultados:**

Cambio en el dolor corporal: La mejora en el dolor corporal según SF-36v2 es estadísticamente significativa en pacientes tratados con los antagonistas de GM-CSF de la presente invención en comparación con el placebo. Es mejor una mayor puntuación porque significa que el paciente siente menos dolor después de tomar el producto. Existe una mejora estadística significativa en la puntuación del dolor corporal en el grupo que recibió los antagonistas de GM-CSF de la presente invención en comparación con el placebo.

Cambio en la puntuación del papel físico: El efecto superior de los antagonistas de GM-CSF de la presente invención en comparación con el placebo es estadísticamente significativa en la semana 8, semana 12, y semana 20 en términos de las limitaciones de papeles debidas a la salud física (papel físico). Es mejor una mayor puntuación porque significa que el paciente ha notado una mejora física y una reducción en las limitaciones padecidas en las actividades cotidianas. Existe una mejora estadística significativa en la puntuación del papel físico en el grupo que recibió los antagonistas de GM-CSF de la presente invención en comparación con el grupo del placebo.

Cambio en la puntuación total WOMAC: La puntuación total WOMAC del grupo tratado con los antagonistas de GM-CSF de la presente invención es mejor, desde un punto de vista estadísticamente significativo, que la puntuación total WOMAC del grupo placebo (es mejor una puntuación más baja).

Cambio en WOMAC ADL: La mejora en las actividades cotidianas (medida como subpuntuación WOMAC ADL) es mayor en el grupo tratado con los antagonistas de GM-CSF de la presente invención que en el grupo del placebo. Existe una mejora estadística significativa en la puntuación WOMAC ADL en el grupo tratado con los antagonistas de GM-CSF de la presente invención en comparación con el grupo del placebo (es mejor una puntuación más baja).

**Conclusiones:**

El ensayo clínico muestra la eficacia de los antagonistas de GM-CSF de la presente invención para mejorar la calidad de vida de los pacientes con artrosis de la rodilla. Los resultados del ensayo clínico también muestran la seguridad y tolerancia del producto, dado que no se observaron efectos adversos graves.

La eficacia de los antagonistas de GM-CSF de la presente invención también se puede establecer con estudios en otras especies con los que los antagonistas de GM-CSF de la presente invención tienen reactividad cruzada (por ejemplo, en caballos, para evaluar el movimiento de la articulación); y mediante el uso de estudio in vitro para determinar la capacidad de los antagonistas de GM-CSF de la presente invención para inhibir la degradación de agregano inducida por IL-1, realizando el ensayo sobre un cultivo de condrocitos.

**BIBLIOGRAFÍA**

Bellamy y col, J Rheumatol 15(12):1833-40, 1988  
 Blom y col, Arthritis Rheum 56:147-157, 2007  
 Ghose y col, J Combin Chem: 1:55-68, 1999  
 Knappik y col, J. Mol. Biol. 296:57, 2000  
 Krebs y col, J. Immunol. Methods. 254:67, 2001  
 Lipinski y col, Adv Drug Del Rev 23:3-25, 1997  
 Mills y col, J Immunol 164:6166-6173, 2000  
 Pritzker y col, Osteoarthritis Cartilage 14:13-29, 2006  
 Rothe y col, J. Mol. Biol. 376:1182, 2008

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> THE UNIVERSITY OF MELBOURNE  
HAMILTON, John (solo US)  
COOK, Andrew (solo US)

<120> TRATAMIENTO DE LA ARTROSIS

<130> 30898448/EJH

10 <150> US 61/139.679  
<151> 22-12-2008

<150> US 61/164.486  
15 <151> 30-03-2009

<160> 46

<170> Patent In versión 3.5

20 <210> 1  
<211> 140  
<212> PRT  
<213> artificial

25 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de región variable de la cadena pesada

<400> 1

Met Glu Leu Ile Met Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Val His

1 5 10 15

30

ES 2 572 368 T5

Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly  
20 25 30

Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp  
35 40 45

Tyr Asn Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Asp Trp  
50 55 60

Ile Gly Tyr Ile Ala Pro Tyr Ser Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Glu  
65 70 75 80

Phe Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala  
85 90 95

Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr  
100 105 110

Cys Ala Arg Arg Asp Arg Phe Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
115 120 125

