República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020026798-8 A2

(22) Data do Depósito: 03/07/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 30/03/2021

(54) Título: COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS OU CONDIÇÕES RELACIONADAS COM O INFLAMASSOMA

(51) Int. Cl.: C07K 16/24; A61K 39/395; A61P 25/14.

(30) Prioridade Unionista: 03/07/2018 US 16/026,482.

(71) Depositante(es): UNIVERSITY OF MIAMI.

(72) Inventor(es): ROBERT W. KEANE; W. DALTON DIETRICH; JUAN PABLO DE RIVERO VACCARI; HELEN M. BRAMLETT; ROBERTA BRAMBILLA.

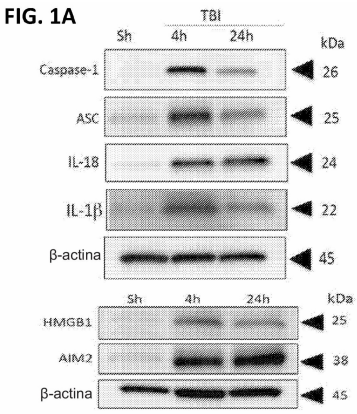
(86) Pedido PCT: PCT US2019040635 de 03/07/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/010273 de 09/01/2020

(85) Data da Fase Nacional: 28/12/2020

(57) Resumo: "COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS OU CONDIÇÕES RELACIONADAS COM O INFLAMASSOMA". As composições e os métodos aqui descritos incluem agentes que inibem a sinalização do inflamassoma no mamífero tais como anticorpos direcionados contra componentes do inflamassoma utilizados isoladamente ou em combinação com inibidor(es) da absorção de vesículas extracelulares. Também são aqui descritos composições e métodos de uso das mesmas para o tratamento de doenças ou condições relacionadas com o inflamassoma.

FIG. 1A



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS OU CONDIÇÕES RELACIONADAS COM O INFLAMASSOMA".**

REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] Este pedido reivindica a prioridade do Pedido U.S. No. de Série 16/026.482, depositado em 3 de julho de 2018, que é no presente documento incorporado por referência em sua totalidade para todos os propósitos.

DECLARAÇÃO DE PESQUISA PATROCINADA DE MODO FEDERAL

[0002] Esta invenção foi constituída com o apoio do governo dos U.S. sob a concessão número 4R42BS086274-02 concedida pelo National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), assim como a concessão número 5R42NS086274-03 concedida pelo National Institute of Health. O governo dos U.S. possui certos direitos sobre a invenção.

DESCRIÇÃO DO ARQUIVO DE TEXTO ENCAMINHADO ELETRONICAMENTE

[0003] O conteúdo do arquivo de texto encaminhado eletronicamente em anexo é no presente documento incorporado por referência na sua totalidade: Uma cópia de formato legível por computador da Listagem de Sequências (nome de arquivo: UNMI_010_02WO_SeqList_ST25.txt, data de registro: 3 de julho de 2019, tamanho de arquivo ~19,5 kilobytes).

CAMPO

[0004] A invenção refere-se de uma forma geral aos campos da imunologia e da medicina. Mais particularmente, a invenção se refere às composições e métodos para modular a atividade de ASC (proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), e atividade do inflamassoma Ausente no Melanoma 2 (AIM2) no Sistema Nervoso Central (CNS) e/ou

pulmões de um mamífero como tratamentos para reduzir a inflamação em resposta a lesões ou condições que produzem inflamação no CNS e/ou pulmões. A invenção também se refere a anticorpos monoclonais ou seus fragmentos que se ligam especificamente ao ASC.

ANTECEDENTES

[0005] Lesão cerebral traumática grave (TBI) é uma grande preocupação de saúde pública e é uma das principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo (Summers, C.R. *et al*., (2009). Traumatic brain injury in the United States: an epidemiologic overview. Mt Sinai J Med 76, 105-110). Além de lesão direta ao cérebro, a TBI pode levar a complicações em outros órgãos, tais como os pulmões. A lesão pulmonar aguda (ALI; 2) é um problema cardiopulmonar comum após trauma e está associada a uma taxa de mortalidade hospitalar de até 40% (Rincon F. *et al*., (2012). Impact of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after traumatic brain injury in the United States. Neurosurgery 71, 795-803). Os pacientes com TBI, em particular, são suscetíveis a desenvolver ALI, com alguns estudos relatando uma incidência de até 30% (Nicolls, M.R. *et al*., (2014). Traumatic brain injury: lungs in a RAGE. Sci Transl Med 6, 252fs234). Estudos recentes mostraram que fatores inflamatórios sistêmicos podem levar à disfunção pulmonar e lesão pulmonar após a TBI (Rincon F. *et al*., (2012). Impact of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after traumatic brain injury in the United States. Neurosurgery 71, 795-803), mas o mecanismo molecular preciso subjacente à lesão pulmonar induzida por TBI permanece mal definido.

[0006] Uma inundação de mediadores inflamatórios secretados, incluindo citocinas, quimiocinas e padrões moleculares associados a danos (DAMPs) liberados por células lesadas contribuem para a inflamação do cérebro e afetam órgãos distais, tais como os pulmões (Nicolls, M.R. *et al*., (2014). Traumatic brain injury: lungs in a RAGE. Sci

Transl Med 6, 252fs234). Um dos DAMPs mais amplamente estudados é o grupo de alta mobilidade box-1 (HMGB1), que pode servir como um mediador precoce da inflamação em vários estados patogênicos, incluindo a TBI (Andersson U. *et al*., (2011). Introduction: HMGB1 in inflammation and innate immunity. J Intern Med 270, 296-300). Um estudo mais recente mostrou que o HMGB1 pode estar envolvido no mecanismo de disfunção pulmonar induzida por TBI (Weber *et al*., (2014). The HMGB1-RAGE axis mediates traumatic brain injury-induced pulmonary dysfunction in lung transplantation. Sci Transl Med 6, 252ra124). A liberação do HMGB1 pode ser regulada pelo inflamassoma, um complexo de múltiplas proteínas envolvido na ativação da caspase-1 e no processamento de IL-1β e IL-18 após a TBI (Lu *et al*. (2012). Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. Nature 488, 670-674).

[0007] Uma variedade de explicações foi apresentada para explicar os patomecanismos de complicações pulmonares após a TBI, incluindo aumento da permeabilidade vascular levando a vazamento capilar e infiltração de detritos protéicos (Ware *et al*., (2000). The Acute Respiratory Distress Syndrome. New England Journal of Medicine 342, 1334-1349). As vesículas extracelulares (EV) são vesículas contidas na membrana que desempenham um papel na comunicação célula a célula (Yanez-Mo, M. *et al*., (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. J Extracell Vesicles 4, 27066) e foram implicados em desempenhar um papel no desenvolvimento de ALI em um modelo de murino induzido por LPS. Além disso, foi demonstrado que a EV pode transportar citocinas bioativas tais como IL-1β e proteínas de inflamassoma (Qu, Y. *et al*., (2007). Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. J Immunol 179, 1913-1925) (de Rivero Vaccari, J.P.

et al., (2015). Exosome-mediated inflammasome signaling after central nervous system injury. J Neurochem), e pode desencadear uma resposta imunológica e amplificar a inflamação por meio de sua carga nas células adjacentes e circundantes. No entanto, não se sabe se a sinalização do inflamassoma mediada por EV pode contribuir para o patomecanismo da ALI induzida por TBI. Além disso, também não se sabe se os patomecanismos da ALI induzida por TBI são compartilhados por outras condições que produzem inflamação pulmonar. Além disso, há uma escassez de medicamentos aprovados pela Federal Drug Administration (FDA) para tratar a inflamação pulmonar.

[0008] Consequentemente, há uma necessidade urgente não apenas para elucidar os patomecanismos da inflamação pulmonar provocada por TBI, assim como outras condições, mas também o desenvolvimento de composições terapêuticas e seus usos para o tratamento e/ou prevenção da inflamação pulmonar.

SUMÁRIO

[0009] Em um aspecto, é fornecido nessa invenção um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga à proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo se liga especificamente a um epítopo de ASC, em que o epítopo compreende ou consiste na sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 5 ou 5 a 10, 10 a 15 ou 15 a 20 aminoácidos da SEQ ID NO: 5.

[0010] Em outro aspecto, é fornecido nessa invenção um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ

ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22. Em alguns casos, o ASC é a proteína ASC humana. Em alguns casos, o fragmento de anticorpo é um Fab, um $F(ab')_2$, um Fab', um scFv, um anticorpo de domínio único, um diacorpo ou um anticorpo de camelídeo de cadeia única ou um anticorpo de tubarão. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo é humano, humanizado ou quimérico. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma molécula de ácido nucleico isolada que codifica o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um vetor de expressão que compreende a molécula de ácido nucleico. Em alguns casos, se fornece nessa invenção que a molécula de ácido nucleico está ligada de maneira operável às sequências reguladoras adequadas para a expressão do segmento de ácido nucleico em uma célula hospedeira. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão. Em outro aspecto, é fornecido nessa invenção um método para a produção de um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga especificamente ao ASC, o método compreendendo: cultivar uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão sob condições em que a molécula de ácido nucleico é expressa, produzindo assim o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma composição farmacêutica que compreende o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo e um veículo, dilu-

ente ou excipiente farmaceuticamente aceitável. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um método de tratamento da inflamação em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, tratando assim a inflamação no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória. Em alguns casos, a inflamação é uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma lesão do sistema nervoso central (CNS), uma doença autoimune, autoinflamatória ou neurodegenerativa. Em alguns casos, a lesão do CNS selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI). Em alguns casos, a doença autoimune ou neurodegenerativa é esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson, distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerativa) ou esclerose múltipla (MS). Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma doença ou distúrbio metabólico. Em alguns casos, a doença metabólica é síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, distúrbio de armazenamento de lipídios, doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. Em alguns casos, a doença autoinflamatória é a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença in-

flamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle. Em alguns casos, o controle é um indivíduo não tratado. Em alguns casos, a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um método de tratamento de esclerose múltipla (MS) em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo, tratando assim a MS no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle. Em alguns casos, o controle é um indivíduo não tratado. Em alguns casos, a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

[0011] Em mais outro aspecto, é fornecido nesta invenção um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia leve (VL) e uma região variável de cadeia pesada (VH), em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14 ou uma variante da mes-

ma tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VL compreende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31. Em alguns casos, o ASC é a proteína ASC humana. Em alguns casos, o fragmento de anticorpo é um Fab, um $F(ab')_2$, um Fab', um scFv, um anticorpo de domínio único, um diacorpo ou um anticorpo de camelídeo de cadeia única. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo é humano, humanizado ou quimérico. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma molécula de ácido nucleico isolada que codifica o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um vetor de expressão que compreende a molécula de ácido nucleico. Em alguns casos, é no presente documento fornecido que a molécula de ácido nucleico está ligada de maneira operável nas sequências reguladoras adequadas para a expressão do segmento de ácido nucleico em uma célula hospedeira. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão. Em outro aspecto, é no presente documento fornecido um método para a produção de um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga especificamente ao ASC, o método compreendendo: o cultivo de uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão sob condições em que a molécula de ácido nucleico é expressa, produzindo assim o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma composição farmacêutica que compreende o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo e um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável. Em alguns casos, é

no presente documento fornecido um método de tratamento da inflamação em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, tratando assim a inflamação no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória. Em alguns casos, a inflamação é uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma lesão do sistema nervoso central (CNS), uma doença autoimune, autoinflamatória ou neurodegenerativa. Em alguns casos, a lesão do CNS selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI). Em alguns casos, a doença autoimune ou neurodegenerativa é a esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson, distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerativa) ou esclerose múltipla (MS). Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma doença ou distúrbio metabólico. Em alguns casos, a doença metabólica é síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, distúrbio de armazenamento de lipídios, doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. Em alguns casos, a doença autoinflamatória é a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). Em

alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle. Em alguns casos, o controle é um indivíduo não tratado. Em alguns casos, a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um método de tratamento de esclerose múltipla (MS) em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo, tratando assim a MS no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação de inflamassome no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle. Em alguns casos, o controle é um indivíduo não tratado. Em alguns casos, a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

[0012] Em ainda outro aspecto, é fornecido nesta invenção um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1,

HCDR2 e/ou HCDR3; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 e LCDR3 de SEQ ID NO: 14, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%,

98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO : 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à se-

quência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO:

31. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido

da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Em alguns casos, o ASC é a proteína ASC humana. Em alguns casos, o fragmento de anticorpo é um Fab, um $F(ab')_2$, um Fab', um scFv, um anticorpo de domínio único, um diacorpo ou um anticorpo de camelídeo de cadeia única. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo é humano, humanizado ou quimérico. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma molécula de ácido nucleico isolada que codifica o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo. Em alguns casos, é no

presente documento fornecido um vetor de expressão que compreende a molécula de ácido nucleico. Em alguns casos, é no presente documento fornecido que a molécula de ácido nucleico está ligada de maneira operável às sequências reguladoras adequadas para a expressão do segmento de ácido nucleico em uma célula hospedeira. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão. Em outro aspecto, é no presente documento fornecido um método para a produção de um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga especificamente ao ASC, o método compreendendo: o cultivo de uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão sob condições em que a molécula de ácido nucleico é expressa, produzindo assim o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC. Em alguns casos, é no presente documento fornecida uma composição farmacêutica que compreende o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo e um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um método de tratamento da inflamação em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, tratando assim a inflamação no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória. Em alguns casos, a inflamação é uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma lesão do sistema nervoso central (CNS), uma doença autoimune, autoinflamatória ou neurodegenerativa. Em alguns casos, a lesão do CNS é selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI).

Em alguns casos, a doença autoimune ou neurodegenerativa é esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson, distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerosa) ou esclerose múltipla (MS). Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma doença ou distúrbio metabólico. Em alguns casos, a doença metabólica é síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, distúrbio de armazenamento de lipídios, doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. Em alguns casos, a doença autoinflamatória é a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle. Em alguns casos, o controle é um indivíduo não tratado. Em alguns casos, a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação. Em alguns casos, é no presente documento fornecido um método de tratamento de esclerose múltipla (MS) em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo, tratando assim a MS no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fra-

gmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo. Em alguns casos, a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle. Em alguns casos, o controle é um indivíduo não tratado. Em alguns casos, a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0013] A FIG. 1A-1N ilustram a ativação do inflamassoma em tecido cortical e pulmonar de camundongo C57/BL6 pós-TBI. A FIG. 1A mostra uma imunomaracação representativa de caspase-1 ativa, ASC, IL-18, IL-β, HMGB1 e AIM2 após TBI. Caspase-1 ativa (FIG. 1B), ASC (FIG. 1C), IL-18 (FIG. 1D), HMGB1 (FIG. 1E), AIM 2 (FIG. 1F) e IL-β, (FIG. 1G), estão significativamente elevados no tecido cortical 4 e 24 horas após a TBI. Dados apresentados como média +/- SEM; ****p < 0,001, ***p < 0,01, **p < 0,01, *p < 0,05 em comparação com simulação. N = 4 a 5 por grupo. FIG. 1H mostra um imunoblot representativo de caspase-1 ativa, ASC, IL-18, IL-β, HMGB1 e AIM2 no tecido pulmonar. I, J, K, L, M, N). Caspase-1 ativa (FIG. 1I), ASC (FIG. 1J), IL-18 (FIG. 1K), HMGB1 (FIG. 1L), AIM 2 (FIG. 1M), e IL-β, (FIG. 1N) são significativamente elevados no tecido pulmonar 4 e 24 h após a TBI. Dados apresentados como média +/- SEM. N = 4 a 5 por grupo, ****p < 0,001, ***p < 0,01, **p < 0,01, *p < 0,05 em comparação com a simulação.

[0014] A FIG. 2A-2C ilustra a expressão de proteínas do inflamassoma em células epiteliais alveolares do Tipo II. A FIG. 2A mostra AIM2, a FIG. 2B mostra Caspase-1 ativa e a FIG. 2C mostra aumentos de imunorreatividade ASC no tecido pulmonar após CCI (4, 24 h)

quando comparado com camundongos. Imagens confocais de AIM2, caspase-1 e ASC (verde) e células epiteliais do tipo II (proteína C do tensoativo, vermelho).

[0015] A FIG. 3A-3E ilustra que a TBI aumenta a expressão nuclear e citoplasmática de HMGB1 no pulmão de camundongos. A FIG. 3A mostra imunoblot representativo de HMGB1 nuclear após TBI. A FIG. 3B mostra que o HMGB1 nuclear está significativamente elevado em animais feridos de 4 horas em comparação com a simulação. A FIG. 3C mostra imunoblot representativo de HMGB1 citoplasmático após TBI. A FIG. 3D mostra que o HMGB1 citoplasmático é significativamente elevado em animais feridos de 4 horas em comparação com a simulação. Dados apresentados como média +/- SEM; *p < 0,05 em comparação com simulação. N = 4 a 5 por grupo. A FIG. 3E mostra a imunorreatividade de HMGB1 aumentada no tecido pulmonar após CCI quando comparado a camundongos simulados. Imagens confocais de células epiteliais de HMGB1 e tipo II (proteína C de tensoativo, vermelho).

[0016] A FIG. 4A-4C ilustra a formação de piroptossoma nos pulmões de camundongos 4 horas após TBI. A FIG. 4A mostra que a TBI induz a variação crescente de ASC no tecido pulmonar, indicando a formação do piroptossoma, uma oligomerização de dímeros de ASC que leva à ativação da caspase-1 e piroptose. A FIG. 4B mostra o imunoblot representativo e a FIG. 4C mostra a quantificação da gasdermin. A Gasdermin-D é significativamente elevada no tecido pulmonar pós-TBI. Dados apresentados como média +/- SEM. N = 4 a 5 por grupo, **p < 0,01 em comparação com a simulação.

[0017] A FIG. 5A-5B ilustra que a TBI induz alterações morfológicas alveolares e lesão pulmonar aguda em camundongos. A FIG. 5A mostra coloração H&E de seções de pulmão de animais simulados e feridos em 4 h e 24 h. As seções mostram evidências de infiltração de

neutrófilos (pontas de seta), mudanças na morfologia das membranas capilares alveolares (asterisco, *), edema intersticial (setas curtas) e evidências de espessamento do interstício e do septo alveolar (libra, #). A FIG. 5B mostra que a pontuação de lesão pulmonar aguda está significativamente aumentada em animais feridos em comparação com a simulação em 4 h e 24 h. Dados apresentados como média +/- SEM. N = 4 a 5 por grupo, *p < 0,05 em comparação com a simulação.

[0018] A FIG. 6 ilustra a expressão de CD81 em EV derivada de soro de camundongos controle e feridos com TBI. Imunoblot representativo de CD81 em EV derivada de soro de controle simulado e camundongos feridos por TBI.

[0019] A FIG. 7A-7G ilustra a transferência adotiva de EV de animais com TBI que induzem caspase-1 e ASC nos pulmões de camundongos não feridos. A FIG. 7A ilustra um imunoblot representativo mostrando que caspase-1 (FIG. 7B), ASC (FIG. 7C), IL-18 (FIG. 7D), AIM2 (FIG. 7E), HMGB1 (FIG. 7F) são elevados nos pulmões de animais que receberam EV isolada de camundongos com TBI em comparação com EV de animais simulados. Dados apresentados como média +/- SEM; *p < 0,05 em comparação com a simulação. N = 3 por grupo. A EV de camundongos com TBI induziu alterações morfológicas alveolares (tamanho alveolar diminuído) e infiltração de células inflamatórias, conforme determinado pela coloração H&E (FIG. 7G). A pontuação de ALI é significativamente aumentada em EV liberada de camundongos feridos em comparação com camundongos não feridos (FIG. 7G). Dados apresentados como média +/- SEM; **p < 0,01., *p < 0,05 em comparação com o grupo sem lesão.

[0020] A FIG. 8A-8F ilustra o tratamento com Enoxaparina (3 mg/kg) e IC 100 (5 mg/kg) reduz a expressão do inflamassoma nos pulmões de animais liberados EV de camundongos feridos. A FIG. 8A ilustra um imunoblot representativo mostrando que caspase-1 (FIG.

8B), ASC (FIG. 8C), IL-1β (FIG. 8D), AIM2 (FIG. 8E), HMGB1 (FIG. 8F) são reduzidos nos pulmões de animais que foram tratados com Enoxaparina e IC 100 quando comparados a animais de controle positivo não tratados. Dados apresentados como média +/- SEM; ****p < 0,001, ***p < 0,01, **p < 0,01, *p < 0,05 em comparação com simulação. N = 4 por grupo.

[0021] A FIG. 9A-9E ilustra o tratamento com Enoxaparina (3 mg/kg) e IC 100 (5 mg/kg) reduz a pontuação de ALI em pulmões de animais liberados EV de camundongos feridos. A FIG. 9A-9D ilustra a coloração de H&E de seções de pulmão de solução salina (FIG. 9A), pulmões de camundongos não tratados (FIG. 9B), tratados com Enoxaparina (FIG. 9C) e IC 100 (Anti-ASC; FIG. 9D) liberados EV de animais feridos. As seções mostram evidências de infiltração de neutrófilos, alterações na morfologia das membranas capilares alveolares, edema intersticial e evidências de espessamento do interstício e do septo alveolar. A FIG. 9E ilustra que a pontuação de lesão pulmonar aguda é significativamente diminuída em animais tratados com Enoxaparina, IC 100, em comparação com animais não tratados. Dados apresentados como média +/- SEM. N = 4 por grupo, ****p < 0,01., *P < 0,05.

[0022] A FIG. 10A-10F ilustra a liberação de EV derivada de soro de pacientes com TBI, resultando em aumento da expressão da proteína do inflamassoma em células endoteliais pulmonares. A FIG. 10A mostra a representação de western blot de caspase-1, ASC, AIM2, HMGB1 em PMVEC após incubação com TBI-EV e controle-EV durante 4 horas. A FIG. 10B-10E mostra a quantificação de western blots, n = 3 filtros por grupo, n = 6 pacientes, teste t, ****p < 0,001, ***p < 0,01, **p < 0,01, *p < 0,05. A FIG. 10F mostra resultados de imunoensaio de um aumento significativo na expressão de IL-1β utilizando ensaio Ella simple plex n = 3 filtros por grupo, n = 6 pacientes, teste t, ****p <

0,001, ***p < 0,01, * *p < 0,01, *p < 0,05.