Gly Thr Thr Leu Arg Val Ser Ser Val Ser Gly Ser  
130 135 140

<210> 2  
<211> 150  
<212> PRT  
<213> artificial  
  
<220>

5

ES 2 572 368 T5

<223> secuencia de aminoácidos de región variable de la cadena ligera

<400> 2

5

Met Gly Phe Lys Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Tyr Met Leu

1 5 10 15

Leu Trp Leu Ser Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Ile Gln Ser Gln

20 25 30

Lys Phe Val Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys

35 40 45

Ala Ser Gln Asn Val Gly Ser Asn Val Ala Trp Leu Gln Gln Lys Pro

50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Thr Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Ser Gly

65 70 75 80

ES 2 572 368 T5

Arg Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile

85

90

95

Leu Thr Ile Thr Thr Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys

100

105

110

Gln Gln Phe Asn Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu

115

120

125

Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro

130

135

140

Ser Ser Lys Gly Glu Phe

145

150

5 <210> 3  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> artificial

10 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de región variable de la cadena pesada

<400> 3

ES 2 572 368 T5

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ser Gly Ile Glu Asn Lys Tyr Ala Gly Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala  
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr  
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Gly Phe Gly Thr Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 4  
<211> 105  
<212> PRT

5



ES 2 572 368 T5

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp

1 5 10

5 <210> 6  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> artificial

10 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
<400> 6

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro

1 5 10

15 <210> 7  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> artificial

20 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
<400> 7

Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

25 <210> 8  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> artificial

30 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
35 <400> 8

Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

40 <210> 9  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> artificial

45 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
<400> 9

Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro

1 5 10

50 <210> 10

ES 2 572 368 T5

<211> 10  
 <212> PRT  
 <213> artificial

5 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
 <400> 10

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp

10 1 5 10

<210> 11  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> artificial

15 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
 20 <400> 11

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser

1 5 10

<210> 12  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> artificial

25 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
 30 <400> 12

Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr

1 5 10

<210> 13  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> artificial

35 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)  
 40 <400> 13

Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 14  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> artificial

45 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 de *Homo sapiens* (H-CDR3)



ES 2 572 368 T5

Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

5 <210> 19  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

10 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR1 ligera (L-CDR1)  
<400> 19

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ile Leu Asn  
1 5 10

15 <210> 20  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> artificial

20 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR2 ligera (L-CDR2)  
<400> 20

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser

25 1 5  
30 <210> 21  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> artificial

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 ligera (L-CDR3)  
35 <400> 21

Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg Thr  
1 5

40 <210> 22  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> artificial

45 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR1 ligera (L-CDR1)  
<400> 22

ES 2 572 368 T5

Arg Ala Ser His Arg Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

5 <210> 23  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> artificial

10 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR2 ligera (L-CDR2)  
<400> 23

Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

15 <210> 24  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> artificial

20 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 ligera (L-CDR3)  
<400> 24

Gln Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Val Thr

1 5

25 <210> 25  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> artificial

30 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
<400> 25

Gly Tyr Ile Phe Pro Thr Phe Ala Leu His

1 5 10

40 <210> 26  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> artificial

45 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR2 pesada (H-CDR2)  
<400> 26