[0023] A FIG. 11A-11C ilustra que a liberação de TBI-EV nas células endoteliais pulmonares aumenta a imunorreatividade da caspase-1 ativa e a morte celular. A FIG. 11A mostra a colocalização de Caspase-1 FLICA e coloração de PI e PMVEC incubado com TBI-EV durante 4 horas. A FIG. 11B mostra caspsae-1 FLICA e coloração de PI em PMVEC incubado com controle-EV durante 4 horas. A FIG. 11C mostra a análise da leitora de placa fluorescente de PMVEC incubado com TBI e controle-EV durante 4 horas. n = 6, ***p < 0,05.

[0024] A FIG. 12A-12E ilustra que o tratamento com um anticorpo monoclonal anti-ASC humanizado (isto é, IC 100) melhora o resultado funcional em EAE. A FIG. 12A mostra o curso clínico de EAE induzida por MOG_{35-55} em camundongos C57BL/6 tratados com veículo ou doses crescentes de IC 100. A administração de IC 100 (10, 30 e 45 mg/Kg i.p. a cada 4 dias) foi iniciada no dia 8, antes que os camundongos mostrassem sinais de paralisia. Os resultados são expressos como pontuação clínica média diária ± SEM de 9 a 10 ratos/grupo. As curvas de 30 e 45 mg/Kg são significativamente diferentes da curva de veículo; **p ≤ 0,001 teste de Mann-Whitney. A FIG. 12B mostra uma comparação de pontuações clínicas máximas (a pontuação de doença mais elevada alcançada por um camundongo) entre os grupos; *p ≤ 0,05, teste t de Student. A FIG. 12C mostra uma comparação do Índice de Doenças Cumulativas (CDI) entre os grupos. O CDI é igual à soma de todas as pontuações do dia de início para cada animal e é uma medida da gravidade de EAE; *p ≤ 0,05, teste t de Student. A FIG. 12D mostra uma comparação do dia de início entre os grupos. O dia de início é considerado o dia em que um camundongo apresentou os primeiros sintomas de EAE. A FIG. 12E mostra uma comparação do dia de pico da doença entre os grupos. O dia de pico da doença é o dia em que um camundongo atingiu a pontuação mais elevada da doença. O

dia de início é considerado o dia em que um camundongo apresentou os primeiros sintomas de EAE.

[0025] A FIG. 13A-13B ilustra que o tratamento com IC 100 reduz a infiltração de células imunes periféricas na medula espinhal ou baço após EAE. Quantificação por citometria de fluxo das populações de leucócitos que se infiltram na medula espinhal (FIG. 13A) ou presentes no baço (FIG. 13B) em 35 dpi após EAE. Os resultados são expressos como média ± SEM de 5 camundongos/grupo, *p < 0,05, **p < 0,001, teste t de Student.

[0026] A FIG. 14 ilustra que o tratamento com IC 100 reduz a microglia na medula espinhal após EAE. Quantificação por citometria de fluxo de microglia total e microglia ativada por $MHCII^{+}$ na medula espinhal em 35 dpi após EAE. Os resultados são expressos como média ± SEM de 5 camundongos/grupo, *p < 0,05, teste t de Student.

[0027] A FIG. 15 ilustra a concentração de IC 100 em tecidos. Concentrações de IC 100 em pg/ml no cérebro, medula espinhal, fígado e baço em camundongos de controle e camundongos tratados com IC 100 em 10, 30 e 45 mg/kg em 35 dpi após EAE. Dados apresentados como média ± SEM. N = 2 a 10/camundongos por grupo.

[0028] A FIG. 16 ilustra que IC 100 é captado em partículas de ASC em células THP-1 não estimuladas e a captação é aumentada pela ativação do inflamassoma.

[0029] A FIG. 17 ilustra a liberação de IL1-beta impedida por IC 100 de células THP-1.

[0030] A FIG. 18 mostra imagens confocais de neurônios da medula espinhal que ilustram que um anticorpo anti-ASC (IC 100) penetra nos neurônios da medula espinhal.

[0031] A FIG. 19 ilustra uma comparação da ligação do anticorpo de três anticorpos diferentes contra ASC humano em espécies diferentes.

[0032] A FIG. 20 ilustra a indução de inflamassoma por nicotina (500 nM) em células do Núcleo Pulposo Humano e tratadas com três anticorpos diferentes contra ASC humano (H1, H2, H3) e dois contra ASC de camundongo (M1, M2). H1 foi o mais eficaz na prevenção da liberação de IL-1beta/ativação do inflamassoma.

[0033] A FIG. 21 ilustra os dados brutos da análise de cinética BLI para os anticorpos monoclonais anti-ASC.

[0034] A FIG. 22 ilustra uma comparação da cinética de três anticorpos diferentes contra ASC humano.

DESCRIÇÃO DETALHADA

DEFINIÇÕES

[0035] A menos que definido de outra forma, todos os termos técnicos utilizados nesta invenção possuem o mesmo significado como comumente entendido por uma pessoa de habilidade prática na técnica à qual esta invenção pertence.

[0036] Os títulos das seções utilizados nesta invenção são apenas para propósitos organizacionais e não devem ser interpretados como limitando a presente matéria descrita. Todos os documentos ou partes de documentos citados nesta invenção, incluindo, mas não limitado a patentes, pedidos de patentes, artigos, livros e tratados, são expressamente incorporados por referência na sua totalidade para qualquer finalidade. No caso de um ou mais dos documentos incorporados ou partes de documentos definirem um termo que contradiz a definição desse termo no pedido, a definição que aparece neste pedido controla. No entanto, a menção de qualquer referência, artigo, publicação, patente, publicação de patente e pedido de patente no presente documento citada não é, e não deve ser tomada como um reconhecimento, ou qualquer forma de sugestão, de que constitui a técnica precedente-precedente válida ou faz parte do conhecimento geral comum em qualquer país do mundo.

[0037] O termo "um" ou "uma" se refere a um ou mais dessa entidade, ou seja, pode se referir a uma pluralidade de referentes. Como tal, os termos “um” ou “uma”, “um ou mais” e “pelo menos um” são utilizados de modo trocável nesta invenção. Além disso, a referência a "um elemento" pelo artigo indefinido "um" ou "uma" não exclui a possibilidade de que mais de um dos elementos esteja presente, a não ser que o contexto exija claramente que haja um e apenas um dos elementos.

[0038] A menos que o contexto exija de outra forma, ao longo do presente relatório descritivo e reivindicações, a palavra "compreender" e suas variações, tais como, "compreende" e "compreendendo" devem ser interpretadas em um sentido aberto e inclusivo que é como "incluindo, mas não limitado a". O uso da alternativa (por exemplo, "ou") deve ser entendido como significando um, ambos ou qualquer combinação dos mesmos das alternativas. Conforme utilizado nesta invenção, os termos "cerca de" e "consistindo essencialmente em" significam +/- 20% da faixa, valor ou estrutura indicada, a não ser que de outra maneira indicada.

[0039] A referência ao longo deste relatório descritivo a "uma modalidade" ou "uma modalidade" significa que um determinado recurso, estrutura ou característica descrita em conexão com a modalidade pode ser incluída em pelo menos uma modalidade da presente invenção. Assim, as aparições das frases "em uma modalidade" ou "em uma modalidade" em vários lugares ao longo deste relatório descritivo podem não necessariamente se referir à mesma modalidade. Observa-se que certas características da invenção, que são, para maior clareza, descritas no contexto de modalidades separadas, também podem ser fornecidas em combinação em uma única modalidade. Por outro lado, várias características da invenção, que são, por brevidade, descritas no contexto de uma única modalidade, também podem ser fornecidas

separadamente ou em qualquer subcombinação adequada.

[0040] Ao longo desta invenção, vários aspectos dos métodos e composições fornecidos nesta invenção podem ser apresentados em um formato de faixas. Deve ficar entendido que a descrição em formato de faixas é meramente por conveniência e brevidade e não deve ser interpretada como uma limitação inflexível no escopo da invenção. Conforme for, a descrição de uma faixa deve ser considerada como tendo descrito especificamente todos as subfaixas possíveis, assim como valores numéricos individuais dentro dessa faixa. Por exemplo, a descrição de uma faixa tal como de 1 a 6, deve ser considerada como tendo as subfaixas especificamente descritas, tais como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6 etc., assim como números individuais dentro dessa faixa, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5 e 6. Isso se aplica independentemente da amplitude da faixa.

[0041] Conforme no presente documento utilizado, "proteína" e "polipeptídeo" são utilizados como sinônimos para significar qualquer cadeia ligada a peptídeo de aminoácidos, independentemente do comprimento ou modificação pós-translação, por exemplo, glicosilação ou fosforilação.

[0042] Como no presente documento utilizado, o termo "anticorpo" refere-se de uma forma geral e amplamente a moléculas de imunoglobulinas (Ig) e partes imunologicamente ativas ou fragmentos de moléculas de imunoglobulina, isto é, moléculas que contêm um sítio de ligação ao antígeno que liga especificamente (imunorreage com) um antígeno (por exemplo, ASC, NLRP1, AIM2, etc.). Os anticorpos no presente documento fornecidos podem ser anticorpos policlonais, anticorpos monoclonais (mAbs), anticorpos quiméricos, anticorpos humanizados, anticorpos anti-idiotípicos (anti-Id) para anticorpos que podem ser marcados na forma solúvel ou ligada, assim como fragmentos ativos, regiões ou seus derivados. Os anticorpos para uso nessa inven-

ção podem ser quiméricos, humanizados ou humanos.

[0043] Por "especificamente liga" ou "imunorreage com", entende-se que o anticorpo reage com um ou mais determinantes antigênicos do antígeno desejado e não reage com outros polipeptídeos. Em certas modalidades, diz-se que um anticorpo se liga especificamente a um antígeno quando reconhece preferencialmente seu antígeno alvo em uma mistura complexa de proteínas e/ou macromoléculas. O termo "anticorpo" refere-se amplamente a uma molécula de imunoglobulina (Ig), geralmente compreendendo quatro cadeias polipeptídicas, duas cadeias pesadas (H) e duas cadeias leves (L), ou qualquer fragmento funcional, mutante, variante ou derivado do mesmo, que retém as características essenciais de ligação ao alvo de uma molécula de Ig. Esses formatos de anticorpos mutantes, variantes ou derivados são conhecidos na técnica. Esses anticorpos anti-ASC e anti-NLRP1 da presente invenção são capazes de ligar as partes de ASC e NLRP1, respectivamente, que interferem com a ativação da caspase-1.

[0044] Conforme no presente documento utilizado, o termo "anticorpo humanizado" refere-se a um anticorpo no qual partes mínimas de um anticorpo não humano são introduzidas em um anticorpo humano de outra forma.

[0045] Como no presente documento utilizado, o termo "anticorpo humano" refere-se a um anticorpo em que substancialmente cada parte da proteína é substancialmente não imunogênica em seres humanos, com apenas pequenas alterações ou variações de sequência.

[0046] Em um anticorpo de comprimento total, cada cadeia pesada compreende uma região variável da cadeia pesada (no presente documento abreviada como HCVR ou VH) e uma região constante da cadeia pesada. A região constante da cadeia pesada compreende três domínios, CH1, CH2 e CH3. Cada cadeia leve compreende uma região variável da cadeia leve (no presente documento abreviada como

LCVR ou VL) e uma região constante da cadeia leve. A região constante da cadeia leve compreende um domínio, CL. As regiões VH e VL podem ser ainda subdivididas em regiões de hipervariabilidade, denominadas regiões determinantes de complementaridade (CDRs), intercaladas com regiões que são mais conservadas, denominadas regiões estruturais (FRs). Cada VH e VL é composta de três CDRs e quatro FRs, dispostas do terminal amino ao terminal carbóxi na seguinte ordem: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. As moléculas de imunoglobulina podem ser de qualquer tipo (por exemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY) e classe (por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) ou subclasse. Os anticorpos de IgG, IgD e IgE geralmente contêm duas cadeias pesadas idênticas e duas cadeias leves idênticas e dois domínios de combinação de antígeno, cada um composto por uma região variável da cadeia pesada (VH) e uma região variável da cadeia leve (VL). Geralmente os anticorpos de IgA são compostos de dois monômeros, cada monômero composto de duas cadeias pesadas e duas cadeias leves (como para anticorpos de IgG, IgD e IgE); desta forma, a molécula de IgA possui quatro domínios de ligação ao antígeno, cada um composto novamente por um VH e um VL. Certos anticorpos de IgA são monoméricos pelo fato de que eles são compostos de duas cadeias pesadas e duas cadeias leves. Os anticorpos de IgM secretados são geralmente compostos de cinco monômeros, cada monômero composto de duas cadeias pesadas e duas cadeias leves (como para anticorpos de IgG e IgE); desta forma, a molécula de IgM possui dez domínios de ligação ao antígeno, cada um composto novamente por uma VH e uma VL. Uma forma de superfície celular de IgM também existe e esta possui a estrutura de duas cadeias pesadas/duas cadeias leves similares aos anticorpos de IgG, IgD e IgE.

[0047] O termo "fragmento de ligação ao antígeno" ou "parte de ligação ao antígeno" ou "sítio de ligação ao antígeno" ou "domínio de

ligação" ou "região de ligação", conforme utilizado nesta invenção, pode se referir ao domínio, região, parte ou sítio de uma proteína, polipeptídeo, oligopeptídeo ou peptídeo ou anticorpo ou domínio de ligação derivado de um anticorpo que retém a capacidade de se ligar especificamente a um antígeno (por exemplo, proteína ASC). Domínios de ligação exemplares incluem regiões variáveis de anticorpo de cadeia única (por exemplo, anticorpos de domínio, sFv, scFv, scFab), proteínas de fusão compreendendo uma parte de anticorpo (por exemplo, um anticorpo de domínio), ectodomínios de receptor, e ligantes (por exemplo, citocinas, quimiocinas). Em uma modalidade, a proteína de fusão compreende uma ou mais CDR(s). Em outra modalidade, a proteína de fusão compreende CDR H3 (VH CDR3) e/ou CDR L3 (VL CDR3). Para os fins desta invenção, uma proteína de fusão contém um ou mais anticorpos e sequência de aminoácido adicional, tal como, por exemplo, uma sequência heteróloga ou uma sequência homóloga de outra região, ligada ao N- ou C-terminal do anticorpo ou seu fragmento de anticorpo. Sequências heterólogas exemplares incluem, mas não são limitados a estes, um "marcador", tal como um marcador FLAG ou um marcador 6His ou uma enzima ou um polipeptídeo que aumenta a meia-vida do anticorpo no sangue. Os marcadores são bem conhecidos na técnica. A sequência de aminoácido adicional, que pode incluir fusões de amino- e/ou carboxil-terminais, pode variar em comprimento de um resíduo para polipeptídeos contendo cem ou mais resíduos, assim como inserções intrassequência de resíduos de aminoácido únicos ou múltiplos.

[0048] Um sítio de ligação ao antígeno pode ser geralmente formado pelos domínios de imunoglobulina da região variável de cadeia pesada (VH) e da região variável de cadeia leve (VL), com a interface de ligação ao antígeno formada por seis alças calibradas polipeptídicas de superfície, denominadas regiões determinantes de complemen-

taridade (CDRs). Existem três CDRs em VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) e VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), juntamente com regiões estruturais (FRs). Em certas modalidades, o domínio de ligação compreende ou consiste em um sítio de ligação ao antígeno (por exemplo, compreendendo uma sequência de cadeia pesada variável e sequência de cadeia leve variável ou três regiões determinantes complementares de cadeia leve (CDRs) e três CDRs de cadeia pesada de um anticorpo colocado em regiões estruturais (FRs) alternativas (por exemplo, FRs humanas opcionalmente compreendendo uma ou mais substituições de aminoácido).

[0049] O termo "região CDR" ou "CDR" pode significar as regiões hipervariáveis das cadeias pesadas ou leves da imunoglobulina conforme definido por Kabat *et al*., 1991 (Kabat, E. A. *et al*., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington), e edições posteriores. Um anticorpo tipicamente contém 3 CDRs de cadeia pesada e 3 CDRs de cadeia leve.

[0050] Foi demonstrado que a função de ligação ao antígeno de um anticorpo pode ser executada por fragmentos de um anticorpo de comprimento total. As modalidades de anticorpo e fragmento de anticorpo também podem ser formatos biespecíficos, triespecíficos, específicos duplos ou multiespecíficos; especificamente se liga a dois ou mais antígenos diferentes. Exemplos de fragmentos de ligação abrangidos pelo termo "fragmento de ligação ao antígeno" de um anticorpo incluem: (i) um fragmento Fab que consiste em domínios VL, VH, CL e CH1 (Ward, E. S. *et al*., (1989) Nature 341, 544-546); (ii) um fragmento Fd que consiste nos domínios VH e CH1 (McCafferty *et al*., (1990) Nature, 348, 552-554); (iii) um fragmento Fv que consiste nos domínios VL e VH de um único anticorpo (Holt *et al*., (2003) Trends in Biotechnology 21, 484-490); (iv) um fragmento dAb (Ward, E. S. *et al*., Na-

ture 341, 544-546 (1989), McCafferty *et al*., (1990) Nature, 348, 552-554, Holt *et al*., (2003) Trends in Biotechnology 21, 484-490), que consiste em um domínio VH ou VL; (v) regiões CDR isoladas; (vi) fragmentos F(ab')2, um fragmento bivalente compreendendo dois fragmentos Fab ligados (vii), moléculas Fv de cadeia simples (scFv), em que um domínio VH e um domínio VL estão ligados por um ligante peptídico que permite que os dois domínios se associem para formar um sítio de ligação ao antígeno (Bird *et al*., (1988) Science, 242, 423-426, Huston *et al*., (1988) PNAS USA, 85, 5879-5883). A invenção também abrange um fragmento Fab'. Além disso, embora os dois domínios do fragmento Fv, VL e VH sejam codificados por genes separados, eles podem ser unidos, utilizando métodos recombinantes, por um ligante sintético que permite que eles sejam produzidos como uma única cadeia de proteína em que as regiões VL e VH emparelham para formar moléculas monovalentes (conhecidas como Fv de cadeia simples (scFv)). Esses anticorpos de cadeia única também se destinaM a ser englobado no termo "fragmento de ligação ao antígeno" de um anticorpo. Em certas modalidades da invenção, as moléculas de scFv podem ser incorporadas em uma proteína de fusão. Em algumas modalidades, a invenção inclui um anticorpo de camelídeo de cadeia única; (viii) dímeros Fv biespecíficos de cadeia simples (PCT/US92109965) e (ix) "diacorpos", fragmentos multivalentes ou multiespecíficos construídos através da fusão gênica (WO94/13804; Holliger, P. (1993) *et al*., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 6444-6448). Diacorpos são anticorpos bivalentes biespecíficos nos quais os domínios VH e VL são expressos em uma cadeia polipeptídica única, mas utilizando um ligante que é muito curto para levar em conta o emparelhamento entre os dois domínios na mesma cadeia, forçando assim os domínios a emparelhar com os domínios complementares de outra cadeia e criando dois sítios de ligação ao antígeno (ver, por exemplo, Holliger, P., *et al*. (1993)

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., *et al*. (1994) Structure 2:1121-1123). Tais fragmentos de ligação de anticorpos são conhecidos na técnica (Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. 790 pp.). Em alguns aspectos, a invenção inclui um anticorpo de domínio único. Em geral, o termo "anticorpo", quando no presente documento utilizado, abrange um "fragmento de anticorpo". Um fragmento de anticorpo geralmente retém as propriedades de ligação ao antígeno de um anticorpo de comprimento total.

[0051] Fv, scFv ou moléculas de diacorpo podem ser estabilizadas pela incorporação de pontes de dissulfeto que ligam os domínios VH e VL (Reiter, Y. *et al*., Nature Biotech, 14, 1239-1245, 1996). Minicorpos compreendendo um scFv unido a um domínio CH3 também podem ser produzidos (Hu, S. *et al*., (1996) Cancer Res., 56, 3055-3061). Outros exemplos de fragmentos de ligação podem ser Fab', que difere dos fragmentos Fab pela adição de alguns resíduos no terminal carboxila do domínio CH1 de cadeia pesada, incluindo uma ou mais cisteínas da região de dobradiça do anticorpo, e Fab'-SH, que é um fragmento Fab' no qual os resíduos de cisteína dos domínios constantes possuem um grupo de tiol livre.

[0052] "Fv", quando utilizado nesta invenção, pode se referir ao fragmento mínimo de um anticorpo que retém os sítios de reconhecimento de antígeno e de ligação ao antígeno. "Fab", quando utilizado nessa invenção, pode referir-se a um fragmento de um anticorpo que compreende o domínio constante da cadeia leve e o domínio CH1 de cadeia pesada. O termo "mAb" refere-se a anticorpo monoclonal.

[0053] "Região Fc" ou "domínio Fc" refere-se a uma sequência de polipeptídeo que corresponde ou derivada da parte de um anticorpo de origem que é responsável pela ligação aos receptores de anticorpo nas células e o componente C1q do complemento. Fc significa "frag-

mento cristalino", o fragmento de um anticorpo que formará facilmente um cristal de proteína. Fragmentos de proteína distintos, que foram originalmente descritos por digestão proteolítica, podem definir a estrutura geral global de uma proteína de imunoglobulina. Conforme originalmente definido na literatura, o fragmento Fc consiste nas regiões de dobradiça de cadeia pesada ligadas por dissulfeto, domínios CH2 e CH3. No entanto, mais recentemente, o termo foi aplicado a uma única cadeia que consiste em CH3, CH2 e pelo menos uma parte da dobradiça suficiente para formar um dímero ligado por dissulfeto com uma segunda dessas cadeias. Para uma revisão da estrutura e função da imunoglobulina, ver Putnam, The Plasma Proteins, Vol. V (Academic Press, Inc., 1987), pp. 49-140; e Padlan, Mol. Immunol. 31:169-217, 1994. Como no presente documento utilizado, o termo Fc inclui variantes de sequências de ocorrência natural. Em uma modalidade, os anticorpos ou fragmentos de anticorpos derivados dos mesmos fornecidos nesta invenção (por exemplo, os anticorpos monoclonais anti-ASC ou fragmentos de anticorpos dos mesmos) possuem uma região ou domínio Fc modificado. Em alguns casos, a região ou domínio Fc modificado pode conferir estabilidade térmica aumentada ao anticorpo resultante ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo. O aumento da estabilidade térmica pode resultar em aumento da meia-vida sérica. A região ou domínio Fc pode ser modificado conforme descrito na US20160193295, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência. Conforme descrito na US20160193295, a região ou domínio Fc pode ser modificado para possuir uma supressão de um ou mais resíduos de cisteína na região de dobradiça e substituição por um resíduo contendo sulfidrila de um ou mais aminoácidos de interface CH3. Em outra modalidade, a região ou domínio Fc dos anticorpos ou fragmentos de anticorpos derivados dos mesmos no presente documento fornecidos (por exemplo, os anticorpos monoclonais an-

ti-ASC ou fragmentos de anticorpos dos mesmos), pode ser estabilizado através da engenharia da região Fc para possuir ligações de dissulfeto intradomínio, conforme descrito em Wozniak-Knopp G, Stadlmann J, Rüker F (2012) Stabilisation of the Fc Fragment of Human IgG1 by Engineered Intradomain Disulfide Bonds. PLoS ONE 7(1): e30083, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência. Em mais outra modalidade, os anticorpos possuem regiões Fc modificadas como descrito na WO 99/58572, que é no presente documento incorporada por referência. Em ainda outras modalidades, a região ou domínio Fc pode ser modificado conforme descrito na US9574010, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência.

[0054] Pelos termos "proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (CARD)" e "ASC" entende-se um produto de expressão de um gene ASC ou suas isoformas, ou uma proteína que compartilha pelo menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência de aminoácido com ASC (por exemplo, NP_037390 (Q9ULZ3-1), NP_660183 (Q9ULZ3-2) ou Q9ULZ3-3 in seres humanos, NP_075747 em camundongo ou NP_758825 (BAC43754) em ratos) e apresenta uma atividade funcional de ASC. Uma “atividade funcional” de uma proteína é qualquer atividade associada com a função fisiológica da proteína. As atividades funcionais de ASC incluem, por exemplo, o recrutamento de proteínas para ativação da caspase-1 e o início da morte celular.

[0055] Pelo termo "gene ASC" ou "ácido nucleico ASC" entende-se uma sequência de ácido nucleico que codifica ASC nativa, sequências genômicas das quais o cDNA de ASC pode ser transcrito e/ou variantes alélicas e homólogos dos precedenteprecedentes. Os termos abrangem DNA de fita dupla, DNA de fita simples e RNA.

[0056] Conforme no presente documento utilizado, o termo "inflamassoma" significa um complexo de múltiplas proteínas (por exemplo, pelo menos duas proteínas) que ativa a caspase-1. Além disso, o termo "inflamassoma" pode se referir a um complexo multiprotéico que ativa a atividade da caspase-1, que por sua vez regula o processamento e a ativação de IL-1β, IL-18 e IL-33. Ver Arend *et al*. 2008; Li *et al*. 2008; e Martinon *et al*. 2002, cada um dos quais é incorporado por referência em sua totalidade. Os termos "inflamassoma NLRP1", "inflamassoma NALP1", "inflamassoma NLRP2", "inflamassoma NALP2", "inflamassoma NLRP3", "inflamassoma NALP3", "inflamassoma NLRC4", "inflamassoma IPAF" ou "inflamassoma AIM2" significam um complexo de proteínas de pelo menos a caspase-1 e uma proteína adaptadora, por exemplo, ASC. Por exemplo, os termos "inflamassoma NLRP1" e "inflamassoma NALP1" podem significar um complexo multiprotéico contendo NLRP1, ASC, caspase-1, caspase-11, XIAP e panexina-1 para ativação de caspase-1 e processamento de interleucina-1β, interleucina-18 e interleucina-33. Os termos "inflamassoma NLRP2" e "inflamassoma NALP2" podem significar um complexo multiprotéico contendo NLRP2 (também conhecido como NALP2), ASC e caspase-1, enquanto os termos "inflamassoma NLRP3" e "inflamassoma NALP3" podem significar um complexo multiprotéico contendo NLRP3 (também conhecido como NALP3), ASC e os termos “inflamassoma de NLRC4” e “inflamassoma IPAF” podem significar um complexo multiprotéico contendo NLRC4 (também conhecido como IPAF), ASC e caspase-1. Adicionalmente, o termo "Inflammassoma AIM2" pode significar um complexo multiprotéico compreendendo AIM2, ASC e caspase-1.

[0057] Como no presente documento utilizado, a frase "identidade de sequência" significa a porcentagem de subunidades idênticas nas posições correspondentes em duas sequências (por exemplo, sequên-

cias de ácido nucleico, sequências de aminoácido) quando as duas sequências estão alinhadas para maximizar a correspondência de subunidade, isto é, levando em conta intervalos e inserções. A identidade de sequência pode ser medida utilizando software de análise de sequência (por exemplo, Sequence Analysis Software Package from Accelrys CGC, San Diego, CA).

[0058] Pelas frases "quantidade terapeuticamente eficaz" e "dosagem eficaz" entende-se uma quantidade suficiente para produzir um resultado terapeuticamente (por exemplo, clinicamente) desejável; a natureza exata do resultado irá variar dependendo da natureza do distúrbio sendo tratado. Por exemplo, onde o distúrbio a ser tratado é SCI, o resultado pode ser uma melhora nas habilidades motoras e na função locomotora, uma diminuição da lesão da medula espinhal, etc. As composições no presente documento descritas podem ser administradas a partir de uma ou mais vezes por dia a um ou mais vezes por semana. O especialista versado irá observar que certos fatores podem influenciar a dosagem e o tempo necessário para tratar efetivamente um indivíduo, incluindo, mas não limitado à gravidade da doença ou distúrbio, tratamentos precedenteprecedentes, a saúde geral e/ou idade do indivíduo, e outros doenças presentes. Além disso, o tratamento de um indivíduo com uma quantidade terapeuticamente eficaz das composições da invenção pode incluir um único tratamento ou uma série de tratamentos.

[0059] Como no presente documento utilizado, o termo "tratamento" é definido como a aplicação ou administração de um agente terapêutico no presente documento descrito, ou identificado por um método no presente documento descrito, a um paciente, ou aplicação ou administração do agente terapêutico a um tecido isolado ou linhagem celular de um paciente que possui uma doença, um sintoma de doença ou uma predisposição para uma doença, com o propósito de curar,

tratar, aliviar, auxiliar, alterar, remediar, melhorar, aprimorar ou afetar a doença, os sintomas de doença ou a predisposição para a doença.

[0060] Os termos "paciente", "pessoa" e "indivíduo" são utilizados de modo trocável nesta invenção e significam um indivíduo mamífero a ser tratado. Em uma modalidade, o paciente mamífero é um ser humano. Em alguns casos, os métodos da invenção encontram uso em animais experimentais, em aplicações veterinárias e no desenvolvimento de modelos animais para doenças, incluindo, mas não limitado a roedores, incluindo camundongos, ratos e hamsters, assim como primatas.

[0061] Como no presente documento utilizado de modo trocável, "Ausente no Melanoma 2" e "AIM2" podem significar um produto de expressão de um gene AIM2 ou isoformas; ou uma proteína que compartilha pelo menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência de aminoácido com AIM2 (por exemplo, números de acesso NX_014862, NP004824, XP016858337, XP005245673, AAB81613, BAF84731, AAH10940) e apresenta uma atividade funcional de AIM2.

[0062] Como utilizado de modo trocável nessa invenção, "proteína contendo domínios 1 NACHT, LRR e PYD", "NALP1" e "NLRP1" significam um produto de expressão de um gene NALP1 ou NLRP1 ou isoformas; ou uma proteína que compartilha pelo menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência de aminoácido com NALP1 (por exemplo, números de acesso AAH51787, NP_001028225, NP_127500, NP_127499, NP_127497, NP055737) e apresenta uma atividade funcional de NALP1.

[0063] Como no presente documento utilizado de modo trocável, "NALP2" e "NLRP2" significam um produto de expressão de um gene NALP2 ou NLRP2 ou isoformas; ou uma proteína que compartilha pelo menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de

identidade de sequência de aminoácido com NALP2 (por exemplo, números de acesso NP_001167552, NP_001167553, NP_001167554 ou NP_060322) e apresenta uma atividade funcional de NALP2.

[0064] Como no presente documento utilizado de modo trocável, "NALP3" e "NLRP3" significam um produto de expressão de um gene NALP3 ou NLRP3 ou isoformas; ou uma proteína que compartilha pelo menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência de aminoácido com NALP3 (por exemplo, números de acesso NP_001073289, NP_001120933, NP_001120934, NP_001230062, NP_004886, NP_899632, XP_011542350, XP_016855670, XP_016855671, XP_016855672 ou XP_016855673) e apresenta uma atividade funcional de NALP3.

[0065] Como utilizado de modo trocável nessa invenção, "NLRC4" e "IPAF" significam um produto de expressão de um gene NLRC4 ou IPAF ou isoformas; ou uma proteína que compartilha pelo menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% de identidade de sequência de aminoácido com NLRC4 (por exemplo, números de acesso NP_001186067, NP001186068, NP_001289433 ou NP_067032) e apresenta uma atividade funcional de NLRC4.

[0066] Os termos "acidente vascular cerebral" e "acidente vascular cerebral isquêmico" significam quando o fluxo sanguíneo é interrompido em parte do cérebro ou medula espinhal.

[0067] Por "lesão traumática ao CNS" entende-se qualquer insulto ao CNS por uma força mecânica externa, possivelmente levando a deficiências permanentes ou temporárias da função do CNS.

[0068] Métodos envolvendo técnicas convencionais de biologia molecular são no presente documento descritos. Tais técnicas são geralmente conhecidas na especialidade e são descritas com detalhes nos tratados de metodologia tais como Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., vol. 1-3, ed. Sambrook *et al*., Cold Spring Harbor

Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; e Current Protocols in Molecular Biology, ed. Ausubel *et al*., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York, 1992 (com atualizações periódicas). As técnicas de imunologia são geralmente conhecidas na especialidade e são descritas com detalhes nos tratados de metodologia tais como Advances in Immunology, volume 93, ed. Frederick W. Alt, Academic Press, Burlington, MA, 2007; Making and Using Antibodies: A Practical Handbook, eds. Gary C. Howard and Matthew R. Kaser, CRC Press, Boca Raton, FL, 2006; Medical Immunology, 6th ed., edited by Gabriel Virella, Informa Healthcare Press, London, England, 2007; e Harlow and Lane ANTIBODIES: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988.

[0069] Embora composições e métodos similares ou equivalentes àqueles descritos nesta invenção possam ser utilizados na prática ou teste da presente invenção, composições e métodos adequados são descritos abaixo. Todas as publicações, pedidos de patentes e patentes no presente documento mencionados são incorporados por referência em sua totalidade. Em caso de conflito, o presente relatório descritivo, incluindo definições, prevalecerá. As modalidades particulares examinadas abaixo são apenas ilustrativas e não se destinam a ser limitativas.

VISÃO GERAL

[0070] São no presente documento fornecidos anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos que se ligam especificamente à proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), Os anticorpos monoclonais ou seus fragmentos podem ligar-se especificamente a um fragmento antigênico de ASC que compreende, consiste ou consiste essencialmente em uma sequência de aminoácido da SEQ ID NO. 5. Além desta modalidade, a invenção contempla o uso de anti-

corpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em uma modalidade, os anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos no presente documento fornecidos podem ser utilizados em um método para reduzir a inflamação em um mamífero, conforme descrito na US 8.685.400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. A inflamação pode ocorrer nos pulmões e/ou no sistema nervoso central (CNS). A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou suspeita de sofrer de MS. O anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade pode estar presente em uma composição tal como, por exemplo, uma composição farmacêutica como no presente documento forneci-

da. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou fragmento do mesmo é utilizado em combinação com um ou mais outros agentes nos métodos de tratamento no presente documento fornecidos. Os outros agentes podem ser qualquer agente fornecido nesta invenção (por exemplo, inibidores de absorção de EV) e/ou anticorpos ou fragmentos de anticorpos direcionados contra outros componentes do inflamassoma (por exemplo, IL-18, caspase-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0071] A invenção também abrange anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos que se ligam especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3. Além desta modalidade, a invenção contempla o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em uma modalidade, os anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos no presente documento fornecidos podem ser utilizados em um método para reduzir a inflamação em um mamífero, conforme descrito na US 8.685.400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vas-

cular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento da inflamação pode reduzir a inflamação imune inata ou relacionada com o inflamassoma no paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar uma lesão do sistema nervoso central (CNS) e/ou uma doença autoimune, autoinflamatória, metabólica ou neurodegenerativa. A lesão do CNS pode ser selecionada a partir do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI). A doença autoimune ou neurodegenerativa pode ser selecionada de esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson (PD), distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerativa) e esclerose múltipla (MS). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou suspeita de sofrer de MS. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar PD através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito

de sofrer de PD. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a nefrite lúpica através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de nefrite lúpica. A doença metabólica pode ser selecionada de síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, um distúrbio de armazenamento de lipídios, uma doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a nefropatia diabética pela administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de nefropatia diabética. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a NASH através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de NASH. A doença autoinflamatória pode ser a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a CAPS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de CAPS. O anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade pode estar presente em uma composição tal como, por exemplo, uma composição farmacêutica como no presente

documento fornecida. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou fragmento do mesmo é utilizado em combinação com um ou mais outros agentes nos métodos de tratamento no presente documento fornecidos. Os outros agentes podem ser qualquer agente fornecido nesta invenção (por exemplo, inibidores de absorção de EV) e/ou anticorpos ou fragmentos de anticorpos direcionados contra outros componentes do inflamassoma (por exemplo, IL-18, caspase-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0072] Em algumas modalidades, a invenção fornece anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos que se ligam especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia leve (VL) e uma região variável de cadeia pesada (VH), em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3. Além desta modalidade, a invenção contempla o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em uma modalidade, os anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos no presente documento fornecidos podem ser utilizados em um método para reduzir a inflamação em um mamífero, conforme descrito na US 8.685.400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a do-

ença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento da inflamação pode reduzir a inflamação imune inata ou relacionada com o inflamassoma no paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar uma lesão do sistema nervoso central (CNS) e/ou uma doença autoimune, autoinflamatória, metabólica ou neurodegenerativa. A lesão do CNS pode ser selecionada a partir do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI). A doença autoimune ou neurodegenerativa pode ser selecionada de esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson (PD), distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerosa) e esclerose múltipla (MS). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar PD através da administração do anticorpo monoclonal ou fra-

gmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de PD. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a nefrite lúpica através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de nefrite lúpica. A doença metabólica pode ser selecionada de síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, um distúrbio de armazenamento de lipídios, uma doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a nefropatia diabética através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de nefropatia diabética. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a NASH através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de NASH. A doença autoinflamatória pode ser a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar CAPS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de CAPS. O anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade pode estar presente em uma com-

posição tal como, por exemplo, uma composição farmacêutica como no presente documento fornecida. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou fragmento do mesmo é utilizado em combinação com um ou mais outros agentes nos métodos de tratamento no presente documento fornecidos. Os outros agentes podem ser qualquer agente fornecido nesta invenção (por exemplo, inibidores de absorção de EV) e/ou anticorpos ou fragmentos de anticorpos direcionados contra outros componentes do inflamassoma (por exemplo, IL-18, caspase-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0073] Em outras modalidades, a invenção também fornece anticorpos monoclonais ou um fragmento de anticorpo dos mesmos que se ligam especificamente a ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3. Além desta modalidade, a invenção contempla o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em uma modalidade, os anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos no presente documento fornecidos podem ser utilizados em um método para reduzir a inflamação em um mamífero, conforme descrito na US 8.685.400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados

por referência na sua totalidade. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação imune inata ou relacionada ao inflamassoma no paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar uma lesão do sistema nervoso central (CNS) e/ou uma doença autoimune, autoinflamatória, metabólica ou neurodegenerativa. A lesão do CNS pode ser selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI). A doença autoimune ou neurodegenerativa pode ser selecionada de esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson (PD), distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerosa) e esclerose múltipla (MS). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS

através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar PD através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de PD. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a nefrite lúpica através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de nefrite lúpica. A doença metabólica pode ser selecionada de síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, um distúrbio de armazenamento de lipídios, uma doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a nefropatia diabética através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de nefropatia diabética. Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a NASH através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de NASH. A doença autoinflamatória pode ser a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal

ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar a CAPS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de CAPS. O anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade pode estar presente em uma composição tal como, por exemplo, uma composição farmacêutica como no presente documento fornecida. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou fragmento do mesmo é utilizado em combinação com um ou mais outros agentes nos métodos de tratamento no presente documento fornecidos. Os outros agentes podem ser qualquer agente fornecido nesta invenção (por exemplo, inibidores de absorção de EV) e/ou anticorpos ou fragmentos de anticorpos direcionados contra outros componentes do inflamassoma (por exemplo, IL-18, caspase-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0074] São no presente documento fornecidos as composições e métodos para reduzir a inflamação imune inata ou relacionada ao inflamassoma. Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está no CNS de um mamífero que foi submetido ou é afetado por uma condição que resulta ou provoca uma inflamação imune inata ou relacionada à inflamação. Em alguns casos, a inflamação relacionada ao inflamassoma está em um mamífero (por exemplo, ser humano) que é afetado ou suspeito de ser atingido por uma condição que está associada, resulta ou provoca inflamação imune inata ou relacionada ao inflamassoma. A condição que resulta ou provoca inflamação imune inata ou relacionada com o inflamassoma pode ser uma lesão do CNS, uma doença ou distúrbio autoimune, autoinflamatório, neurodegenerativo e/ou metabólico. A lesão do CNS pode ser selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI). A doença autoimune ou neurodegenerativa pode ser selecionada de esclerose lateral

amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson (PD), distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerosa) e esclerose múltipla (MS). A doença metabólica pode ser selecionada de síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, um distúrbio de armazenamento de lipídios, uma doença de armazenamento de glicogênio, deficiência de acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota. A doença autoinflamatória pode ser a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS). A CAPS pode abranger a síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID). As composições e métodos no presente documento descritos podem incluir anticorpos ou fragmentos ativos dos mesmos, conforme fornecido nesta invenção, que se ligam especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC) de um inflamassoma de mamífero e/ou compostos que modulam (por exemplo, inibem ou reduzem) a captação da vesícula extracelular (EV) e uso como tratamento para inflamação do CNS em um mamífero. Exemplos de condições que podem levar à inflamação no CNS incluem uma lesão do CNS (por exemplo, lesão da medula espinhal (SCI), lesão cerebral traumática (TBI) ou acidente vascular cerebral), uma doença neurodegenerativa, uma doença autoimune (por exemplo, MS), asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD), fibrose cística, doença pulmonar intersticial ou síndrome da angústia respiratória aguda. A composição pode ser administrada em uma quantidade terapeuticamente eficaz. A quantidade terapeuticamente eficaz pode ser uma dose como no presente documento fornecida. O agente pode ser um inibidor de captação da

vesícula extracelular (EV) e/ou um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma ou uma combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

[0075] São no presente documento fornecidos composições e métodos para o tratamento de esclerose múltipla (MS) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Os métodos para o tratamento de MS no presente documento fornecidos podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. A esclerose múltipla (MS) é uma doença autoimune que afeta o cérebro e a medula espinhal. O indivíduo pode apresentar sintomas clínicos consistentes com MS. O indivíduo pode ser diagnosticado com qualquer tipo de MS conhecido na técnica. A MS pode ser MS recorrente-remitente (RRMS), MS secundária progressiva (SPMS), MS primária progressiva (PPMS) ou MS progressiva recorrente (PRMS). O diagnóstico de MS pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado de ter MS utilizando os métodos detalhados na US 62/560.963, depositada em 20 de setembro de 2017, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para MS, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo como fornecido nesta invenção que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC

ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, através de inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão de assistência pode ser selecionado a partir de terapias direcionadas para modificar o resultado da doença, gerenciamento de recaídas, gerenciamento de sintomas ou qualquer uma de suas combinações. As terapias direcionadas à modificação do resultado da doença podem ser selecionadas a partir de interferon beta, acetato de glatirâmero, fingolimod, teriflunomida, fumarato de dimetila, mitoxantrona, ocrelizumab, alemtuzumab, daclizumab e natalizumab.

[0076] São no presente documento fornecidos composições e métodos para o tratamento da doença de Parkinson (PD) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de PD. Os métodos para tratar a PD no presente documento fornecidos podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de PD. A doença de Parkinson (PD) é um distúrbio progressivo do sistema nervoso que afeta o movimento devido ao colapso e/ou morte gradual das células nervosas no cérebro de um mamífero (por exemplo, ser humano) que sofre de PD. A PD pode ocorrer e/ou progredir através de cinco estágios (isto é, Estágios 1 a 5) e as composições e métodos no presente documento fornecidos podem ser utilizados para tratar um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de PD em qualquer um dos cinco estágios. O diagnóstico de PD pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado de ter PD utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, de-

positada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para PD, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo, tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão pode ser selecionado de carbidopa (Lodosyn), combinação de levodopa carbidopa-levodopa, Duopa, agonistas da dopamina, inibidores de MAO B, inibidores da catecol O-metiltransferase (COMT), anticolinérgicos, amantadina e estimulação cerebral profunda. Os agonistas da dopamina podem ser selecionados entre pramipexol (Mirapex), ropinirol (Requip) e rotigotina (Neupro). Os inibidores de MAO B podem ser selecionados de selegilina (Eldepryl, Zelapar), rasagilina (Azilect) e safinamida (Xadago). Os inibidores de COMT podem ser selecionados de Entacapone (Comtan) e Tolcapone (Tasmar). O anticolinérgico pode ser selecionado de benztropina (Cogentin) ou triexifenidila.