Ser Ile Asn Thr Ala Ser Gly Lys Thr Lys Phe Ser Thr Lys Phe Gln

1 5 10 15

50 <210> 27  
<211> 13

ES 2 572 368 T5

<212> PRT  
<213> artificial

5 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 27

Asp Arg Phe Gln Asn Ile Met Ala Thr Ile Leu Asp Val

1 5 10

10

<210> 28  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

15

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 28

20

Val Gly Ser Phe Ser Gly Ile Ala Tyr Arg Pro

1 5 10

25 <210> 29  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

30

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 29

Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Ala Leu Arg Pro

1 5 10

35 <210> 30  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

40 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 30

Val Gly Ser Phe Ser Pro Pro Thr Tyr Gly Tyr

1 5 10

45

50 <210> 31  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

55

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 31

ES 2 572 368 T5

Val Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Pro Tyr Arg Pro

1 5 10

5 <210> 32  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

10 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
<400> 32

Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Leu Gly Leu

1 5 10

15 <210> 33  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

20 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
<400> 33

Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Val Tyr Gly Leu

1 5 10

25 <210> 34  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

30 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
<400> 34

Val Gly Ser Phe Ser Pro Pro Ala Tyr Arg Pro

1 5 10

40 <210> 35  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

45 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
<400> 35

Val Gly Ser Phe Ser Pro Val Thr Tyr Gly Leu

1 5 10

50 <210> 36  
<211> 11

ES 2 572 368 T5

<212> PRT  
<213> artificial

5 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 36

Val Gly Ser Phe Ser Gly Leu Ala Tyr Arg Pro

1 5 10

10

<210> 37  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

15

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 37

20

Val Gly Ser Phe Ser Pro Ile Thr Tyr Gly Leu

1 5 10

25

<210> 38  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

30

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 38

Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

35

<210> 39  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

40

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 39

Val Gly Ser Phe Ser Gly Trp Ala Phe Asp Tyr

1 5 10

45

<210> 40  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

50

<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

ES 2 572 368 T5

<400> 40

Leu Gly Ser Val Thr Ala Trp Ala Phe Asp Tyr  
 1 5 10

5 <210> 41  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> artificial

10 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 41

Ala Gly Ser Ile Pro Gly Trp Ala Phe Asp Tyr  
 1 5 10

15 <210> 42  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> artificial

20 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

25 <400> 42

Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Met Gly Leu  
 1 5 10

30 <210> 43  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> artificial

35 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

<400> 43

Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Met Gly Leu  
 1 5 10

40 <210> 44  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> artificial

45 <220>  
 <223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)

50 <400> 44

Val Gly Ser Phe Ser Gly Pro Ala Leu His Leu  
 1 5 10

<210> 45

ES 2 572 368 T5

<211> 11  
<212> PRT  
<213> artificial

5 <220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
  
<400> 45

Val Gly Ser Val Ser Arg Ile Thr Tyr Gly Phe

10 1 5 10

<210> 46  
<211> 11  
<212> PRT  
15 <213> artificial

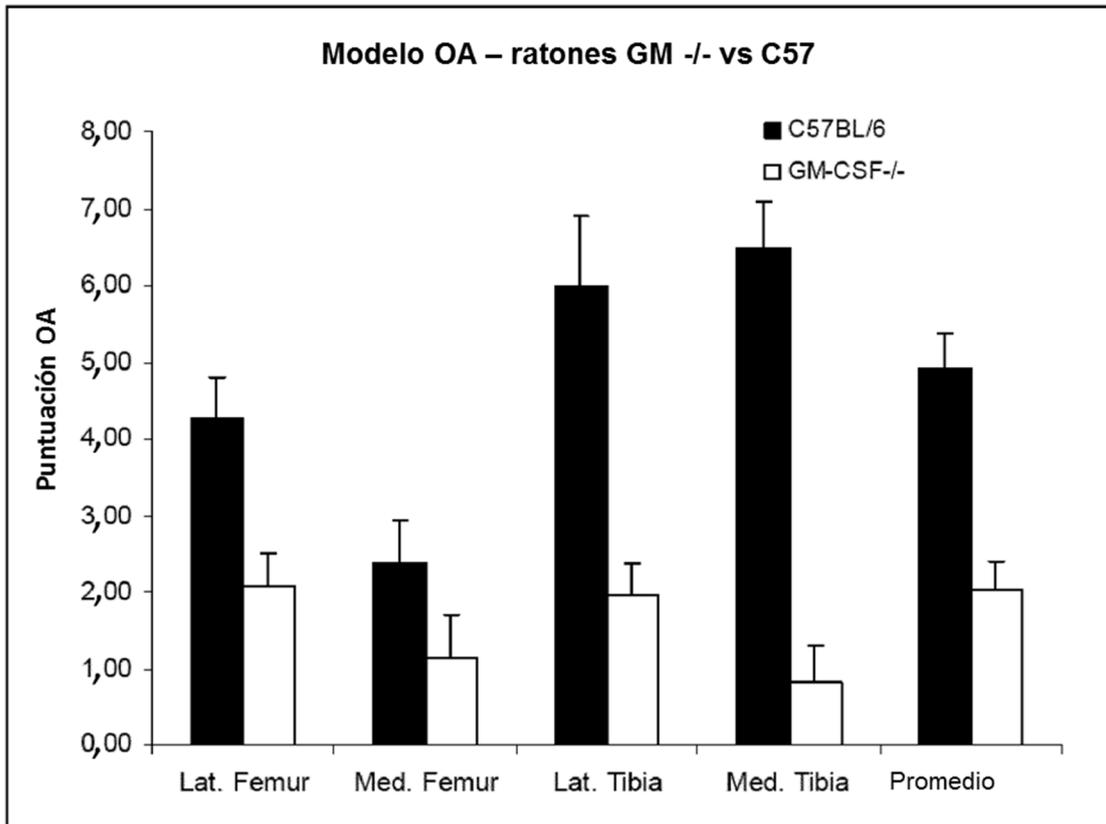
<220>  
<223> secuencia de aminoácidos de CDR3 pesada (H-CDR3)  
  