[0077] São no presente documento fornecidos composições e métodos para o tratamento da doença de Alzheimer (AD) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de AD. Os métodos para o tratamento de AD no presente documento fornecidos podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de AD. A doença de Al-

zheimer (AD) é um distúrbio progressivo do sistema nervoso que faz com que as células cerebrais se degenerem e morrem em indivíduos que sofrem de AD e progride de comprometimento cognitivo leve (MCI) para perda completa de memória e até mesmo mudanças na personalidade e comportamento. O diagnóstico de AD pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado como tendo AD utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para AD, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo como no presente documento fornecido que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão de tratamento pode ser selecionado de inibidores da colinesterase e memantina (Namenda). Os inibidores da colinesterase podem ser selecionados a partir de donepezil (Aricept), galantamina (Razadyne) e rivastigmina (Exelon).

[0078] São fornecidos nessa invenção composições e métodos para o tratamento da artrite reumatóide (RA) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de RA. Os métodos para o tratamento de RA fornecidos nesta invenção podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) com-

preendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de RA. A artrite reumatoide (RA) é uma doença inflamatória autoimune crônica que pode provocar danos às articulações de um indivíduo, assim como à pele, olhos, pulmões, coração e vasos sanguíneos. O diagnóstico de RA pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado de ter RA utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para RA, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo, conforme no presente documento fornecido, que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo, como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão de tratamento pode ser selecionado a partir de fármacos antiinflamatórios não esteróides (NSAIDs), esteróides (por exemplo, prednisona), fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARDs) e agentes biológicos. Os NSAIDs podem incluir ibuprofeno (Advil, Motrin IB) e naproxeno sódico (Aleve). Os DMARDs podem incluir metotrexato (Trexall, Otrexup, outros), leflunomida (Arava), hidroxicloroquina (Plaquenil) e sulfassalazina (Azulfidina). Os agentes biológicos podem incluir abatacept (Orencia), adalimumab (Humira), anakinra (Kineret), baricitinib (Olumiant), certolizumab (Cimzia), etanercept (Enbrel), golimumab (Simponi), infliximab

(Remicade), rituximab (Rituxan), sarilumab (Kevzara), tocilizumab (Actemra) e tofacitinib (Xeljanz).

[0079] São fornecidos nessa invenção composições e métodos para o tratamento da nefrite lúpica em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de nefrite lúpica. Os métodos para tratar a nefrite lúpica no presente documento fornecidos podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de nefrite lúpica. A nefrite lúpica é um tipo de inflamação renal que costuma ser uma complicação comum do lúpus eritematoso sistêmico, muitas vezes referido simplesmente como lúpus. A nefrite lúpica é uma doença autoimune na qual os autoanticorpos lúpicos afetam as estruturas dos rins de um indivíduo que podem resultar em inflamação renal, assim como hematúria, proteinúria, hipertensão, função renal prejudicada ou até mesmo insuficiência renal. O diagnóstico de nefrite lúpica pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado como tendo a nefrite lúpica utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para nefrite lúpica, um inibidor de absorção de EV (por exemplo, qualquer inibidor de absorção de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo, conforme no presente documento fornecido, que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroven-

tricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão para a nefrite lúpica pode incluir medicamentos para controlar a pressão arterial e/ou uma dieta especial pobre em proteínas e sal. Adicionalmente, o tratamento padrão para a nefrite lúpica pode ser o tratamento para o lúpus tal como, por exemplo, antiinflamatórios não esteróides (NSAIDs), medicamentos antimaláricos, corticosteróides (por exemplo, prednisona; metilprednisolona), imunossupressores ou agentes biológicos. Exemplos de NSAIDs podem incluir naproxeno sódico (Aleve) e ibuprofeno (Advil, Motrin IB, outros). Um exemplo de medicamento antimalárico pode ser a hidroxicloroquina (Plaquenil). Exemplos de imunossupressores podem incluir azatioprina (Imuran, Azasan), micofenolato mofetil (CellCept) e metotrexato (Trexall). Exemplos de produtos biológicos podem incluir belimumab (Benlysta) ou rituximab (Rituxan).

[0080] São fornecidos nessa invenção composições e métodos para o tratamento de esteatohepatite não alcoólica (NASH) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de NASH. Os métodos de tratamento de NASH no presente documento fornecidos podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de NASH. A NASH é um tipo de doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD). NAFLD é um termo genérico para uma série de doenças hepáticas que afetam pessoas que bebem pouco ou nenhum álcool. A principal característica da NAFLD é o excesso de gordura armazenada nas células do fígado e é marcada por inflamação do fígado, que pode progredir para cicatrizes e danos irreversíveis. Esse dano pode ser similar ao dano causado pelo uso excessivo de álcool. Na sua forma mais grave, a esteatohepatite não alcoólica pode progredir para cirrose e insuficiência hepática. O diagnóstico de NASH pode ser ou pode ter sido determi-

nado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado de ter NASH utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para NASH, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O padrão de tratamento para NASH pode incluir mudanças no estilo de vida, tais como perder peso, aumentar os exercícios, evitar medicamentos prejudiciais ao fígado, reduzir o colesterol e/ou controlar o diabetes.

[0081] São no presente documento fornecidos composições e métodos para o tratamento da nefropatia diabética em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de nefropatia diabética. Os métodos para o tratamento da nefropatia diabética no presente documento fornecidos podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de nefropatia diabética. A nefropatia diabética é uma complicação grave relacionada aos rins de diabetes tipo 1 e diabetes tipo 2 que também pode ser referida como doença renal diabética (DKD). O diagnóstico de DKD pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer

método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado de ter DKD utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para DKD, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo como fornecido nesta invenção que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão para a nefropatia diabética pode incluir mudanças no estilo de vida tal como perder peso, aumentar os exercícios, diminuir o colesterol, controlar a proteína na urina, promover a saúde óssea, controlar a hipertensão, controlar o diabetes, fazer diálise ou transplante renal.

[0082] São fornecidos nessa invenção composições e métodos para o tratamento da doença inflamatória intestinal (IBD) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de IBD. Os métodos para o tratamento de IBD fornecidos nesta invenção podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de IBD. IBD é um termo genérico utilizado para descrever distúrbios que envolvem inflamação crônica do trato digestivo de um indivíduo. IBD pode incluir colite ulcerativa e doença de Crohn. A colite ulcerativa é uma inflamação e feridas (úlceras) duradouras no revestimento interno do intestino grosso (cólon) e

reto, enquanto a doença de Crohn é caracterizada pela inflamação do revestimento do trato digestivo, que geralmente se espalha profundamente nos tecidos afetados. O diagnóstico de IBD pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado de ter IBD utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para IBD, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão de assistência para IBD pode incluir medicamentos antiinflamatórios, supressores do sistema imunológico, antibióticos, medicamentos antidiarréicos, analgésicos, suplementos de ferro e suplementos de cálcio e vitamina D. Os antibióticos podem incluir ciprofloxacina (Cipro) e metronidazol (Flagyl). Exemplos de fármacos imunossupressoras podem incluir azatioprina (Azasan, Imuran), mercaptopurina (Purinethol, Purixan), ciclosporina (Gengraf, Neoral, Sandimmune) e metotrexato (Trexall). Outros exemplos de imunossupressores podem incluir inibidores do fator de necrose tumoral (TNF)-alfa, ou produtos biológicos tais como, por exemplo, infliximab (Remicade), adalimumab (Humira), golimumab (Simponi), natalizumab (Tysabri), vedolizumab (Entyvio) e ustekinumab (Stelara). Os

anti-inflamatórios podem incluir corticosteróides e aminossalicilatos, tais como, por exemplo, mesalamina (Asacol HD, Delzicol), balsalazida (Colazal) e olsalazina (Dipentum).

[0083] São no presente documento fornecidos composições e métodos para o tratamento da síndrome periódica associada à criopirina (CAPS) em um indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de CAPS. Os métodos para o tratamento de CAPS fornecidos nesta invenção podem envolver a administração de uma composição (por exemplo, uma composição farmacêutica) compreendendo um agente (por exemplo, IC 100) ao indivíduo que sofre ou é suspeito de sofrer de CAPS. Síndromes periódicas associadas à criopirina (CAPS), também chamada de síndrome autoinflamatória associada à criopirina, consiste em três doenças autoinflamatórias relacionadas a um defeito no mesmo gene (isto é, NLRP3): doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS). A NOMID é caracterizada por febre com inflamação em vários órgãos. Os primeiros sintomas de NOMID podem incluir erupção cutânea similar à urticária que não coça; inflamação da membrana que envolve o cérebro, que provoca dor de cabeça, cegueira ou perda de audição; aparência protuberante aos olhos; e episódios de vômito. Após 1 ano de idade, metade das crianças com NOMID pode desenvolver dor e inchaço nas articulações. A MWS é caracterizada por sintomas que vêm e vão, incluindo erupção cutânea, olhos vermelhos, dores nas articulações e fortes dores de cabeça com vômitos. Os episódios duram entre um e três dias. A perda auditiva, que pode ser completa, geralmente ocorre na adolescência. A FCAS é caracterizada por febre, calafrios, náuseas, sede extrema, dor de cabeça e dores nas articulações. O diagnóstico de CAPS pode ser ou pode ter sido determinado utilizando qualquer método conhecido na técnica. Em uma modalidade, o indivíduo foi diagnosticado

de ter CAPS utilizando os métodos detalhados na WO 2019/060516, depositada em 20 de setembro de 2018, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. O agente pode ser um tratamento padrão de assistência conhecido na técnica para CAPS, um inibidor de captação de EV (por exemplo, qualquer inibidor de captação de EV da Tabela 1), um anticorpo ou fragmento de anticorpo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma (por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou fragmento de anticorpo do mesmo tal como, por exemplo, IC 100) ou qualquer combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. O tratamento padrão de assistência para CAPS pode incluir agentes biológicos que direcionam a interleucina-1, assim como fisioterapia, talas para tratar deformidades articulares, e fármacos anti-inflamatórios não esteróides, corticosteróides ou metotrexato para reduzir os sintomas.

[0084] São fornecidos nessa invenção composições e métodos para reduzir a inflamação nos pulmões de um mamífero que foi submetido ou é afetado por uma condição que resulta ou provoca inflamação pulmonar. As composições e métodos no presente documento descritos podem incluir anticorpos ou fragmentos ativos dos mesmos conforme fornecido nesta invenção (por exemplo, IC 100) que se ligam especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC) de um inflamassoma de mamífero e/ou compostos que modulam (por exemplo, inibem ou reduzir) a captação de vesículas extracelulares (EV) e ter uso como tratamento para inflamação pulmonar em um mamífero.

[0085] São no presente documento descritos métodos para reduzir

a inflamação nos pulmões de um mamífero com uma condição que resulta e/ou provoca uma resposta inflamatória nos pulmões. Em uma modalidade, o método de tratamento da inflamação nos pulmões de um mamífero compreende a administração ao mamífero de uma composição que compreende um agente (por exemplo, IC 100) que inibe a sinalização do inflamassoma. O mamífero pode ser um paciente ou indivíduo conforme no presente documento fornecido. Exemplos de condições que podem levar à inflamação nos pulmões incluem lesão do sistema nervoso central (CNS) (por exemplo, lesão da medula espinhal (SCI), lesão cerebral traumática (TBI) ou acidente vascular cerebral), uma doença neurodegenerativa, uma doença autoimune (por exemplo, MS), asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (COPD), fibrose cística, doença pulmonar intersticial ou síndrome da angústia respiratória aguda. A composição pode ser administrada em uma quantidade terapeuticamente eficaz. A quantidade terapeuticamente eficaz pode ser uma dose como no presente documento fornecida. O agente pode ser um inibidor da captação de vesícula extracelular (EV), um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma ou uma combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

[0086] São no presente documento fornecidos composições e métodos para reduzir a inflamação nos rins de um mamífero que foi submetido ou é afetado por uma condição que resulta ou provoca inflamação renal. As composições e métodos no presente documento descritos podem incluir anticorpos ou fragmentos ativos dos mesmos, conforme fornecido nesta invenção (por exemplo, IC 100) que se ligam

especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC) de um inflamassoma de mamífero e/ou compostos que modulam (por exemplo, inibem ou reduzem) a captação de vesículas extracelulares (EV) e ter uso como tratamento para inflamação renal em mamíferos.

[0087] São no presente documento descritos métodos para reduzir a inflamação nos rins de um mamífero com uma condição que resulta e/ou provoca uma resposta inflamatória nos rins. Em uma modalidade, o método de tratamento da inflamação nos rins de um mamífero compreende a administração ao mamífero de uma composição que compreende um agente (por exemplo, IC 100) que inibe a sinalização do inflamassoma. O mamífero pode ser um paciente ou indivíduo conforme no presente documento fornecido. Exemplos de condições que podem levar à inflamação dos rins incluem a nefrite lúpica. A composição pode ser administrada em uma quantidade terapeuticamente eficaz. A quantidade terapeuticamente eficaz pode ser uma dose como no presente documento fornecida. O agente pode ser um inibidor da captação de vesícula extracelular (EV), um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga a um componente de um inflamassoma ou uma combinação dos mesmos. A composição pode ser administrada por qualquer via adequada, por exemplo, por inalação, intravenosa, intraperitoneal ou intracerebroventricularmente. A composição pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

[0088] Em uma modalidade, a administração de um agente (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo (por exemplo, IC 100) isoladamente ou em combinação, por exemplo, com um inibidor da captação de EV) nos métodos no presente documento fornecidos pode resultar em uma redução na atividade e/ou nível de expressão de um componente de um inflamassoma de mamífero no CNS, rins ou pulmões do indivíduo. A redução pode ser nas células do

pulmão tais como, por exemplo, células alveolares do Tipo II. A redução pode ser em comparação a um controle. O controle pode ser o indivíduo antes da administração do agente. O controle pode ser a atividade e/ou o nível de expressão dos componentes do inflamassoma em um indivíduo que não recebeu o agente. Em uma modalidade, a administração do agente resulta na redução da ativação da caspase-1 em pelo menos o CNS ou as células do CNS do indivíduo. Em uma modalidade, a administração do agente resulta na redução da ativação da caspase-1 em pelo menos os pulmões ou células pulmonares do indivíduo. Em uma modalidade, a administração do agente resulta na redução do nível de expressão de um ou mais componentes do inflamassoma (por exemplo, ASC, AIM2, NALP1, NALP2, NALP2, NALP3 ou NLRC4) em pelo menos o CNS ou as células do CNS do indivíduo. Em uma modalidade, a administração do agente resulta na redução do nível de expressão de um ou mais componentes do inflamassoma (por exemplo, ASC, AIM2, NALP1, NALP2, NALP2, NALP3 ou NLRC4) em pelo menos os pulmões ou células pulmonares do indivíduo.

[0089] Em outra modalidade, a administração do agente (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo isoladamente ou em combinação, por exemplo, com um inibidor da captação de EV) pode resultar em uma redução ou eliminação da lesão pulmonar aguda (ALI). Em uma modalidade, a redução na ALI é evidenciada por uma redução na infiltração de neutrófilos no espaço alveolar e/ou intersticial, espessamento septal alveolar reduzido ou ausente ou uma combinação dos mesmos. A redução pode ser em comparação a um controle. O controle pode ser ALI no indivíduo antes da administração do agente. O controle pode ser ALI em um indivíduo que sofre de ALI sem o agente administrado.

[0090] Em ainda outra modalidade, a administração do agente (por exemplo, anticorpo ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo (por

exemplo, IC 100) isoladamente ou em combinação, por exemplo, com um inibidor da captação de EV) pode resultar em uma redução ou eliminação de piroptose no CNS ou nos pulmões do indivíduo. A piroptose é uma forma pró-inflamatória de morte celular que envolve a ativação da caspase-1. A piroptose pode ser desencadeada pela clivagem mediada pela caspase-1 da gasdermina D (GSDMD). Em uma modalidade, a redução na piroptose é evidenciada por uma redução ou falta de clivagem de GSDMD nos pulmões ou células pulmonares (por exemplo, células alveolares Tipo II) do indivíduo. A redução ou eliminação da piroptose pode ser comparada a um controle. A redução ou falta de clivagem de GSDMD pode ser em comparação a um controle. O controle pode ser o nível de piroptose no indivíduo antes da administração do agente. O controle pode ser o nível de piroptose em um indivíduo que sofre de piroptose ao qual não foi administrado o agente.

[0091] O sucesso de, ou resposta a, um método de tratamento fornecido nesta invenção (por exemplo, tratamento de lesão do CNS, doenças autoimunes, autoinflamatórias, neurodegenerativas ou metabólicas (por exemplo, MS, PD, nefrite lúpica, NASH, DKD, CAPS, doença inflamatória do intestino (IBD); AD, artrite reumatóide), inflamação imune inata ou relacionada com inflamassoma, inflamação do CNS e/ou inflamação pulmonar) pode ser monitorado através da medição dos níveis de pelo menos uma proteína do inflamassoma. Conforme for, em algumas modalidades, os métodos de tratamento fornecidos nesta invenção compreendem ainda medir o nível de pelo menos uma proteína do inflamassoma em uma amostra biológica obtida do indivíduo após o tratamento, a preparação de uma assinatura de proteína de inflamassoma de tratamento associada a uma resposta positiva ao tratamento, em que a assinatura da proteína de tratamento compreende um nível reduzido de pelo menos uma proteína de inflamassoma e a identificação de indivíduos que apresentam a presença da

assinatura da proteína de tratamento como respondendo positivamente ao tratamento. Uma redução no nível, abundância ou concentração de uma ou mais proteínas de inflamassoma (por exemplo, ASC, IL-18 ou caspase-1) é indicativa da eficácia do tratamento no indivíduo. As uma ou mais proteínas de inflamassoma medidas na amostra obtida após o tratamento podem ser iguais ou diferentes das proteínas de inflamassoma medidas em uma amostra obtida antes do tratamento. Os níveis de proteína de inflamassoma também podem ser utilizados para ajustar a dosagem ou a frequência de um tratamento. Os níveis de proteína de inflamassoma podem ser determinados utilizando os métodos e técnicas fornecidos nesta invenção ou conforme encontrados na US 62/560.963, depositada em 20 de setembro de 2017.

[0092] Em uma modalidade, o agente a ser administrado no método de tratamentos no presente documento fornecido é um inibidor da captação de EV. O inibidor da captação de EV pode ser um composto, RNA antissenso, siRNA, peptídeo, anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo, conforme fornecido nessa invenção ou uma combinação dos mesmos. O composto ou peptídeo pode ser um ou mais compostos selecionados de heparina, α-difluorometilornitina (DFMO), Enoxaparina, Asialofetuína, proteína associada ao receptor humano (RAP), peptídeo de RGD (Arg-Gly-Asp), Citocalasina D, Citocalasina B, Ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), Latrunculin A, Latrunculin B, NSC23766, Dynasore, Clorpromazina, 5-(N-Etil-N-isopropil)amiloride (EIPA), Amiloride, Bafilomicina A Monensin e Cloroquina, Annexin-V, Wortmannin, LY294002, Metil-β-ciclodextrina (MβCD), Filipin, Sinvastatina, Fumonisina B1 e cloridreto de N-butildeoxinojirimicina, U0126 ou um inibidor da bomba de prótons. O anticorpo inibidor da captação de EV ou um fragmento ativo do mesmo conforme no presente documento fornecido, pode ser um ou mais anticorpos ou fragmentos ativos dos mesmos direcionados contra alvos protéicos listados na Tabela 1.

Uma composição para o tratamento e/ou redução da inflamação no CNS ou nos pulmões de um mamífero utilizando um inibidor da captação de EV pode ainda incluir pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

Tabela 1. Alvos exemplares e anticorpos correspondentes para uso no bloqueio da captação de EV.

Símbolo do Gene	**Nome do Gene**	**Anticorpos Exemplares**
ICAM-1	Molécula 1 de Aderência Intercelular	Anticorpo Invitrogen ICAM-1 (Life Technologies, 07-5403); Anticorpo Monoclonal CD54 (ICAM-1) (R6.5), eBioscience™
LFA-1	Antígeno 1 associado com a função de linfócitos	Anticorpo Abbiotec LFA-1 (Abbiotec, 250944); Anticorpo Developmental Studies Hybridoma Bank LFA-1 (Developmental Studies Hybridoma Bank, MHM24)
TIM-4	Proteína 4 da membrana de células T	Anticorpo BioLegend TIMD4 (BioLegend, 354004); Anticorpo LifeSpan Biosciences TIMD4 (Lifespan Biosciences, LS-B1413)
MFG-E8	Proteína de glóbulo de gordura do leite-fator 8 de EGF	Anticorpo MBL International MFGE8 (MBL, D199-3); Anticorpo Santa Cruz Biotechnology MFGE8 (Santa Cruz, sc-8029); Anticorpo MBL International MFGE8 (MBL, 18A2-G10)
DC-SIGN	Molécula de aderência intercelular específica para	Anticorpo Invitrogen DC SIGN (eBioscience, eB-h209, 17-2099-41); Anticorpo BD Biosciences DC SIGN (BD,

Símbolo do Gene	Nome do Gene	Anticorpos Exemplares
	células dendríticas-3-captura não integrina	DCN46, 551186)
DEC205	Agrupamento de diferenciação 205	Anticorpo EMD Millipore LY75 (Millipore, HD30); Anticorpo BioLegend LY75 (BioLegend, 342203)
H-2Kb	MHC Classe I (H-2Kd)	Anticorpo BioLegend H2-K1 (BioLegend, 28-8-6, 114603); Anticorpo BioLegend H2-K1 (BioLegend, 28-14-8, 14-5999-85)
Tspan8	Tetraspanin-8	Anticorpo R and D Systems TSPAN8 (R&D Systems, MAB4734)
Tspan29	Tetraspanin-29	Anticorpo Santa Cruz Biotechnology CD9 (Santa Cruz, sc-59140); Anticorpo Invitrogen CD9 (eBioscience, eBioSN4); Anticorpo BD Biosciences CD9 (BD Pharmingen, 555370)
ITGAL	Subunidade de integrina alfa L	TS1/22.1.1.13.3; M17/4.4.11.9
ITGAM	Subunidade de integrina alfa M	Anticorpo Monoclonal CD11b (VIM12)(CD11B00); Anticorpo BD Biosciences CD11b (BD Pharmingen, ICRF44; 555385)
ITGAX	Subunidade de integrina alfa X	Anticorpo Anti-Integrina αX, clone N418 (MAB1399Z); Anticorpo BD Biosciences CD11c (BD Bioscience,

Símbolo do Gene	Nome do Gene	Anticorpos Exemplares
		B-ly6; 560369)
CD44	Agrupamento de diferenciação 44	Anticorpo Invitrogen CD44 (eBioscience, VFF-7; MA1-82392); Anticorpo Invitrogen CD44 (eBioscience, IM7; MA1-10225); Anticorpo Invitrogen CD44 (eBioscience, 5F12; MA5-12394); Anticorpo BD Biosciences CD44 (BD Biosciences, 515; 550990 OR 550988)
ITGA3	Subunidade de integrina alfa 3	Anticorpo de integrina alfa3 EMD Millipore (Millipore, P1B5; MAB1952Z OR MAB1952P)
ITGA4	Subunidade de integrina alfa 4	Anticorpo Bio X Cell ITGA4 (BioXcell, PS/2) (BE0071-5MG); Anticorpo BD Biosciences ITGA4 (BD Biosciences, 561892); Anticorpo BD Biosciences ITGA4 (BD, 340976); Anticorpo EMD Millipore ITGA4 (Millipore, P4C2; MAB1955)
ITGAV	Subunidade de integrina alfa V	Anticorpo de integrina alfa v Abcam (Abcam, ab77906); Anticorpo de integrina alfa v Abcam (Abcam, ab78289); Anticorpo de integrina alfa v Abcam (Abcam, ab16821); Anticorpo de integrina alfa v Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, 272-17E6, MA1-91669); Anticorpo de integrina alfa v R & D Sys-

Símbolo do Gene	Nome do Gene	Anticorpos Exemplares
		tems (R&D Systems, MAB2528)
ITGB3	Subunidade de integrina beta 3	Anticorpo de integrina beta3 Abcam (Abcam, ab78289); Anticorpo de integrina beta3 Abnova (Abnova, MHF4, MAB7098)
SELL	Selectina L	Anticorpo BioLegend CD62L (Biolegend, 304804); Anticorpo BioLegend CD62L (Biolegend, 304810)
CD81	Molécula CD81	Anticorpo BD Biosciences CD81 (BD Pharmingen, 555675); Anticorpo R and D Systems CD81 (R&D Systems, MAB4615)
LRP1	Proteína 1 relacionada ao receptor de LDL	Anticorpo Invitrogen LRP1 (Life Technologies, 37-7600); Anticorpo Invitrogen LRP1 (Thermo Fisher, MA1-27198)
VCAM1	Molécula 1 de aderência celular vascular	Anticorpo Invitrogen VCAM-1 (Caltag, IG11B1; MA5-16429); Anticorpo Immunotech anti-VCAM-1
CD151	Molécula CD151 (grupo sanguíneo Raph)	Anticorpo BD Biosciences CD151 (Becton Dickinson, 556056); Anticorpo Epitomics CD151 (Epitomics, 5901-1)

[0093] Em uma modalidade, o agente a ser administrado é um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo conforme fornecido nesta invenção, direcionado contra um componente de um inflamassoma de mamífero ou um antígeno ou epítopo derivado do mesmo. Em outra

modalidade, o agente a ser administrado é um RNA antissenso ou siRNA direcionado contra um componente de um inflamassoma de mamífero. O componente de inflamassoma pode ser um componente de qualquer inflamassoma conhecido na técnica tal como, por exemplo, o inflamassoma NAPL1, NALP2, NALP3, NLRC4 ou AIM2. Em uma modalidade típica, o anticorpo se liga especificamente a ASC ou a um antígeno ou seu epítopo derivado. No entanto, um anticorpo contra qualquer outro componente de um inflamassoma de mamífero (por exemplo, o inflamassoma NALP1, NALP2, NALP3, NLRC4 ou AIM2) pode ser utilizado.

[0094] Um anticorpo como no presente documento descrito pode ser um anticorpo monoclonal ou policlonal ou seus fragmentos ativos. Os referidos anticorpos ou fragmentos ativos podem ser quiméricos, humanos ou humanizados como no presente documento descrito.

[0095] Qualquer anticorpo adequado ou um fragmento ativo do mesmo conforme no presente documento fornecido, que se liga especificamente ao ASC pode ser utilizado, por exemplo, um anticorpo que inibe a atividade de ASC no CNS (por exemplo, células do CNS) ou células pulmonares (por exemplo, células alveolares Tipo II) do indivíduo. Em uma modalidade, o anticorpo se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 85% de identidade de sequência com a sequência de aminoácido SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 2. Em outra modalidade, o anticorpo ou fragmento do mesmo se liga a uma sequência de aminoácido com pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a sequência de aminoácido KKFKLKLLSVPLREGYGRIPR (SEQ ID NO: 5). Em mais outra modalidade, o anticorpo ou fragmento do mesmo se liga a uma sequência de aminoácido KKFKLKLLSVPLREGYGRIPR (SEQ ID NO: 5) ou 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 aminoácidos

da SEQ ID NO: 5. Em ainda uma outra modalidade, o anticorpo ou fragmento do mesmo se liga a 2 a 5, 5 a 10, 10 a 15 ou 15 a 20 amino ácidos da SEQ ID NO: 5. Em algumas modalidades, um epítopo de ASC (por exemplo, epítopo com aminoácido SEQ ID NO: 5) ligado por um anticorpo ou fragmento de anticorpo é contínuo. Em algumas modalidades, um epítopo de ASC (por exemplo, epítopo com aminoácido SEQ ID NO: 5) ligado por um anticorpo ou fragmento de anticorpo é descontínuo. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo no presente documento fornecido inibe ou reduz a atividade de ASC.

[0096] Conforme utilizado nesta invenção, o termo "epítopo" inclui qualquer determinante de proteína capaz de ligação específica a uma imunoglobulina ou a um fragmento de imunoglobulina. Os determinantes epitópicos geralmente consistem em agrupamentos superficiais quimicamente ativos de moléculas tais como aminoácidos ou cadeias laterais de açúcar, e geralmente possuem características estruturais tridimensionais específicas, assim como características de carga específicas. O termo "epítopo" também se refere a uma unidade de estrutura convencionalmente ligada por uma região variável de cadeia pesada de imunoglobulina (VH) e um par de regiões variáveis de cadeia leve (VL). Um epítopo pode definir o local mínimo de ligação para um anticorpo e, assim, representar o alvo de especificidade de um anticorpo.

[0097] Da mesma forma, em outra modalidade, o inflamassoma é o inflamassoma NALP1 e pelo menos um componente é NALP1 (isto é, NLRP1). Nesta modalidade, o anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo conforme no presente documento fornecido, se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 85% de identidade de sequência com a sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 3 ou SEQ ID NO: 4.

[0098] Em mais outra modalidade, o agente é um ou mais inibidores de absorção de EV em combinação com um ou mais anticorpos ou fragmentos ativos dos mesmos, conforme no presente documento fornecido, que se liga a um componente de um inflamassoma. O inibidor de captação de EV pode ser qualquer inibidor de captação de EV como no presente documento fornecido. O anticorpo que se liga a um componente de um inflamassoma pode ser qualquer anticorpo que se liga a qualquer componente de inflamassoma conforme fornecido nesta invenção. Em uma modalidade, o agente administrado a um indivíduo que sofre de inflamação do CNS ou pulmonar compreende uma heparina (por exemplo, Enoxaparina) em combinação com um anticorpo que se liga a um componente do inflamassoma AIM2 (por exemplo, ASC).

[0099] Em uma modalidade, o método compreende: fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição incluindo um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo conforme fornecido nesta invenção, que se liga especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC) de um inflamassoma de mamífero (por exemplo, Inflamassoma AIM2); e administrar a composição ao mamífero que sofre de inflamação do CNS ou pulmonar ou MS, em que a administração da composição ao mamífero resulta em uma redução da ativação da caspase-1 no CNS ou nos pulmões do mamífero. Em outra modalidade, o método compreende: fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição incluindo um anticorpo que se liga especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC) de um inflamassoma de mamífero (por exemplo, inflamassoma AIM2); e administrar a composição ao mamífero que sofre de inflamação do CNS ou pulmonar ou MS, em que a administração da composição ao mamífero resulta em uma redução nos níveis de um ou mais componentes do inflamassoma (por exemplo, ASC). Em mais outra

modalidade, o método compreende: fornecer uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição incluindo um anticorpo que se liga especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC) de um inflamassoma de mamífero (por exemplo, inflamassoma AIM2); e administrar a composição ao mamífero que sofre de inflamação do CNS ou do pulmão ou MS, em que a administração da composição ao mamífero resulta em uma redução de ALI. A inflamação do CNS ou do pulmão pode ser o resultado de uma lesão do CNS (por exemplo, SCI ou TBI), asma, distúrbio pulmonar obstrutivo crônico (COPD), uma doença neurodegenerativa ou uma doença autoimune com um componente inflamatório. Em uma modalidade, a inflamação do pulmão é provocada por uma lesão do CNS tal como TBI ou SCI.

[00100] Em uma modalidade, os métodos no presente documento fornecidos envolvem ainda a detecção de um nível ou atividade de um ou mais componentes de um inflamassoma de mamífero em uma amostra de um indivíduo suspeito de sofrer de inflamação do CNS ou do pulmão ou MS. O método de detecção do nível ou atividade envolve a medição do nível de pelo menos uma proteína de inflamassoma (por exemplo, ASC ou AIM2) na amostra obtida do indivíduo; a determinação da presença ou ausência de um nível elevado ou atividade da referida pelo menos uma proteína de inflamassoma (por exemplo, ASC ou AIM2). O nível ou atividade de dita pelo menos uma proteína de inflamassoma pode ser aumentada em relação ao nível de dita pelo menos uma proteína de inflamassoma em uma amostra de controle. O nível ou atividade da referida pelo menos uma proteína de inflamassoma na assinatura da proteína pode ser aumentada em relação a um valor de referência pré-determinado ou faixa de valores de referência. A pelo menos uma proteína de inflamassoma pode ser um domínio de pirina de repetição rico em leucina de ligação a nucleotídeos contendo a proteína 1 (NLRP1), NLRP2, NLRP3, NLRC4, AIM2, proteína tipo

Speck associada a apoptose contendo um domínio de recrutamento da caspase (ASC), caspase-1, ou combinações dos mesmos. A amostra pode ser líquida cefalorraquidiano (CSF), saliva, sangue, soro, plasma, urina ou aspirado pulmonar.

[00101] Anticorpos que se Ligam Especificamente a pelo menos um Componente de Inflammassoma de mamífero A

[00102] Os métodos no presente documento descritos para reduzir a inflamação no CNS e/ou pulmões de um mamífero incluem composições incluindo um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo conforme fornecido nesta invenção que se liga especificamente a pelo menos um componente (por exemplo, ASC, AIM2) de um inflamassoma de mamífero (por exemplo, inflamassoma AIM2). Uma composição para tratar e/ou reduzir a inflamação no CNS e/ou pulmões de um mamífero pode incluir ainda pelo menos um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável. Anticorpos exemplares direcionados contra componentes de um inflamassoma de mamífero para uso nos métodos no presente documento descritos podem ser aqueles encontrados na US8685400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. Anticorpos monoclonais exemplares ou fragmentos de anticorpos também são fornecidos nessa invenção, tais como, por exemplo, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo compreendendo uma região VH de modo que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, e uma região VL de modo que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14.

[00103] Em uma modalidade, uma composição para tratar e/ou reduzir a inflamação no CNS ou nos pulmões de um mamífero inclui um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo conforme no presente do-

cumento fornecido, que se liga especificamente a um domínio ou parte do mesmo de uma proteína ASC de mamífero, tal como, por exemplo, uma proteína ASC humana, de camundongo ou de rato. Qualquer anticorpo anti-ASC adequado pode ser utilizado e vários estão disponíveis comercialmente. Exemplos de anticorpos anti-ASC para uso nos métodos no presente documento descritos podem ser aqueles encontrados na US8685400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. Exemplos de anticorpos anti-ASC comercialmente disponíveis para uso nos métodos fornecidos nesta invenção incluem, mas não são limitados a estes, 04-147 Anti-ASC, anticorpo monoclonal de camundongo clone 2EI-7 da MilliporeSigma, Anticorpo AB3607 - anti-ASC da Millipore Sigma, orb194021 Anti-ASC da Biorbyt, LS-C331318-50 Anti-ASC da LifeSpan Biosciences, AF3805 Anti-ASC da R & D Systems, NBP1-78977 Anti-ASC da Novus Biologicals, 600-401-Y67 Anti-ASC da Rockland Immunochemicals, D086-3 Anti-ASC da MBL International, AL177 anti-ASC da Adipogen, anticorpo monoclonal anti-ASC (clone o93E9), anticorpo anti-ASC (F-9) da Santa Cruz Biotechnology, anticorpo anti-ASC (B-3) da Santa Cruz Biotechnology, anticorpo policlonal ASC - ADI-905-173 da Enzo Life Sciences ou A161 Anti-Human ASC - Leinco Technologies. A proteína ASC humana pode ter o número de acesso NP_037390.2 (Q9ULZ3-1), NP_660183 (Q9ULZ3-2) ou Q9ULZ3-3. A proteína ASC de rato pode ter o número de acesso NP_758825 (BAC43754). A proteína ASC de camundongo pode ter o número de acesso NP_075747.3. Em uma modalidade, o anticorpo se liga a um domínio PYRIN-PAAD-DAPIN (PYD) ou uma parte ou fragmento do mesmo de uma proteína ASC de mamífero (por exemplo, ASC de ser humano, camundongo ou rato). Nesta modalidade, um anticorpo como no presente documento descrito se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 65% (por exemplo, 65, 70,

75, 80, 85%) de identidade de sequência com um domínio PYD ou fragmento do mesmo de ASC de ser humano, camundongo ou rato. Em uma modalidade, o anticorpo se liga a um domínio de recrutamento da caspase C-terminal (CARD) ou uma parte ou fragmento do mesmo de uma proteína ASC de mamífero (por exemplo, ASC de ser humano, de camundongo ou de rato). Nesta modalidade, um anticorpo como no presente documento descrito se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 65% (por exemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidade de sequência com um domínio CARD ou seu fragmento de ASC de ser humano, camundongo ou rato. Em ainda outra modalidade, o anticorpo se liga a uma parte ou fragmento do mesmo de uma sequência de proteína ASC de mamífero (por exemplo, ASC de ser humano, camundongo ou rato) localizada entre os domínios PYD e CARD. Em outra modalidade, uma composição para tratar e/ou reduzir a inflamação no CNS e/ou pulmões de um mamífero inclui um anticorpo que se liga especificamente a uma região de ASC de rato, por exemplo, sequência de aminoácido ALRQTQPYLVTDLEQS (SEQ ID NO: 1) (isto é, resíduos de 178 a 193 de ASC de rato, número de acesso BAC43754). Nesta modalidade, um anticorpo como no presente documento descrito se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 65% (por exemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidade de sequência com a sequência de aminoácido ALRQTQPYLVTDLEQS (SEQ ID NO: 1) de ASC de rato. Em outra modalidade, uma composição para tratar e/ou reduzir a inflamação no CNS e/ou pulmões de um mamífero inclui um anticorpo que se liga especificamente a uma região de ASC humano, por exemplo, sequência de aminoácido RESQSYLVEDLERS (SEQ ID NO: 2). Em ainda outra modalidade, uma composição para tratar e/ou reduzir a inflamação no CNS e/ou pulmões de um mamífero inclui um anticorpo que se liga especificamente a uma região de ASC humano, por exemplo, sequência

de aminoácido KKFKLKLLSVPLREGYGRIPR (SEQ ID NO: 5; isto é, resíduos de 21 a 41 de ASC humano) ou 5 a 10, 10 a 15 ou 15 a 20 aminoácidos da SEQ ID NO: 5. Em uma modalidade, um anticorpo que se liga a um domínio ASC ou seu fragmento, como no presente documento descrito, inibe a atividade de ASC nas células pulmonares, por exemplo, células alveolares Tipo II de um mamífero. Em outra modalidade, um anticorpo que se liga a um domínio ASC ou fragmento deste, conforme descrito nesta invenção (por exemplo, anticorpo monoclonal anti-ASC ou seus fragmentos de anticorpo no presente documento fornecidos) inibe a atividade de ASC no CNS de um mamífero que sofre ou é suspeito de sofrer de uma lesão ou distúrbio do CNS. Exemplos de lesões ou distúrbios do CNS podem incluir TBI, SCI, acidente vascular cerebral, esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD).

[00104] Em certas modalidades, a invenção fornece anticorpos e fragmentos de anticorpos que se ligam especificamente a ASC e que compreendem uma ou mais sequências de aminoácido mostradas na Tabela 2. Também são no presente documento fornecidas moléculas de ácido nucleico isoladas que codificam os anticorpos monoclonais ou seus fragmentos de anticorpo que compreendem sequências de ácido nucleico mostradas na Tabela 2. Em alguns casos, os vetores de expressão compreendendo as moléculas de ácido nucleico da Tabela 2. O vetor de expressão pode compreender regiões constantes de cadeia pesada ou cadeia leve. Um exemplo de um sistema de vetor de expressão de cadeia leve e de cadeia pesada para uso nas composições e métodos no presente documento fornecidos é o sistema de vetor de expressão antítopo pANT para cadeia pesada IgG4 (S241P) e leve capa. A molécula de ácido nucleico para a cadeia pesada ou leve

pode ser ligada de maneira operável às sequências reguladoras adequadas para a expressão dos segmentos de ácido nucleico em uma célula hospedeira.

Tabela 2. Sequências de Cadeia Pesada Variável e Leve Variável (capa) de anticorpo anti-ASC ou seus fragmentos de anticorpo da invenção.

Sequência de Aminoácido da CDR1 de Cadeia Pesada (H) TSGMGVS (SEQ ID NO: 6)
Sequência de Ácido Nucleico da CDR1 de Cadeia Pesada (H) ACTAGTGGAATGGGTGTGAGC (SEQ ID NO: 9)
Sequência de Aminoácido da CDR2 de Cadeia Pesada (H) HIYWDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO: 7)
Sequência de Ácido Nucleico da CDR2 de Cadeia Pesada (H) CACATTTATTGGGATGATGATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGC (SEQ ID NO: 10)
Sequência de Aminoácido da CDR3 de Cadeia Pesada (H) STPIVANAMDY (SEQ ID NO: 8)
Sequência de Ácido Nucleico da CDR3 de Cadeia Pesada (H) AGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTAC (SEQ ID NO: 11)
Sequência de Aminoácido da CDR1 de Cadeia Leve (Capa) (L) KASQSVDYDGDSYMN (SEQ ID NO: 12)
Sequência de Ácido Nucleico da CDR1 de Cadeia Leve (Capa) (L) AAGGCCAGCCAGAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAAT (SEQ ID NO: 15)
Sequência de Aminoácido da CDR2 de Cadeia Leve (Capa) (L) AASNLES (SEQ ID NO: 13)
Sequência de Ácido Nucleico da CDR2 de Cadeia Leve (Capa) (L)

GCCGCATCTAACCTGGAATCC (SEQ ID NO: 16)
Sequência de Aminoácido da CDR3 de Cadeia Leve (Capa) (L) QQSNEDPYT (SEQ ID NO: 14)
Sequência de Ácido Nucleico da CDR3 de Cadeia Leve (Capa) (L) CAGCAATCTAATGAGGACCCTTACACT (SEQ ID NO: 17)
Sequência de Aminoácido de Cadeia pesada variável (VH) 1 QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIR-QPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDSSSN-QVFLKITSVDTADTATYSCARSTPIVANAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 18)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Pesada (VH) 1 CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCATCGTGAAAC-CCACACAGACCCTCACGCTGACCTGCAGCTTCTCTGGGTTCT-CACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAG-CCCTCAGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTATTGG-GATGATGATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCT-CACCATCTCCAAGGACAGCTCCAAAAACCAGGTGGTCCTTAAA-ATCACCAGCGTGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTCCTGTG-CACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTAC-TGGGGCCAAGGAACCAGCGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 23)
Sequência de Aminoácido de Cadeia pesada variável (VH) 2 QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIR-QPAGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDSSKNQVVLTM-TNMDPVDTATYSCARSTPIVANAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 19)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Pesada (VH) 2 CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCCTGGTGAAAC-CCACACAGACCCTCACGCTGACCTGCAGCTTCTCTGGGTTCT-

CACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAG-CCCGCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTATTGG-GATGATGATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCT-CACCATCTCCAAGGACAGCTCCAAAAACCAGGTGGTCCTTACA-ATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTCCTGTG-CACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTAC-TGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 24)
Sequência de Aminoácido de Cadeia Pesada Variável (VH) 3 QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIR-QPAGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDSSKNQVVLTM-TNMDPVDTATYYCARSTPIVANAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 20)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Pesada (VH) 3 CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCCTGGTGAAAC-CCACACAGACCCTCACGCTGACCTGCAGCTTCTCTGGGTTCT-CACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAG-CCCGCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTATTGG-GATGATGATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCT-CACCATCTCCAAGGACAGCTCCAAAAACCAGGTGGTCCTTACA-ATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTACTGTG-CACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTAC-TGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 25)
Sequência de Aminoácido de Cadeia Pesada Variável (VH) 4 QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIR-QPAGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLTM-TNMDPVDTATYYCARSTPIVANAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 21)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Pesada (VH) 4

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCCTGGTGAAAC-
CCACACAGACCCTCACGCTGACCTGCACCTTCTCTGGGTTCT-
CACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAG-
CCCGCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGCACACATTTATTGG-
GATGATGATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCT-
CACCATCTCCAAGGACACCTCCAAAAACCAGGTGGTCCTTACA-
ATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTACTGTG-
CACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTAC-
TGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 26)

Sequência de Aminoácido de Cadeia Pesada Variável (VH) Quimérica (0)

QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIR-
QPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDSSSN-
QVFLKITSVDTADTATYSCARSTPIVANAMDYWGQGTSVTVSS
(SEQ ID NO: 22)

Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Pesada Varável (VH) Quimérica (0)

CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAG-
CCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGGGTTTT-
CACTGAGCACTTCTGGTATGGGTGTGAGCTGGATTCGTCAG-
CCTTCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTACTGG-
GATGATGACAAGCGCTATAACCCATCCCTGAAGAGCCGGCT-
CACAATCTCCAAGGATTCCTCCAGCAACCAGGTCTTCCTCAA-
GATCACCAGTGTGGACACTGCAGATACTGCCACATACTCCTG-
TGCTCGAAGTACTCCGATTGTAGCTAATGCTATGGACTAC-
TGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 27)

Sequência de Aminoácido de Cadeia Leve Capa Variável (VL) 1

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDYDGDSYMNWYQQK-

PGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQEED-VATYYCQQSNEDPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 28)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Leve Capa Variável (VL) 1 GACATCGTGCTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTG-TCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGCCAGCCA-GAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAATTGGTACCAG-CAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCCG-CATCTAACCTGGAATCCGGCATCCCTGCCCGATTCAGTGGCA-GCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG-CAGGAGGAAGATGTGGCAACTTATTACTGTCAGCAATCTAA-TGAGGACCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT-CAAA (SEQ ID NO: 32)
Sequência de Aminoácido de Cadeia Leve Capa Variável (VL) 2 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDYDGDSYMNWYQQK-PGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPED-VATYYCQQSNEDPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 29)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Leve Capa Variável (VL) 2 GACATCGTGCTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTG-TCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGCCAGCCA-GAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAATTGGTACCAG-CAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCCG-CATCTAACCTGGAATCCGGCATCCCTGCCCGATTCAGTGGCA-GCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG-CAGCCTGAAGATGTGGCAACTTATTACTGTCAGCAATCTAA-TGAGGACCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT-CAAA (SEQ ID NO: 33)
Sequência de Aminoácido de Cadeia Leve Capa Variável (VL) 3 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDYDGDSYMNWYQQK-

PGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPED-VATYYCQQSNEDPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 30)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Leve Capa Variável (VL) 3 GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTG-TCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGCCAGCCA-GAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAATTGGTACCAG-CAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCCG-CATCTAACCTGGAATCCGGCATCCCTGCCCGATTCAGTGGCA-GCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG-CAGCCTGAAGATGTGGCAACTTATTACTGTCAGCAATCTAA-TGAGGACCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGAT-CAAA (SEQ ID NO: 34)
Sequência de Aminoácido de Cadeia Leve Capa Variável (VL) Quimérica (0) DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMNWYQQK-PGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAA-TYYCQQSNEDPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 31)
Sequência de Ácido Nucleico de Cadeia Leve Capa Variável (VL) Quimérica (0) GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTC-TAGGGCAGAGGGCCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTG-TTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAACTGGTACCAACA-GAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTG-CATCCAATCTAGAATCTGGCATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAG-TGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGA-GGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGTAATGAG-GAcCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 35)

[00105] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido

um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou seu fragmento de anticorpo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é

suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00106] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou seu fragmento de anticorpo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a

um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00107] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou seu fragmento de anticorpo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nes-

ta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00108] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Além desta modalidade, é no presente

documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00109] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de

cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer

de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00110] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do

anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00111] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exem-

plo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00112] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é

pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00113] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo

que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através

da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00114] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Em alguns casos, um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo derivado do mesmo compreendendo uma sequência de aminoácido da região VH que compreende a SEQ ID NO: 19 e uma sequência de aminoácido da região VL que compreende a SEQ ID NO: 30 pode ser referido como IC 100. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou

afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00115] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de

aminoácido da SEQ ID NO: 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00116] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o frag-

mento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo

derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00117] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia mus-

cular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00118] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos

pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00119] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL

compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00120] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido

um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmen-

to de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00121] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente a ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo es-

clerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00122] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata.

A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00123] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos

95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme no presente documento fornecido, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica confor-

me no presente documento fornecida.

[00124] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um

controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00125] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do

CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00126] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de

anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00127] Em uma modalidade, é no presente documento fornecido um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo do mesmo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve ou capa

(VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31. Além desta modalidade, é no presente documento fornecido o uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para o tratamento de inflamação em um indivíduo. A inflamação pode ser uma inflamação imune inata. A inflamação pode ser uma inflamação relacionada ao inflamassoma. Em uma modalidade, os anticorpos monoclonais ou fragmentos de anticorpos dos mesmos no presente documento fornecidos podem ser utilizados em um método para reduzir a inflamação em um mamífero, conforme descrito na US 8.685.400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. A inflamação pode ser nos pulmões e/ou no CNS. A inflamação nos pulmões e/ou no CNS pode ser o resultado de uma lesão (por exemplo, lesão cerebral traumática (TBI) ou lesão da medula espinhal (SCI)) ou doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS. Conforme fornecido nesta invenção, a doença, condição ou afecção do CNS ou que afeta o CNS pode ser acidente vascular cerebral, assim como doenças autoimunes e/ou doenças do CNS, incluindo esclerose lateral amiotrópica (ALS) Lou Gehrig, esclerose múltipla (MS), transtorno da disfunção imunológica muscular do CNS, distrofia muscular (MD), doença de Alzheimer (AD), doença de Parkinson (PD). O uso do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo em um método para tratar a inflamação pode reduzir a inflamação no CNS e/ou nos pulmões do paciente. A redução pode ser comparada a um controle (por exemplo, paciente não tratado e/ou paciente antes do tratamento). Em uma mo-

dalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo é utilizado para tratar MS através da administração do anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo a um paciente que sofre ou é suspeito de sofrer de MS. Em alguns casos, o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo desta modalidade está presente em uma composição. A composição pode ser uma composição farmacêutica conforme no presente documento fornecida.

[00128] Em outra modalidade, uma composição para reduzir a inflamação no CNS ou nos pulmões de um mamífero inclui um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga especificamente a NLRP1 (por exemplo, anticorpo de galinha anti-NLRP1) ou um domínio do mesmo. Qualquer anticorpo anti-NLRP1 adequado pode ser utilizado e vários são comercialmente disponíveis. Exemplos de anticorpos anti-NLRP1 para uso nos métodos no presente documento descritos podem ser aqueles encontrados na US8685400, cujos conteúdos são no presente documento incorporados por referência na sua totalidade. Exemplos de anticorpos anti-NLRP1 comercialmente disponíveis para uso nos métodos fornecidos nesta invenção incluem, mas não são limitados a estes, anticorpo policlonal de NLRP1 humano AF6788 da R&D Systems, anti-NLRP1 policlonal de coleho ABF22 EMD Millipore, anti-NLRP1 policlonal de coelho NB100-56148 Novus Biologicals, anti-NLRP1 policlonal de camundongo SAB1407151 Sigma-Aldrich, anti-NLRP1 policlonal de coelho ab3683 Abcam, anti-NLRP1 policlonal de coelho orb325922 Biorbyt, anti-NLRP1 policlonal de coelho MBS7001225 mybiosource, policlonal de ovelha AF6788 R&D systems, anti-NLRP1 monoclonal de camundongo oaed00344 Aviva Systems, anti-NLRP1 policlonal de coelho ARO54478_P050 Aviva Systems, anti-NLRP1 policlonal de coelho APO7775PU-N Origene, anti-NLRP1 policlonal de coelho ABIN768983

Antibodies online, anti-NLRP1 policlonal de coelho 3037 Prosci, anti-NLRP1 policlonal de coelho 12256-1-AP Proteintech, anti-NLRP1 monoclonal de camundongo ALX-804-803-C100 Enzo, anti-NLRP1 monoclonal de camundongo MA1-25842 Invitrogen, anti-NLRP1 monoclonal de camundongo GTX16091 GeneTex, anti-NLRP1 policlonal de coelho 200-401-CX5 Rockland ou anti-NLRP1 policlonal de coelho 4990 Cell Signaling Technology. A proteína NLRP1 humana pode ter o número de acesso AAH51787, NP_001028225, NP_055737, NP_127497, NP_127499 ou NP_127500. Em uma modalidade, o anticorpo se liga a um domínio Pyrin, NACHT, LRR1-6, FIIND ou CARD ou uma parte ou fragmento do mesmo de uma proteína NLRP1 de mamífero (por exemplo, NLRP1 humano). Nesta modalidade, um anticorpo como no presente documento descrito se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 65% (por exemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidade de sequência com um domínio específico (por exemplo, Pyrin, NACHT, LRR1- 6, FIIND ou CARD) ou fragmento do mesmo de NLRP1 humano. Em uma modalidade, um policlonal de galinha anti-NLRP1 que foi projetado e produzido por Ayes Laboratories é utilizado para reduzir a inflamação pulmonar. Este anticorpo pode ser direcionado contra a seguinte sequência de aminoácido em NLRP1 humano: CEYYTEIREREREKSEKGR (SEQ ID NO: 3). Em uma modalidade, um anticorpo que se liga a um domínio NLRP1 ou fragmento do mesmo, conforme descrito nesta invenção inibe a atividade de NLRP1 nas células pulmonares, por exemplo, células alveolares Tipo II de um mamífero.

[00129] Em mais outra modalidade, uma composição para reduzir a inflamação no CNS ou nos pulmões de um mamífero inclui um anticorpo ou um fragmento ativo do mesmo, conforme fornecido nesta invenção, que se liga especificamente a AIM2 ou um domínio do mesmo. Qualquer anticorpo anti-AIM2 adequado pode ser utilizado e vários são

comercialmente disponíveis. Exemplos de anticorpos anti-AIM2 comercialmente disponíveis para uso nos métodos fornecidos nesta invenção incluem, mas não são limitados a estes, um policlonal de coelho anti-AIM2 Número cat. 20590-1-AP da Proteintech, anticorpo anti-AIMS Abcam (ab119791), policlonal anti-AIM2 de coelho (região N-terminal) Número Cat. AP3851 da ECM biosciences, policlonal de coelho anti-ASC Número Cat. E-AB-30449 da Elabsciences, anticorpo monoclonal de camundongo anti-AIM2 denominado anticorpo AIM2 (3C4G11) com número de catálogo sc-293174 da Santa Cruz Biotechnology, anticorpo monoclonal AIM2 de camundongo com número de catálogo TA324972 da Origene, anticorpo monoclonal AIM2 (10M2B3) da Thermofisher Scientific, anticorpo policlonal de coelho AIM2 ABIN928372 ou ABIN760766 da Antibodies-online, anticorpo policlonal anti-AIM2 de revestimento Biomatix com Número de cat. CAE02153. Anticorpo policlonal anti-AIM2 (OABF01632) da Aviva Systems Biology, anticorpo policlonal anti-AIM2 de coelho LS-C354127 da LSBio-C354127, anticorpo monoclonal anti-AIM2 de coelho da Cell Signaling Technology, com o número de cat. MA5-16259. Anticorpo monoclonal anti-AIM2 policlonal de coelho da Fab Gennix International Incorporated, Número Cat. AIM2 201AP, policlonal de coelho anti-AIM2 número de cat MBS855320 MyBiosource, policlonal de coelho anti-AIM2 Signalway número de catálogo 36253, policlonal de coelho anti-AIM2 Novus Biological número de catálogo 43900002, oliclonal de coelho anti-AIM2 GeneTex GTX54910, policlonal de coelho anti-AIM2 26-540 Prosci, monoclonal de camundongo anti-AIM2 orb333902 Biorbyt, policlonal de coelho anti-AIM2 ab93015 Abcam, policlonal de coelho anti-AIM2 ab76423 Abcam, policlonal de camundongo anti-AIM2 SAB1406827 Sigma Aldrich ou anti-AIM2 3B10 Biolegend. A proteína AIM2 humana pode ter o número de acesso NX_014862, NP004824, XP016858337, XP005245673, AAB81613, BAF84731 ou AAH10940.

Em uma modalidade, o anticorpo se liga a um domínio Pyrin ou HIN-200 ou uma parte ou fragmento do mesmo de uma proteína AIM2 de mamífero (por exemplo, AIM2 humano). Nesta modalidade, um anticorpo como no presente documento descrito se liga especificamente a uma sequência de aminoácido tendo pelo menos 65% (por exemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidade de sequência com um domínio específico (por exemplo, Pyrin ou HIN-200) ou fragmento deste de AIM2 humano. Em uma modalidade, um anticorpo que se liga a um domínio AIM2 ou fragmento do mesmo, como no presente documento descrito, inibe a atividade de AIM2 em células pulmonares, por exemplo, células alveolares Tipo II de um mamífero.

[00130] Anticorpos anti-inflamassoma (por exemplo, Anti-ASC, anti-NLRP1 ou anti-AIM2) como no presente documento descritos incluem anticorpos policlonais e monoclonais de roedores, anticorpos policlonais e monoclonais humanos, ou quaisquer partes dos mesmos, tendo pelo menos uma região de ligação ao antígeno de uma região variável de imunoglobulina, cujo anticorpo se liga especificamente a um componente de um inflamassoma de mamífero (por exemplo, inflamassoma AIM2) tal como, por exemplo, ASC ou AIM2. Em alguns casos, o anticorpo é específico para ASC, de modo que um anticorpo é específico para ASC se for produzido contra um epítopo do polipeptídeo e se ligar a pelo menos parte da proteína natural ou recombinante.

[00131] Em certas modalidades, um anticorpo no presente documento fornecido compreende um polipeptídeo tendo uma ou mais substituições, supressões ou inserções de aminoácidos. Por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou um fragmento de anticorpo de ligação ao ASC compreende um polipeptídeo tendo uma ou mais substituições, supressões ou inserções de aminoácidos em comparação com um polipeptídeo tendo uma sequência de aminoácido de uma ou mais das SEQ ID NOs: 6 a 8, 12 a 14, 18 a 22 ou 28 a 31. Um anti-

corpo no presente documento fornecido pode ter 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais substituições, supressões ou inserções de aminoácido. Por exemplo, um anticorpo monoclonal anti-ASC ou um fragmento de anticorpo de ligação a ASC pode ter 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais substituições, supressões ou inserções de aminoácido. Substituições, supressões ou inserções podem ser introduzidas por técnicas padrão, tais como mutagênese direcionada ao sítio ou mutagênese mediada por PCR de uma molécula de ácido nucleico que codifica um polipeptídeo de um anticorpo anti-ASC ou um fragmento de anticorpo de ligação a ASC.

[00132] Em certas modalidades, as substituições conservadoras de aminoácido são efetuadas em uma ou mais posições nas sequências de aminoácido de anticorpos ou fragmentos de anticorpos no presente documento descritos. Uma "substituição conservativa de aminoácido" é aquela em que o resíduo de aminoácido é substituído por um resíduo de aminoácido tendo uma cadeia lateral similar. Em certas modalidades, as substituições conservadoras de aminoácido são efetuadas apenas nas sequências FR e não nas sequências CDR de um anticorpo ou fragmento de anticorpo. Famílias de resíduos de aminoácido tendo cadeias laterais similares foram definidas na técnica, incluindo cadeias laterais básicas (por exemplo, lisina, arginina, histidina), cadeias laterais acídicas (por exemplo, ácido aspártico, ácido glutâmico), cadeias laterais polares sem carga (por exemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadeias laterais não polares (por exemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptofano), cadeias laterais beta-ramificadas (por exemplo, treonina, valina, isoleucina) e cadeias laterais aromáticas (por exemplo, tirosina, fenilalanina, triptofano; histidina). Assim, por exemplo, um resíduo de aminoácido em um polipeptídeo de um anticorpo monoclonal anti-ASC ou um fragmento de anticorpo de ligação a

ASC pode ser substituído por outro resíduo de aminoácido da mesma família de cadeia lateral. Em certas modalidades, uma cadeia de aminoácidos pode ser substituída por uma cadeia estruturalmente similar que difere na ordem e/ou composição dos membros da família de cadeia lateral. Aqueles versados na técnica serão capazes de avaliar se um anticorpo monoclonal anti-ASC ou um fragmento de anticorpo de ligação a ASC compreendendo um polipeptídeo tendo uma ou mais substituições, supressões ou inserções de aminoácidos em comparação com um polipeptídeo tendo uma sequência de aminoácido de uma ou mais das SEQ ID NOs: 6 a 8, 12 a 14, 18 a 22 ou 28 a 31 se ligam à proteína ASC utilizando métodos de rotina reconhecidos na técnica, incluindo, mas não limitando a ELISAs, Western blots, exibição de fago, etc.

[00133] Cálculos de homologia ou identidade de sequência (os termos são utilizados de modo trocável nessa invenção) entre sequências podem ser executados como se segue.

[00134] Para determinar a identidade percentual de duas sequências de aminoácido, ou de duas sequências de ácido nucleico, as sequências são alinhadas para propósitos de comparação ideal (por exemplo, os intervalos podem ser introduzidos em um ou ambos de uma primeira e uma segunda sequências de aminoácido ou ácido nucleico para o alinhamento ideal e sequências não homólogas podem ser desconsideradas para propósitos de comparação). Em uma modalidade exemplar, o comprimento de uma sequência de referência alinhada para propósitos de comparação é de pelo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% do comprimento da sequência de referência. Os resíduos de aminoácidos ou nucleotídeos nas posições de aminoácido ou posições de nucleotídeo correspondentes são então comparados. Quando uma

posição na primeira sequência é ocupada pelo mesmo resíduo de aminoácido ou nucleotídeo que a posição correspondente na segunda sequência, então as moléculas são idênticas nessa posição (como no presente documento utilizado "identidade" de aminoácido ou ácido nucleico é equivalente a amino a "homologia" de aminoácido ou ácido nucleico). A porcentagem de identidade entre as duas sequências é uma função do número de posições idênticas compartilhadas pelas sequências, levando em consideração o número de intervalos e o comprimento de cada intervalo, que precisam ser introduzidos para o alinhamento ideal das duas sequências.

[00135] A comparação de sequências e a determinação da identidade percentual entre duas sequências podem ser executadas utilizando um algoritmo matemático. Em uma modalidade, a porcentagem de identidade entre duas sequências de aminoácido é determinada utilizando o algoritmo de Needleman *et al*. ((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453) que foi incorporado no programa GAP no pacote de software GCG (disponível em www.gcg.com), utilizando uma matriz BLOSUM 62 ou uma matriz PAM250, e um peso de intervalo de 16, 14, 12, 10, 8, 6 ou 4 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6. Em ainda outra modalidade, a identidade percentual entre duas sequências de nucleotídeo é determinada utilizando o programa GAP no pacote de software GCG (disponível em www.gcg.com), utilizando uma matriz NWSgapdna CMP e um peso de intervalo de 40, 50, 60, 70 ou 80 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6. Um conjunto de parâmetros (e aquele que pode ser utilizado se o médico não tiver certeza sobre quais parâmetros devem ser aplicados para determinar se uma molécula está dentro de uma identidade de sequência ou limitação de homologia da invenção) é uma matriz de pontuação BLOSUM 62 com uma penalidade para intervalos de 12, uma penalidade da extensão de intervalo de 4 e uma penalidade de intervalo de mutação por mudança

da matriz de leitura de 5.

[00136] A porcentagem de identidade entre duas sequências de aminoácido ou nucleotídeo pode ser determinada utilizando o algoritmo de Meyers *et al*. ((1989) CABIOS 4:11-17) que foi incorporado ao programa ALIGN (versão 2.0), utilizando uma tabela de resíduos de peso PAM120, uma penalidade de comprimento de intervalo de 12 e uma penalidade de intervalo de 4.

[00137] Em certos aspectos, um anticorpo é um anticorpo monoclonal. Em outros aspectos, um anticorpo é um anticorpo policlonal. O termo "anticorpo monoclonal" refere-se a uma população de moléculas de anticorpo que contêm apenas uma espécie de um sítio de ligação ao antígeno capaz de imunorreagir com um epítopo particular de um antígeno. Uma composição de anticorpo monoclonal, portanto, tipicamente apresenta uma afinidade de ligação única para uma proteína particular com a qual imunorreage.

[00138] Em alguns aspectos, um anticorpo da invenção (um anticorpo monoclonal anti-ASC ou um fragmento de anticorpo de ligação a ASC) é humanizado, quimérico ou humano.

[00139] Em algumas modalidades, um anticorpo da invenção é um anticorpo humanizado.

[00140] "Anticorpo humanizado" conforme o termo é utilizado nesta invenção, refere-se a um anticorpo que foi projetado para compreender uma ou mais regiões estruturais humanas na região variável em conjunto com as regiões determinantes de complementaridade (CDRs) não humana (por exemplo, camundongo, rato ou hamster) da cadeia pesada e/ou leve. Em certas modalidades, um anticorpo humanizado compreende sequências que são inteiramente humanas, exceto para as regiões CDR. Em alguns casos, os resíduos da região estrutural (FR) de Fv da imunoglobulina humana são substituídos por resíduos não humanos correspondentes. Além disso, o anticorpo humanizado

pode compreender resíduos que não são encontrados nem na forma humana do anticorpo nem na CDR importada ou sequências estruturais, mas são incluídos para refinar e otimizar ainda mais o desempenho do anticorpo. Em geral, o anticorpo humanizado compreenderá substancialmente todos de pelo menos um, e tipicamente dois, domínios variáveis, em que todas ou substancialmente todas as regiões CDR correspondem àquelas de uma imunoglobulina não humana e todas ou substancialmente todas as regiões FR são aquelas de uma sequência consenso de imunoglobulina humana. A região FR pode ser modificada de qualquer maneira conhecida na técnica e/ou fornecida nessa invenção. As modificações podem conferir propriedades desejáveis tais como meia-vida aumentada e/ou expressão melhorada em células hospedeiras. Em uma modalidade, as regiãoões FR podem ser modificadas ou sibmetidas à mutação conforme descrito na US20150232557, que é no presente documento incorporado por referência. Outras formas de anticorpos humanizados podem ter um ou mais CDRs (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 ou CDR H3) que são alteradas em relação ao anticorpo original, que também são denominadas uma ou mais CDRs “derivadas de” uma ou mais CDRs do anticorpo original. O anticorpo humanizado de maneira ideal também compreenderá pelo menos uma parte de uma região ou domínio constante de imunoglobulina (Fc), tipicamente aquela de uma imunoglobulina humana.