20 <400> 46

Val Gly Ser Phe Ser Pro Leu Thr Leu Gly Leu

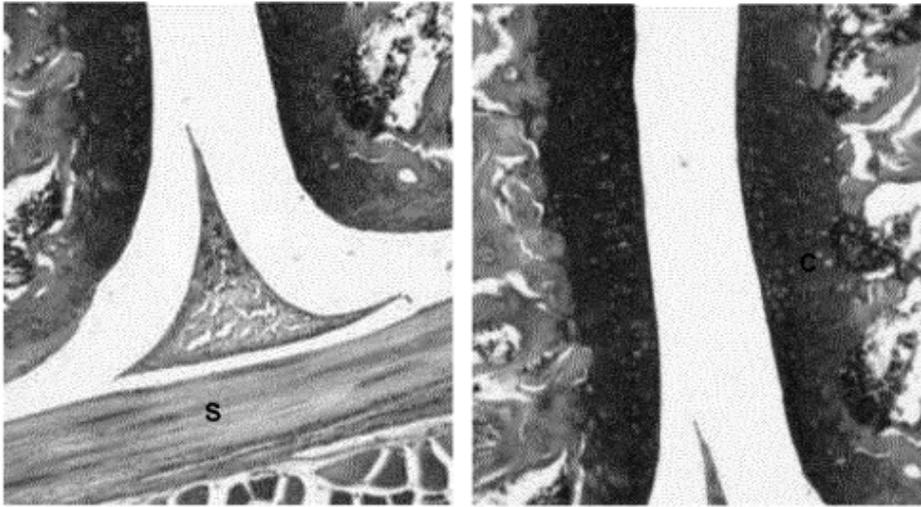
1 5 10

**REIVINDICACIONES**

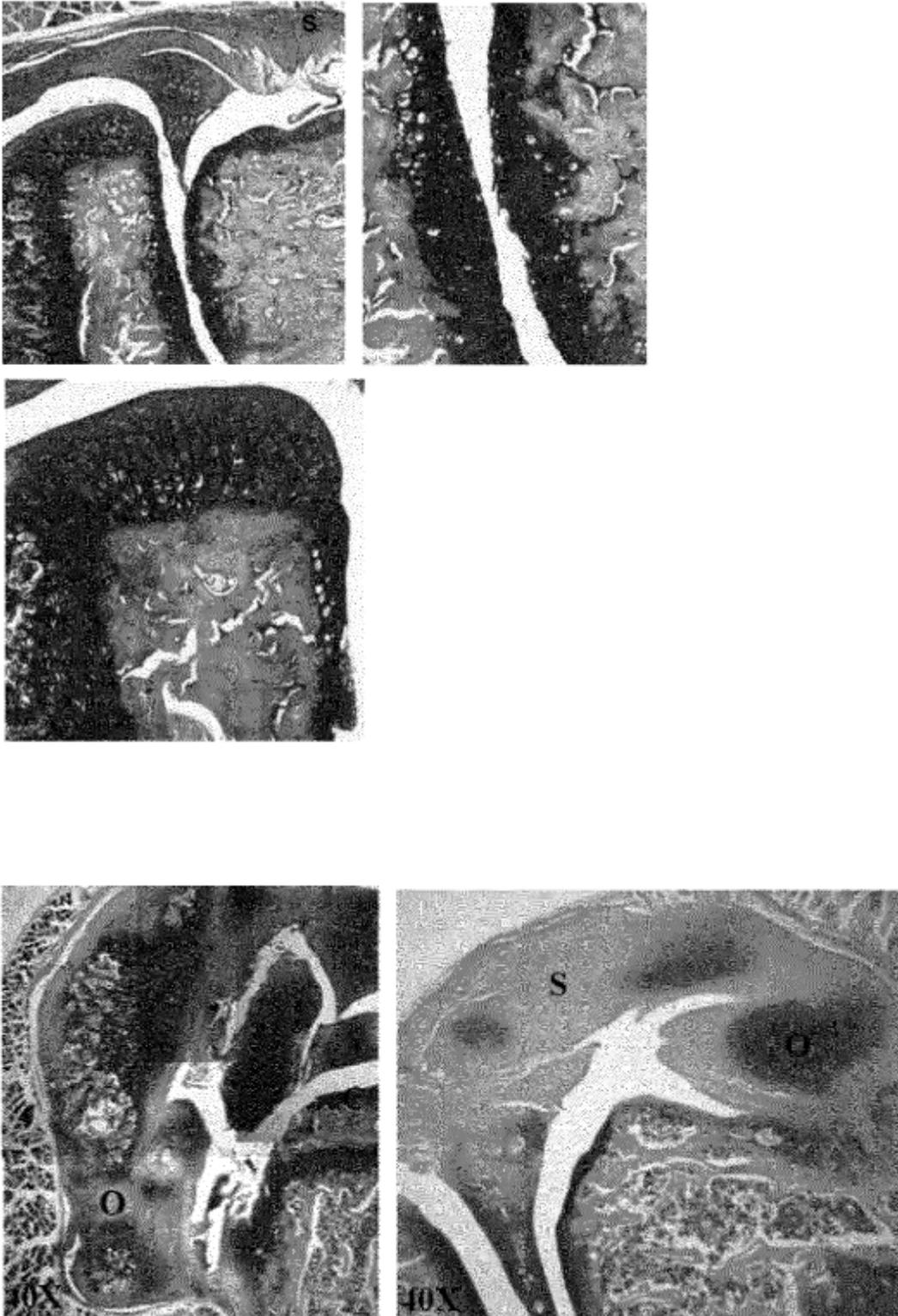
1. Un antagonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de artrosis, en el que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF.
- 5 2. Una composición que comprende un antagonista de GM-CSF para su uso en el tratamiento de la artrosis, en la que el antagonista es un anticuerpo específico de GM-CSF y, además, en la que dicha composición comprende además uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.
3. Un anticuerpo para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano.
4. Un anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.
- 10 5. Un anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada que tiene al menos un 90 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, o una región variable de la cadena ligera que tiene al menos un 90 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.
- 15 6. Un anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada que tiene al menos un 95 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, o una región variable de la cadena ligera que tiene al menos un 95 % de homología con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4.
- 20 7. Un anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de región variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 3, o la secuencia de aminoácidos de región variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 4.