[00141] Os anticorpos humanizados são tipicamente menos imunogênicos para seres humanos, em relação aos anticorpos não humanizados e, assim, oferecem benefícios terapêuticos em certas situações. Por exemplo, a região constante do anticorpo pode ser projetada de tal modo que seja imunologicamente inerte (por exemplo, não ativa a lise do complemento). Ver, por exemplo, a Publicação PCT No. PCT/GB99/01441; Pedido de Patente UK No. 9809951.8, cada um dos

quais é no presente documento incorporado por referência na sua totalidade. Aqueles versados na técnica estarão cientes dos anticorpos humanizados, e também estarão cientes das técnicas adequadas para sua geração. Ver, por exemplo, Hwang, W. Y. K., *et al*., Methods 36:35, 2005; Queen *et al*., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033, 1989; Jones *et al*., Nature, 321:522-25, 1986; Riechmann *et al*., Nature, 332:323-27, 1988; Verhoeyen *et al*., Science, 239:1534-36, 1988; Orlandi *et al*., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:3833-37, 1989; Pat. U.S. Nos. 5.225.539; 5.530.101; 5.585.089; 5.693.761; 5.693.762; 6.180.370; e Selick *et al*., WO 90/07861, cada um dos quais é no presente documento incorporado por referência na sua totalidade. Outros métodos de humanização de anticorpos que também podem ser utilizados são descritos por Daugherty *et al*., Nucl. Acids Res. 19:2471-2476, 1991, w nas Pat. U.S. Nos. 6.180.377; 6.054.297; 5.997.867; 5.866.692; 6.210.671; e 6.350.861; e na Publicação PCT No. WO 01/27160, cada um dos quais é no presente documento incorporado por referência na sua totalidade. Por exemplo, um anticorpo anti-ASC ou fragmento de ligação ao antígeno anti-ASC da invenção pode compreender uma sequência de aminoácido da região VH que compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8; e uma sequência de aminoácido da região VL que compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14; e uma ou mais sequências da região estrutural humana.

[00142] Em algumas modalidades, um anticorpo da invenção é um anticorpo quimérico e se liga especificamente ao ASC. Em alguns casos, o anticorpo quimérico anti-ASC reduz a atividade de ASC. "Anticorpo quimérico", como o termo é utilizado nesta invenção, refere-se a um anticorpo que foi projetado para compreender pelo menos uma região constante humana. Por exemplo, uma ou todas as regiões variá-

veis das cadeias leves e/ou uma ou todas as regiões variáveis das cadeias pesadas de um anticorpo de camundongo (por exemplo, um anticorpo monoclonal de camundongo) podem, cada uma, ser unida a um região constante humana, tal como, sem limitação, uma região constante humana de IgG1. Os anticorpos quiméricos são tipicamente menos imunogênicos para seres humanos, em relação aos anticorpos não quiméricos e, portanto, oferecem benefícios terapêuticos em certas situações. Aqueles versados na técnica estarão cientes de anticorpos quiméricos, e também estarão cientes das técnicas adequadas para sua geração. Ver, por exemplo, Cabilly *et al*., Patente U.S. No. 4.816.567; Shoemaker *et al*., Patente U.S. No. 4.978.775; Beavers *et al*., Patente U.S. No. 4.975.369; e Boss *et al*., Patente U.S. No. 4.816.397, cada uma das quais é incorporada nesta invenção por referência em sua totalidade. Por exemplo, um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno da invenção pode compreender uma região VH compreendendo a SEQ ID NO: 22; uma região VL compreendendo a SEQ ID NO: 31 e uma região constante humana.

[00143] Como no presente documento utilizado, os termos "ligação imunológica" e "propriedades de ligação imunológica" referem-se às interações não covalentes do tipo que ocorrem entre uma molécula de imunoglobulina (por exemplo, anticorpo) e um antígeno para o qual a imunoglobulina é específica. A força ou afinidade das interações de ligação imunológica pode ser expressa em termos da constante de dissociação (K_d) da interação, em que uma K_d menor representa uma afinidade maior. As propriedades de ligação imunológica de polipeptídeos selecionados podem ser quantificadas utilizando métodos bem conhecidos na técnica. Um tal método envolve a medição das taxas de formação e dissociação do complexo do sítio de ligação ao antígeno/antígeno, em que essas taxas dependem das concentrações dos parceiros complexos, da afinidade da interação e dos parâmetros ge-

ométricos que influenciam igualmente a taxa em ambas as direções. Assim, tanto a "constante do índice de associação" (K_{on}) quanto a "constante do índice de dissociação" (Koff) pode ser determinada pelo cálculo das concentrações e das taxas reais de associação e dissociação. Nature 361:186-87 (1993)). A relação K_{off}/K_{on} possibilita o cancelamento de todos os parâmetros não relacionados à afinidade, sendo igual à constante de dissociação K_d. (Ver, de uma forma geral, Davies *et al*. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473). Diz-se que um anticorpo da presente invenção se liga especificamente a um epítopo (por exemplo, fragmento ASC com aminoácido SEQ ID NO: 5) quando a constante de ligação de equilíbrio (K_d) é ≤10 μM, ≤ 10 nM, ≤ 10 nM e ≤ 100 pM a cerca de 1 pM, conforme medido por ensaios tais como ensaios de ligação de radioligando ou ensaios similares conhecidos daqueles versados na técnica.

[00144] Em certos aspectos, um anticorpo da invenção é monovalente ou bivalente e compreende uma cadeia simples ou dupla. Funcionalmente, a afinidade de ligação de um anticorpo pode estar dentro da faixa de 10^{-5} M a 10-^{12} M. Por exemplo, a afinidade de ligação de um anticorpo é de 10^{-6} M a 10^{-12} M, de 10^{-7} M a 10^{-12} M, de 10^{-8} M a 10^{-12} M, de 10^{-9} M a 10^{-12} M, de 10^{-5} M a 10^{-11} M, de 10^{-6} M a 10^{-11} M, de 10^{-7} M a 10^{-11} M, de 10^{-8} M a 10^{-11} M, de 10^{-9} M a 10^{-11} M, de 10^{-10} M a 10^{-11} M, de 10^{-5} M a 10^{-10} M, de 10^{-6} M a 10^{-10} M, de 10^{-7} M a 10^{-10} M, de 10^{-8} M a 10^{-10} M, de 10^{-9} M a 10^{-10} M, de 10^{-5} M a 10^{-9} M, de 10^{-6} M a 10^{-9} M, de 10^{-7} M a 10^{-9} M, de 10^{-8} M a 10^{-9} M, de 10^{-5} M a 10^{-8} M, de 10^{-6} M a 10^{-8} M, de 10^{-7} M a 10^{-8} M, de 10^{-5} M a 10^{-7} M, de 10^{-6} M a 10^{-7} M ou de 10^{-5} M a 10^{-6} M.

[00145] Métodos para determinar a especificidade e afinidade do anticorpo monoclonal através da inibição competitiva podem ser encontrados em Harlow, *et al*., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988, Colli-

gan *et al*., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993), e Muller, Meth. Enzymol. 92:589-601, 1983, cujas referências são inteiramente no presente documento incorporadas por referência.

[00146] Anticorpos anti-inflamassoma (por exemplo, Anti-ASC e anti-AIM2) da presente invenção podem ser rotineiramente produzidos de acordo com métodos tais como, mas não limitado a inoculação de um animal apropriado com o polipeptídeo ou um fragmento antigênico, estimulação *in vitro* de populações de linfócitos, métodos sintéticos, hibridomas e/ou células recombinantes que expressam ácido nucleico que codifica tais anticorpos anti-ASC ou anti-NLR1. A imunização de um animal utilizando ASC recombinante purificado ou fragmentos de peptídeo do mesmo, por exemplo, resíduos 178-193 (SEQ ID NO: 1) de ASC de rato (por exemplo, número de acesso BAC43754), SEQ ID NO: 2 de ASC humano ou resíduos 21-41 (SEQ ID NO: 5) de ASC humano (por exemplo, número de acesso NP_037390.2), é um exemplo de um método de preparação de anticorpos anti-ASC. Da mesma forma, a imunização de um animal utilizando NLRP1 recombinante purificado ou fragmentos de peptídeo do mesmo, por exemplo, resíduos MEE SQS KEE SNT EG-cys (SEQ ID NO: 4) de NALP1 de rato ou SEQ ID NO: 3 de NALP1 humano, é um exemplo de um método de preparação de anticorpos anti-NLRP1.

[00147] Anticorpos monoclonais que se ligam especificamente a ASC ou NLRP1 podem ser obtidos por métodos conhecidos daqueles versados na técnica. Ver, por exemplo, Kohler and Milstein, Nature 256:495-497, 1975; U.S. Pat. No. 4,376,110; Ausubel *et al*., eds., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1987, 1992); Harlow and Lane ANTIBODIES: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988; Colligan *et al*., eds., Current Protocols in

Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993), cujos conteúdos são inteiramente no presente documento incorporados por referência. Esses anticorpos podem ser de qualquer classe de imunoglobulina, incluindo IgG, IgM, IgE, IgA, GILD e qualquer subclasse das mesmas. Um hibridoma que produz um anticorpo monoclonal da presente invenção pode ser cultivado *in vitro, in situ* ou *in vivo*. Em uma modalidade, um hibridoma que produz um anticorpo monoclonal anti-ASC da presente invenção é o hibridoma ICCN1.OH. Em outra modalidade, um hibridoma que produz um anticorpo monoclonal anti-ASC da presente invenção produz anticorpos monoclonais compreendendo uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante do mesmo tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3. Em outra modalidade, um hibridoma que produz um anticorpo monoclonal anti-ASC da presente invenção produz anticorpos monoclonais compreendendo uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante dos mesmos tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3. Em ainda outra modalidade, um hibridoma que produz um anticorpo monoclonal anti-ASC da presente invenção produz anticorpos monoclonais compreendendo uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante deste tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3 e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante do mesmo tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3.

Administração das Composições

[00148] As composições da invenção podem ser administradas a mamíferos (por exemplo, roedores, seres humanos) em qualquer formulação adequada. Por exemplo, os anticorpos anti-ASC podem ser formulados em veículos ou diluentes farmaceuticamente aceitáveis, tais como soro fisiológico ou uma solução salina tamponada. Os veículos e diluentes adequados podem ser selecionados com base no modo e na via de administração e na prática farmacêutica padrão. Uma descrição de veículos e diluentes farmaceuticamente aceitáveis exemplares, assim como formulações farmacêuticas, pode ser encontrada em Remington's Pharmaceutical Sciences, um texto padrão neste campo, e em USP/NF. Outras substâncias podem ser adicionadas às composições para estabilizar e/ou conservar as composições.

[00149] As composições da invenção podem ser administradas em mamíferos por qualquer técnica convencional. Tipicamente, tal administração será por inalação ou parenteral (por exemplo, introdução intravenosa, subcutânea, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal ou intratecal). As composições também podem ser administradas diretamente a um local alvo, por exemplo, através da liberação cirúrgica a um local alvo interno ou externo, ou por cateter a um local acessível por um vaso sanguíneo. As composições podem ser administradas em um único bolo, múltiplas injeções ou através da infusão contínua (por exemplo, por via intravenosa, por diálise peritoneal, bomba de infusão). Para administração parenteral, as composições podem ser formuladas em uma forma apirogênica esterilizada.

Doses Eficazes

[00150] As composições descritas acima podem ser administradas a um mamífero (por exemplo, um rato, humano) em uma quantidade eficaz, isto é, uma quantidade capaz de produzir um resultado desejável em um mamífero tratado (por exemplo, redução da inflamação no CNS de um mamífero submetido a uma lesão traumática no CNS ou acidente vascular cerebral ou tendo uma doença autoimune, autoinflamatória, metabólica, neurodegenerativa ou do CNS). Essa quantidade terapeuticamente eficaz pode ser determinada como descrito abaixo. A quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição compreendendo um agente conforme fornecido nesta invenção (por exemplo, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo, como fornecido nesta invenção, tal como, por exemplo, IC 100) pode geralmente ser cerca de 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175 ou 200 mg/kg de peso corporal do paciente. A quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição compreendendo um agente conforme no presente documento fornecido (por exemplo, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo, tal como no presente documento fornecido, tal como, por exemplo, IC 100) pode geralmente ser de cerca de 0,001 a cerca de 200 mg/kg de peso corporal do paciente. A quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição compreendendo um agente conforme fornecido nesta invenção (por exemplo, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo como no presente documento fornecido tal como, por exemplo, IC 100) pode de uma forma geral ser de cerca de 0,001 mg/kg a cerca de 0,01 mg/kg, de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 0,1 mg/kg, de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 1 mg/kg, de cerca de 1 mg/kg a cerca de 10 mg/kg, de cerca de 10 mg/kg a cerca de 25 mg/kg, de cerca de 25 mg/kg a cerca de 50 mg/kg, de cerca de 50 mg/kg a cerca de 75 mg/kg, de cerca de 75

mg/kg a cerca de 100 mg/kg, de cerca de 100 mg/kg a cerca de 125 mg/kg, de cerca de 125 mg/kg a cerca de 150 mg/kg, de cerca de 150 mg/kg a cerca de 175 mg/kg ou de cerca de 175 mg/kg a cerca de 200 mg/kg do peso corporal do indivíduo. A composição compreendendo um agente conforme fornecido nesta invenção (por exemplo, um anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo derivado do mesmo como no presente documento fornecido tal como, por exemplo, IC 100) pode ser administrada em doses únicas ou múltiplas.

[00151] A toxicidade e a eficácia terapêutica das composições utilizadas nos métodos da invenção podem ser determinadas por procedimentos farmacêuticos padrão, utilizando células em cultura ou animais experimentais para determinar a LD_{50} (a dose letal para 50% da população). A relação de dose entre os efeitos tóxicos e terapêuticos é o índice terapêutico e pode ser expresso como a relação de LD_{50}/ED_{50}. Em alguns casos, as composições fornecidas nesta invenção apresentam grandes índices terapêuticos. Embora aqueles que apresentam efeitos colaterais tóxicos possam ser utilizados, deve-se tomar cuidado ao projetar um sistema de aplicação que minimize o dano potencial de tais efeitos colaterais. Em alguns casos, a dosagem de composições no presente documento fornecidas encontra-se dentro de uma faixa que inclui uma ED_{50} com pouca ou nenhuma toxicidade. A dosagem pode variar dentro desta faixa dependendo da forma de dosagem usada e da via de administração utilizada.

[00152] Como é bem conhecida nas técnicas médicas e veterinárias, a dosagem para qualquer indivíduo depende de muitos fatores, incluindo o tamanho do indivíduo, área de superfície corporal, idade, composição particular a ser administrada, tempo e via de administração, saúde geral, e outros fármacos sendo administrados concomitantemente.

EXEMPLOS

[00153] A presente invenção é ainda ilustrada pelos seguintes exemplos específicos. Os exemplos são fornecidos apenas para ilustração e não devem ser interpretados como limitativos do escopo da invenção de qualquer forma.

Exemplo 1: Papel da sinalização de inflamassoma mediada por EV em ALI após TBI e efeitos de sua neutralização

[00154] A disfunção pulmonar frequentemente se apresenta como uma complicação de Lesão Cerebral Traumática Grave (1). Aproximadamente 20 a 25 por cento dos indivíduos com TBI desenvolvem lesão pulmonar aguda (ALI) (2), mas os mecanismos que atuam como mediador da patologia da ALI induzida por TBI permanecem mal definidos. A literatura precedenteprecedente apoiou a ideia de que a disfunção pulmonar após o TBI se deve à resposta simpática ao aumento da pressão intracraniana levando à disfunção cardiopulmonar (42). Estudos mais recentes, no entanto, mostraram que uma resposta inflamatória sistêmica também desempenha um papel fundamental na lesão pulmonar induzida por TBI (43). Especificamente, a via do receptor de ligante HMGB1-RAGE serve como mecanismo de transdução central para a disfunção pulmonar após a TBI (8). Além disso, o HMGB1 induz a ativação do inflamassoma AIM2 (37). Além do mais, a literatura precedenteprecedente descreve que os patógenos secretam EV que carregam DAMPs, tais como o HMGB1, e desencadeiam a inflamação (Buzas *et al*., 2014). Vários estudos têm mostrado que a barreira hematoencefálica (BBB) é permeável após a TBI tão cedo quanto 3 a 6 horas após a lesão, resultando em dano à barreira protetora entre o cérebro e o compartimento intravascular e leva ao vazamento de proteínas e fluido (44). A ruptura da BBB após a lesão resulta na secreção de mediadores inflamatórios, tais como DAMPs, que podem promover a inflamação do cérebro e danificar órgãos distais (5). Vários mediadores inflamatórios podem atuar como marcadores claros da lesão cere-

bral, porém sua validade não é amplamente aceita (45). Além disso, não há atualmente nenhum tratamento ou biomarcador clinicamente aprovado para ALI induzida por TBI. Recentemente, EV se tornou uma área de interesse na pesquisa de biomarcadores para vários tipos de doenças, incluindo a lesão pulmonar (46) e a TBI (47). Já foi demonstrado que na EV isolada do líquido cefalorraquidiano de paciente com TBI, existe um aumento das proteínas do inflamassoma quando comparado com as amostras controle (14). Neste exemplo, a contribuição da sinalização de inflamassoma mediada por EV na etiologia de ALI induzida por TBI foi examinada.

Materiais e métodos

Animais e Lesão Cerebral Traumática

[00155] Todos os procedimentos com animais foram aprovados pelo Institutional Animal Care and Use Committee of the University of Miami Miller School of Medicine (Animal Welfare Assurance A3224-01) e foram realizados de acordo com o NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. As diretrizes ARRIVE foram seguidas ao conduzir este estudo. Todos os camundongos C57/BL6 tinham de 8 a 12 semanas e 24 a 32 gramas. Os camundongos foram randomizados prospectivamente para grupos experimentais (smulação, 4 h, 24) para TBI, grupos experimentais (passível, simulação-solução salina, não tratado, enoxaparina, anti-ASC) para transferência adotiva e tratamento. Para grupos experimentais de TBI, animais simulados foram submetidos ao procedimento cirúrgico, mas não foram feridos. Para estudos de tratamento de transferência adotiva, o grupo simulação-solução salina foi submetido a procedimentos cirúrgicos e recebeu solução salina como veículo de tratamento. Animais passíveis não foram submetidos a procedimentos cirúrgicos. Um tamanho de amostra de 5 a 6 foi utilizado para cada grupo com base na análise de energia (utilizando análise de energia G*, com um tamanho de efeito F = 0,85, α definido como 0,05)

e dados históricos de 49, 50. Todos os camundongos foram alojados na instalação de animais livres de antígenos virais (VAF) no Lois Pope Life Center na University of Miami em ciclos de luz/escuridão de 12 horas e alimentos e água foram fornecidos *ad libitum*. A instalação realiza procedimentos de manejo duas vezes por semana e verifica as condições dos animais diariamente. Os animais foram observados no pós-operatório, onde foram mantidos em almofada térmica e a temperatura corporal controlada com sonda retal onde foi mantida a 37 ºC, em nossa sala de cirurgia e posteriormente transferidos para o alojamento dos animais.

[00156] Antes da cirurgia, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina (intraperitoneal, i.p.). Os animais anestesiados foram então colocados em uma almofada térmica para garantir uma temperatura corporal de 37 ºC. A TBI foi executada utilizando um modelo de impacto cortical controlado (CCI). Uma craniotomia de 5 mm foi feita no córtex direito (-2,5 mm posterior, 2,0 mm lateral de Bregma). A lesão foi induzida utilizando o dispositivo ECCI-6.3 (Custom Design & Fabrication, Richmond, VA, USA) com um reservatório de 3 mm em 6 m/s de velocidade, 0,8 mm de profundidade e 150 ms de duração do impacto (15). Seguindo esses procedimentos, os animais foram devolvidos às suas gaiolas e receberam comida e água. Os animais foram sacrificados 4 horas e 24 horas após a TBI, como descrito. Os animais simulados foram anestesiados e submetidos à mesma incisão pré-cirúrgica que os animais feridos, mas não foram submetidos a uma craniotomia ou contusão.

Coleta de tecido

[00157] Todos os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina, antes da perfusão. Os animais foram então submetidos à perfusão traqueal. Os pulmões foram infundidos com 4% de paraformaldeído (PFA) utilizando um cateter traqueal em 20 cm H2O e depois fixa-

dos em 4% de PFA durante a noite a 4 ºC. Os tecidos pulmonares fixados foram incorporados em parafina e seções de 5 µm foram processadas (16). O tecido pulmonar direito foi coletado para isolamento de proteínas e análises moleculares. Os animais foram então submetidos à decapitação e o tecido cortical direito foi coletado para isolamento de proteínas e análises moleculares.

Ensaio de isolamento de piroptossoma

[00158] Os lisados de tecido pulmonar de camundongos foram filtrados através de uma membrana de difluoreto de polivinilideno de baixa ligação (PVDF) de 5 µm (Millipore). Após a filtração, o sobrenadante foi centrifugado em 2.700 x g durante 8 minutos. O pélete foi colocado novamente em suspensão em 40 µl de tampão de ácido 3[(3-colamidopropil) dimetilamônio]-propanossulfônico (CHAPS) (20 mmol/L de HEPES-KOH, pH 7,5, 5 mmol/L de MgCl2, 0,5 mmol/L de EGTA, 0,1 mmol/L de fluoreto de fenilmetilsulfonila, coquetel de inibidor de protease e CHAPS a 0,1%). O piroptossoma foi granulado por centrifugação em 2.700 x g durante 8 minutos. O pélete foi então colocado novamente em suspensão e incubado em 27,8 µl de tampão CHAPS com 2,2 µl de substrato de dissuccinimidila (9) durante 30 minutos na temperatura ambiente para reticular os dímeros ASC. Por último, uma quantidade igual de tampão Laemmli 2x foi adicionada e as proteínas foram analisadas por imunoblotting utilizando anticorpos comercialmente disponíveis para ASC e Gasdermin D (GSD).