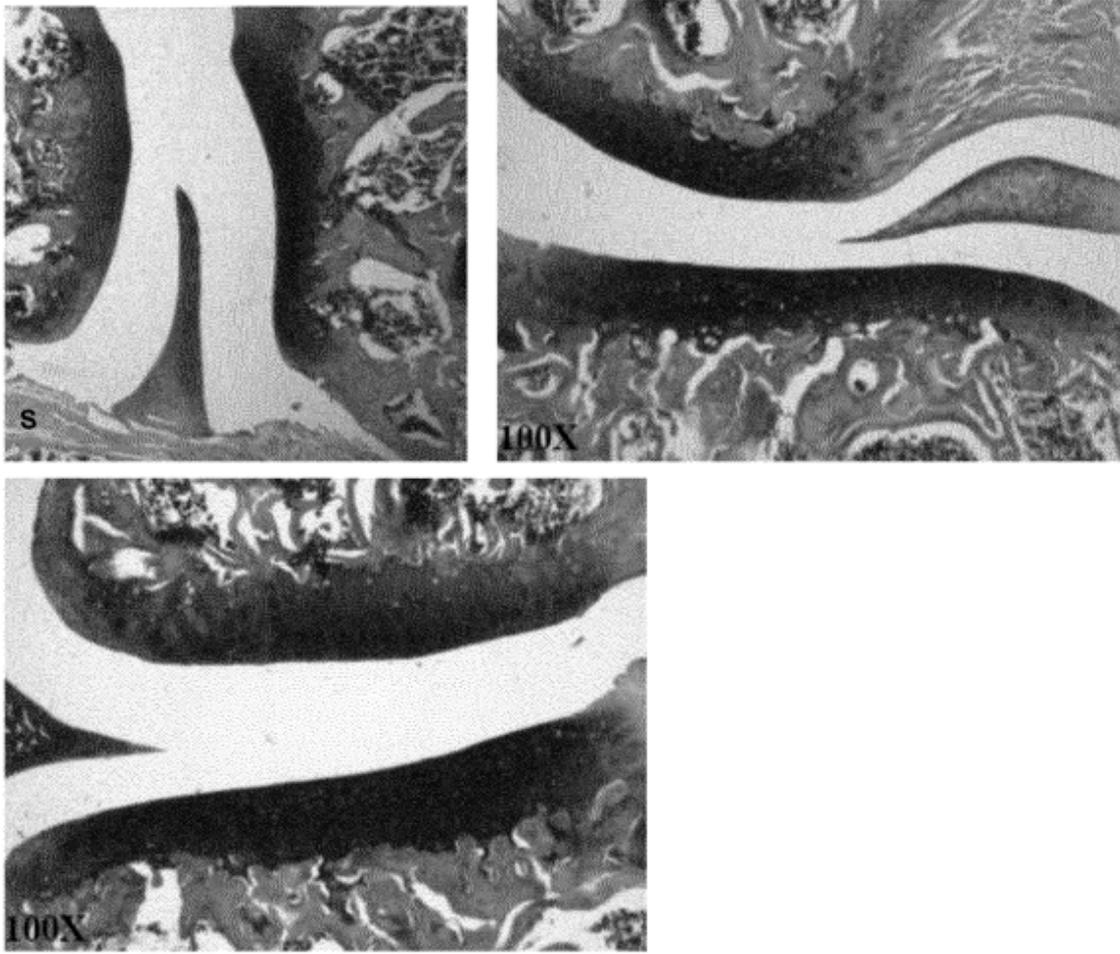
**Figura 1**



**Figura 2**



**Figura 3**



**Figura 4**

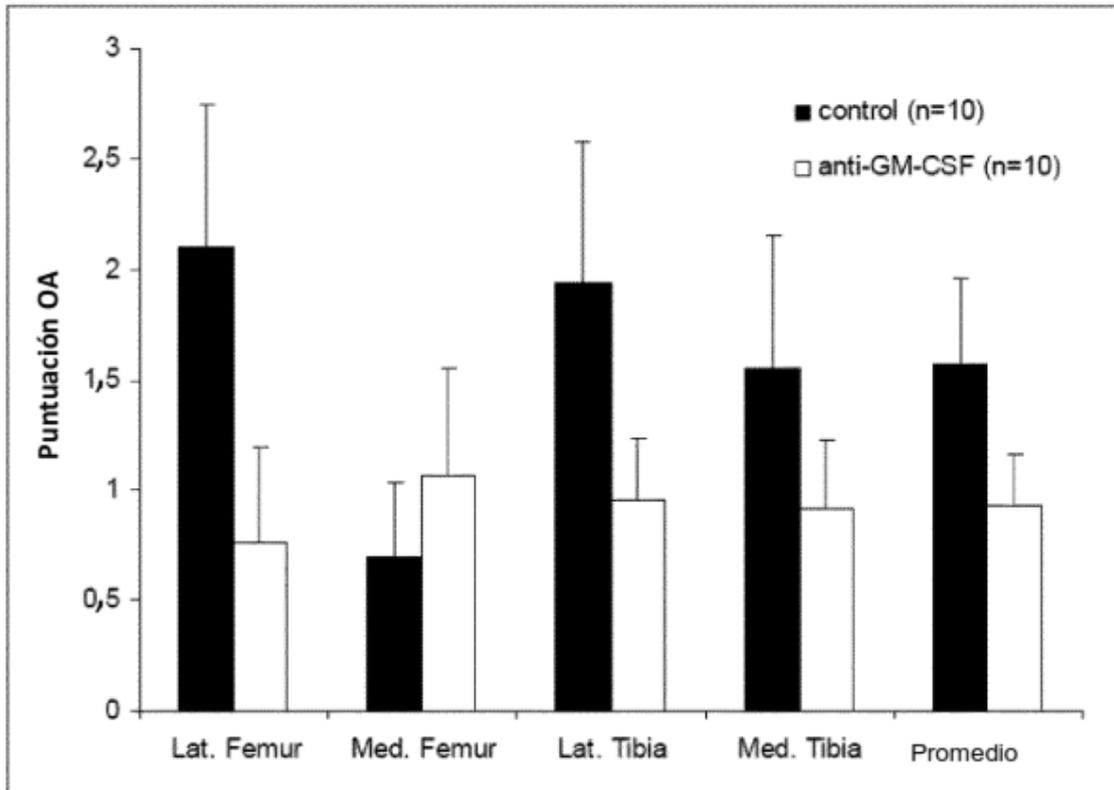
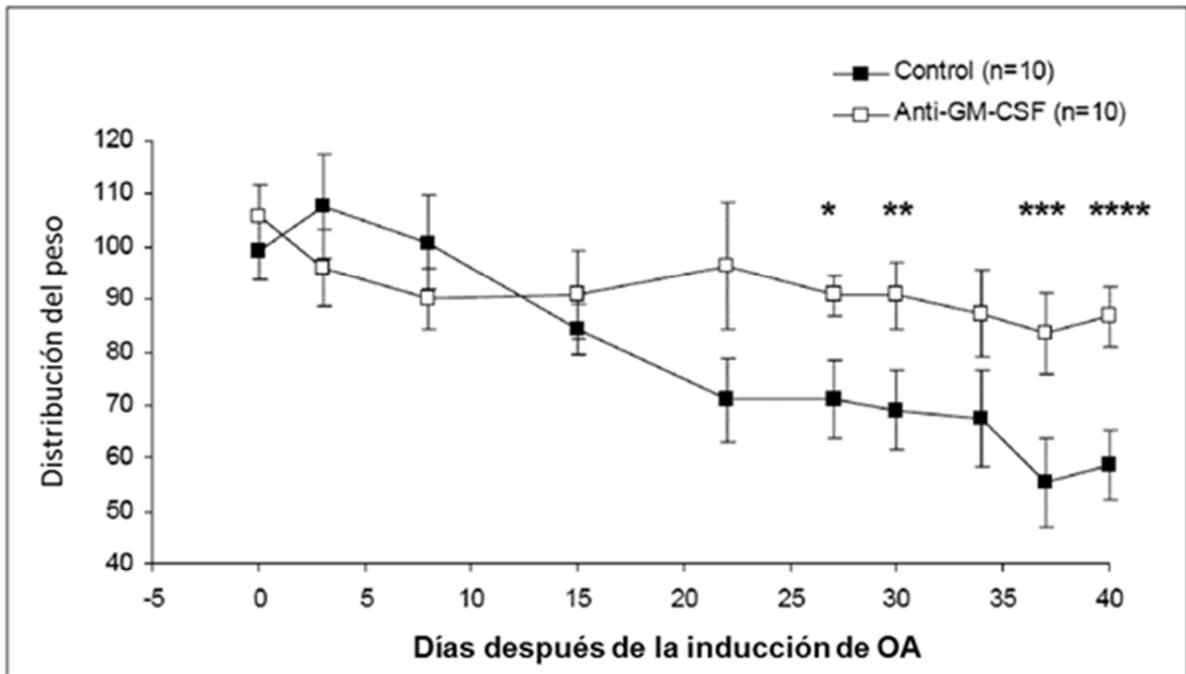


Figura 5



Los resultados se expresan como promedio  $\pm$  SEM.

\*  $p=0,04$ , \*\*  $p=0,04$ , \*\*\*  $p=0,02$ , \*\*\*\* $p=0,005$ , Prueba de la t no emparejada

Figura 6