Extração Nuclear e Citoplasmática

[00159] As frações nucleares e citoplasmáticas foram extraídas utilizando os NE-PER Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents (Thermo Scientific) de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, as amostras de tecido pulmonar de camundongos foram cortadas em pedaços de 20 a 100 mg e centrifugadas em 500 x g durante 5 minutos. Pedaços de tecido foram homogeneizados com o

Cytoplasmic Extraction Reagent e centrifugados em 16.000 x g durante 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante (extrato celular) foi removido e o pélete foi centrifugado com Nuclear Extraction Reagent (Thermo Scientific) em 16.000 x g durante 10 minutos. Esse sobrenadante correspondia à fração nuclear, que foi removida e armazenada a -80 ºC.

Immunoblotting

[00160] Amostras de tecido pulmonar e cerebral foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 ºC. Seções de 2 mm do pulmão inferior direito e tecido cortical direito foram homogeneizadas em tampão de extração contendo coquetel de protease e inibidor de fosfatase (Sigma, St Louis, MO, USA) e separadas em géis pré-moldados Tris-TGX Criterion 4-20% (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) como descrito em de Rivero Vaccari *et al*. 2015 (13) utilizando anticorpos para caspase-1 (Novus Biologicals), ASC (Santa Cruz), IL-1 β (Cell Signaling), IL-18 (Abcam) AIM2 (Santa Cruz) e HMGB1 (Millipore). A quantificação da densidade de faixa foi executada utilizando Image Lab e todos os dados foram normalizados em β-actina.

Imunohistoquímica

[00161] As seções de tecido foram desparafinizadas em xileno e, em seguida, reidratadas utilizando etanol e solução salina tamponada Tris. Procedimentos imunohistoquímicos foram então realizados para coloração dupla conforme descrito precedenteprecedentemente (16). As seções foram incubadas durante a noite a 4 ºC com anticorpos contra Caspase-1 e ASC (Millipore), AIM2 (Santa Cruz), HMGB1 (Millipore) e SPC (Millipore). Seções de pulmão imunocoradas de camundongos simulados 4 horas e 24 horas foram examinadas com um microscópio confocal de varredura a laser Zeiss (Zeiss, Inc., Thornwood, NY, USA). As secções pulmonares foram analisadas por indivíduos que foram cegos para os grupos.

Isolamento de EV

[00162] As EV foram isoladas do soro de camundongos prejudicados com TBI e camundongos com lesão utilizando a solução de Total Exosome Isolation de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen). Resumidamente, 100 µl de cada amostra foram centrifugados em 2.000 x g durante 30 minutos. O sobrenadante foi então incubado com 20 µl de reagente Total Exosome Isolation (TEI) durante 30 minutos a 4 ^{o}C seguido por centrifugação em 10.000 x g durante 10 minutos na temperatura ambiente. Os sobrenadantes foram descartados e o pélete foi colocado novamente em suspensão em 100 µl de PBS. As EV foram caracterizadas pela expressão de CD81 e por análise de rastreamento Nanosight (FIG. 6).

Transferência Adotiva de EV

[00163] EVs derivadas de soro de camundongos C57BL-6 com TBI e simulados foram injetadas em camundongos C57BL-6 igênuos através da veia jugular em uma dose de 1,0 x 10^{10} partículas por grama/peso corporal 48. A contagem de partículas foi medida por análise de Nanosight Tracking e as amostras foram diluídas conforme for. Antes da cirurgia, os animais foram anestesiados com cetamina e xileno. Uma incisão de 1 a 2 cm foi feita entre a mandíbula e a clavícula. A veia jugular foi elevada e amarrada, seguida da colocação do cateter. As EV derivadas do soro foram transferidas e os tecidos do pulmão e do cérebro foram coletados 24 horas após a injeção para análise (n = 5).

Tratamento com Enoxaparina e Anti-ASC

[00164] As EVs derivadas de soro de camundongos com TBI foram injetadas em camundongos C57-BL6 passíveis através de uma injeção na veia jugular. Uma hora depois, Enoxaparina (3 mg/kg) (n = 4) e Anti-ASC (IC 100; 5 mg/kg) (n = 4) foram administrados aos animais receptores. Os seguintes grupos foram utilizados: 1) o grupo passível

não recebeu tratamento, 2) o grupo simulado de solução salina foi utilizado como controle negativo e foi submetido à injeção na veia jugular apenas de solução salina, 3) o grupo não tratado recebeu EV de camundongos com TBI sem qualquer tratamento e foi utilizado como controle positivo, 4) o grupo ENOX recebeu EV de camundongos com TBI e Enoxaparina, e 5) o grupo Anti-ASC recebeu EV de camundongos com TBI e Anti-ASC. A ordem de tratamento foi randomizada. Os tecidos do pulmão e do cérebro foram coletados 24 horas após a injeção para análise. Deve-se observar que o anticorpo anti-ASC utilizado nas experiências de tratamento foi um anticorpo monoclonal humanizado contra ASC e reconhece ASC de murino, ser humano e suíno.

Histologia e Pontuação de Lesão Pulmonar

[00165] As seções de tecido pulmonar foram coradas por um método padrão de hematoxilina e eosina para histologia, morfometria e pontuação ALI. As seções pulmonares foram avaliadas por um patologista cegado utilizando o Lung Injury Scoring System from the American Thoracic Society Workshop Report (17). Vinte campos aleatórios de alta potência foram escolhidos para pontuação. Os critérios para pontuação ALI foram baseados no número de neutrófilos no espaço alveolar, espaço intersticial, membranas hialinas, detritos protéicos que carregam os espaços aéreos e espessamento do septo alveolar. Com base nesses critérios, uma pontuação entre 0 (sem lesão) e 1 (lesão grave) foi atribuída.

Análise Estatística

[00166] Os dados foram analisados utilizando um teste T de Student para dois grupos e uma ANOVA unidirecional seguida por testes de comparação múltipla de Tukey (GraphPad Prism versão 7.0) para dois ou mais grupos. O teste D'Agostino-Pearson foi utilizado para testar a normalidade. Os dados são expressos como média +/- SEM. Os valores de p de significância utilizados foram * $p < 0,05$.

Resultados

A TBI grave aumenta as proteínas de Inflammasoma AIM2 e a expressão de HMGB1 no cérebro de camundongos

[00167] Níveis excessivos das citocinas pró-inflamatórias IL-1β e IL-18, e proteínas do inflamassoma estão associados a danos secundários após lesão cerebral por percussão de fluido (18). Para determinar se a CCI grave induziu o processamento de citocinas pró-inflamatórias e as alterações nos níveis de proteínas do inflamassoma, os lisados corticais foram analisados; no entanto, há pesquisas limitadas sobre a ativação do inflamassoma na TBI grave. Neste exemplo, após o CCI grave, os lisados corticais foram examinados com relação aos níveis de caspase-1 (Fig 1A, B) ($p < 0,001$), ASC (Fig 1A, C) ($p = 0,003$), IL-18 (Fig 1 A, D) ($p = 0,0042$), AIM2 (Fig. 1A, F) ($p = 0,0197$) e IL-1β (Fig 1 A, G) ($p = 0,0141$) às 4 e 24 horas após as lesões. Os níveis de caspase-1, ASC, AIM2 e IL-1β atingiram o pico 4 horas após o CCI e diminuíram em 24 horas. O curso de tempo para a maturação das citocinas inflamatórias diferiu ligeiramente, mas atingiu o pico 24 horas após a TBI. Visto que outros mostraram um papel para o inflamassoma DAMP HMGB1 ativando o inflamassoma AIM2, os níveis dessas proteínas também foram determinados em lisados corticais. Conforme mostrado nas FIGs. 1A, 1E, o CCI induziu um aumento significativo nos níveis de HMGB1 (FIG. 1A, 1E) ($p = 0,0121$) em 4 e 24 horas após a lesão. Estes dados indicam que após o CCI grave em camundongos, os níveis das proteínas do inflamassoma AIM2 foram significativamente elevados no córtex após a lesão.

TBI grave aumenta a expressão da proteína do inflamassoma AIM2 e HMGB1 nos pulmões de camundongos

[00168] Para determinar se o CCI induziu a ativação do inflamassoma nos pulmões, uma análise de immunoblot de lisados de pulmão foi executada para caspase-1 (Fig 1 H, I) ($p = 0,0026$), ASC (Fig 1 H,

J) (p = 0,0427), IL-18 (Fig 1H, K) (p = 0,0025), IL-1β (Fig 1 H, N) (p = 0,0012) e AIM2 (Fig 1 H, M) (p < 0,001) e NLRP3 (p = 0,0047) (Figura 1 Suplementar). Níveis aumentados de caspase-1, ASC, IL-18 e AIM2 aumentaram significativamente em 4 horas e 24 horas após a lesão, em comparação com o controle simulado. No entanto, o curso de tempo do aumento na expressão da proteína diferiu ligeiramente do observado no cérebro em que atingiu o pico 24 horas após o CCI. Uma vez que o eixo HMGB1-RAGE desempenha um papel no mecanismo pelo qual a TBI induz disfunção pulmonar (8), os lisados de pulmão foram analisados quanto aos níveis de expressão da proteína HMGB1. As FIGs. 1H, 1L (p = 0,0158) mostram que a expressão de HMGB1 aumentou em 4 e 24 horas após a TBI, indicando que o inflamassoma AIM2 e HMGB1 desempenham um papel na resposta inflamatória nos pulmões pós-TBI.

TBI induz piroptose nos pulmões de camundongos

[00169] Como mostrado precedenteprecedentemente, a ativação do inflamassoma AIM2 em neurônios corticais leva à morte celular piroptótica (19). Para investigar se a TBI resulta em piroptose no tecido pulmonar de camundongos, o piroptossoma no tecido pulmonar foi isolado após a TBI. Animais com TBI, sacrificados 4 horas após a lesão, apresentaram evidências de oligomerização ASC em comparação com animais simulados (FIG. 4A). Dímeros e trímeros ASC foram observados em animais com TBI (50, 75 kDA respectivamente). Estes resultados foram indicativos da formação de piroptossoma, que pode ser caracterizado pela montagem supramolecular de oligômeros ASC. Além disso, a gasdermina D (GSDMD), que é clivada após a ativação da caspase-1 e desencadeia a piroptose e a liberação de IL-1β (20), foi significativamente aumentada nos pulmões de animais com TBI em comparação com a simulação (FIG. 4B e 4C) (p = 0,0001). Essas descobertas indicaram que a piroptose contribui para a morte celular no

tecido pulmonar após a TBI.

A TBI aumenta a imunorreatividade das proteínas do inflamassoma em células epiteliais alveolares do tipo II

[00170] A TBI pode levar a vazamento capilar, resultando em aumento da permeabilidade vascular e danos às células epiteliais alveolares especializadas, chamadas de pneumócitos tipo II (5). Para examinar os efeitos celulares da TBI na expressão do inflamassoma nos pulmões após a lesão, a análise imuno-histoquímica foi executada em seções de pulmão de animais com lesão simulada, 4 horas e 24 horas. As células epiteliais alveolares do tipo II são conhecidas de serem o principal tipo de células pulmonares lesadas na ALI (17). As seções de pulmão foram coradas com anticorpos contra AIM2, caspase-1 e ASC (verde) e cocoradas com proteína C Pro-surfactante (Pro-SPC, vermelho), um marcador de células epiteliais tipo II e coloração nuclear DAPI (azul). Como mostrado na FIG. 2A-2C, caspase-1 ativa (FIG. 2A), ASC (FIG. 2B), assim como AIM2 (FIG. 2C) estão presentes nas células SPC-positivas (seta). A imunorreatividade dessas proteínas do inflamassoma aumentou após a TBI. Essas descobertas indicam que as proteínas do inflamassoma são expressas em células epiteliais alveolares do tipo II e que a TBI resulta em aumento da imunorreatividade nessas células.

A TBI aumenta a expressão de HMGB1 nuclear e citoplasmática

[00171] A fim de determinar a distribuição celular de HMGB1 em células pulmonares após a TBI, frações nucleares e citoplasmáticas de homogenatos de pulmão foram isoladas (FIG. 3A, 3C) ($p = 0,0337$). O immunoblotting indicou que ambas as frações tiveram aumentos significativos na expressão de HMGB1 em 4 horas pós-TBI (FIG. 3B, 3D) ($p = 0,0345$). A análise imuno-histoquímica de HMGB1 também foi executada para determinar as alterações na imunorreatividade em seções de pulmão após a TBI. As seções foram cocoradas para HMGB1 (ver-

de) e SPC (vermelho) e coloração nuclear DAPI (azul). A imunorreatividade de HMGB1 foi aumentada em 4 horas e 24 horas quando comparada à simulação. A imunorreatividade fraca de HMGB1 foi observada nas células SPC-positivas (seta) (FIG. 3E); portanto, sugerindo que as alterações de HMGB1 no tecido pulmonar lesado podem ser citoplasmáticas.

TBI induz mudanças na morfologia pulmonar e induz ALI

[00172] A ALI pode ser caracterizada por processos inflamatórios, que levam ao edema alveolar e intersticial, assim como à infiltração de células inflamatórias no espaço alveolar (23). A análise histopatológica do tecido pulmonar (FIG. 5A) indica que a TBI grave provoca mudanças substanciais na arquitetura e morfologia do pulmão em 4 e 24 horas após a lesão. Os animais simulados apresentaram uma morfologia alveolar normal, enquanto os animais feridos apresentaram alterações agudas no edema alveolar, mas diminuíram ligeiramente 24 horas após a lesão (setas longas). Além disso, houve evidência de infiltração de neutrófilos (pontas de setas) e alterações na morfologia das membranas capilares alveolares (*) em ambos os momentos. Os animais lesionados apresentaram sinais de edema intersticial, que foi mais pronunciado 4 horas após a lesão, mas ainda era evidente 24 horas após a lesão (setas curtas). Por último, os animais feridos também apresentaram evidências de espessamento da área intersticial e do septo alveolar (libra, #).

[00173] Para confirmar que lesão grave induz ALI, os cortes histológicos foram analisados utilizando o sistema de pontuação ALI definido pela American Thoracic Society (17). Esse sistema é baseado em evidências de infiltração de neutrófilos nos espaços alveolar e intersticial, formação da membrana hialina, detritos protéicos que carregam os espaços aéreos e espessamento do septo alveolar. (17). Estas características foram significativamente elevadas em animais feridos e as

pontuações de ALI foram mais elevadas em geral em animais com TBI em comparação com a simulação (FIG. 5B) (p = 0,0017).

Tratamento com enoxaparina e anticorpo anti-ASC reduz significativamente a expressão do inflamassoma e ALI após a transferência adotiva de EV de camundongos com TBI

[00174] A fim de fornecer evidências de que as EV e sua carga que pode ser liberada na circulação após a TBI podem induzir a ativação de inflamassoma no pulmão, um experimento de transferência adotiva clássico foi executado utilizando EV derivadas de soro de camundongos de CCI grave. As preparações de EV foram validadas utilizando Western Blot para o marcador de EV CD81 (FIG. 6). Os controles receberam EV isoladas de animais simulados ou passíveis. Como mostrado na FIG. 7A-7F, caspase-1 ativa (FIG. 7A, 7B), ASC (FIG. 7A, 7C), IL-18 (FIG. 7A, 7D), AIM2 (FIG. 7A, 7E) e HMGB1 (FIG. 7A, 7F) foram significativamente elevados nos pulmões de animais que receberam EV de animais feridos com TBI quando comparados aos pulmões de animais que receberam EV de camundongos não feridos ou passíveis ou de camundongos passíveis. Além disso, a infiltração de células inflamatórias (setas) foi aparente em pulmões tratados com EV de camundongos com TBI (FIG. 7G). Por último, a pontuação de ALI também foi significativamente maior em animais que receberam EV de camundongos feridos (FIG. 7G). Esses estudos forneceram evidências de um eixo neural-respiratório-inflamassoma no qual as EV liberadas na circulação após a TBI ativam o inflamassoma nas células-alvo do pulmão, contribuindo para a patogênese da ALI.

[00175] Logo depois, o bloqueio da captação de exossomo foi tentado através do tratamento com Enoxaparina ou um anticorpo monoclonal contra ASC (IC 100) após a transferência adotiva de EV de camundongos lesionados a passíveis. Os animais de controle negativo receberam solução salina e os animais de controle positivo não rece-

beram tratamento. Como mostrado na FIG. 8A-8F, Caspase-1 (FIG. 8A, 8B), ASC (FIG. 8A, 8C), IL-1β (FIG. 8A, 8D), AIM2 (FIG. 8A, 8E), e HMGB1 (FIG. 8A, 8F) foram significativamente reduzidos (p = < 0,0001) em comparação com o grupo não tratado (controle positivo) após o tratamento com Enoxaparina ou um anticorpo anti-ASC monoclonal humanizado (por exemplo, anticorpo IC 100). Além disso, as seções de pulmão coradas com H&E apresentaram significativamente menos infiltração de neutrófilos no espaço alveolar e intersticial, assim como nenhum sinal de espessamento septal (FIG. 9A-D). As pontuações ALI para animais tratados com Enoxaparina e anticorpo anti-ASC (IC 100) foram significativamente mais baixas em comparação com o grupo não tratado (FIG. 9E) (p = < 0,0001). Assim, as EV liberadas na circulação após a TBI desempenham um papel na ativação do inflamassoma nas células pulmonares, levando à ALI.

Conclusões

[00176] A TBI pode estar associada com taxas mais elevadas de certas complicações médicas, especialmente disfunção pulmonar e do sistema nervoso central. Neste exemplo, a TBI grave mostrou aumentar a expressão de HMGB1 e inflamassoma (por exemplo, expressão de AIM2, caspase-1 e ASC) no tecido cortical e pulmonar e induziu alterações na morfologia pulmonar consistente com a ALI (por exemplo, infiltração de neutrófilos no espaço alveolar e intersticial, espessamento septal alveolar e edema e hemorragia alveolar) e introduz a idéia de um Eixo Inflamatório Respiratório Neural. É importante ressaltar que a TBI resultou em piroptose no tecido pulmonar (por exemplo, presença de clivagem de GSDMD) e aumento da expressão de proteínas do inflamassoma em células epiteliais alveolares do Tipo II. Adicionalmente, a transferência adotiva de EV de camundongos com TBI ativou o inflamassoma e induziu a ALI, indicando que a lesão cerebral induz a liberação de EV contendo uma carga de proteínas do infla-

massoma que são então transportadas à resultante em ALI. Além do mais, foi demonstrado que ao inibir a captação de EV (Enoxaparina) e a ativação do inflamassoma (tratamento com anticorpo anti-ASC (IC 100)), ocorre uma redução na expressão da proteína do inflamassoma e no desenvolvimento de ALI.

[00177] Em resumo, este exemplo mostrou que a sinalização de inflamassoma AIM2 desempenha um papel central no patomecanismo de lesão pulmonar após a TBI e demonstra um mecanismo de ALI induzida por TBI envolvendo a sinalização de inflamassoma mediada por EV. Esses dados forneceram evidências de que a sinalização do inflamassoma mediada por EV pode desempenhar um papel central envolvendo um Eixo Neuronal-Respiratório-Inflamatório. Portanto, direcionar este eixo com anticorpos contra proteínas do inflamassoma ou fármacos que bloqueiam a captação de EV pode fornecer uma abordagem terapêutica na ALI induzida por neurotrauma em todas as áreas da medicina intensiva. À luz destes resultados, as estratégias terapêuticas descritas podem ser úteis para o tratamento de doenças inflamatórias do pulmão em geral.

Incorporação por referência

[00178] As seguintes referências são incorporadas por referência na sua totalidade para todos os propósitos.

1. Pfeifer R*, et al.* (2015) Development of a standardized trauma-related lung injury model. *J Surg Res* 196(2):388-394.

2. Summers CR, Ivins B, & Schwab KA (2009) Traumatic brain injury in the United States: an epidemiologic overview. *The Mount Sinai journal of medicine, New York* 76(2):105-110.

3. Erickson SE*, et al.* (2009) Recent trends in acute lung injury mortality: 1996-2005. *Crit Care Med* 37(5):1574-1579.

4. Nicolls MR & Laubach VE (2014) Traumatic brain injury: lungs in a RAGE. *Sci Transl Med* 6(252):252fs234.

5. Rincon F*, et al.* (2012) Impact of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after traumatic brain injury in the United States. *Neurosurgery* 71(4):795-803.

6. Andersson U & Rauvala H (2011) Introduction: HMGB1 in inflammation and innate immunity. *J Intern Med* 270(4):296-300.

7. Weber DJ*, et al.* (2014) The HMGB1-RAGE axis mediates traumatic brain injury-induced pulmonary dysfunction in lung transplantation. *Sci Transl Med* 6(252):252ra124.

8. Lu B*, et al.* (2012) Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature* 488(7413):670-674.

9. de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, & Keane RW (2014) Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 34(3):369-375.

10. Ware LB & Matthay MA (2000) The Acute Respiratory Distress Syndrome. *New England Journal of Medicine* 342(18):1334-1349.

11. Yanez-Mo M*, et al.* (2015) Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 4:27066.

12. Qu Y, Franchi L, Nunez G, & Dubyak GR (2007) Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *J Immunol* 179(3):1913-1925.

13. de Rivero Vaccari JP*, et al.* (2015) Exosome-mediated inflammasome signaling after central nervous system injury. *J Neurochem*. Jan;136 Suppl 1:39-48. doi: 10.1111/jnc.13036.

14. Atkins CM, Cepero ML, Kang Y, Liebl DJ, & Dietrich WD (2013) Effects of early rolipram treatment on histopathological outcome after controlled cortical impact injury in mice. *Neurosci Lett* 532:1-6.

15. Wu S*, et al.* (2010) Conditional overexpression of connective tissue growth factor disrupts postnatal lung development. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 42(5):552-563.

16. Matute-Bello G*, et al.* (2011) An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 44(5):725-738.

17. de Rivero Vaccari JP*, et al.* (2009) Therapeutic neutralization of the NLRP1 inflammasome reduces the innate immune response and improves histopathology after traumatic brain injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 29(7):1251-1261.

18. Adamczak SE*, et al.* (2014) Pyroptotic neuronal cell death mediated by the AIM2 inflammasome. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 34(4):621-629.

19. Liu X*, et al.* (2016) Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature* 535(7610):153-158.

20. Dolinay T*, et al.* (2012) Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 185(11):1225-1234.

21. Muller MC*, et al.* (2014) Contribution of damage-associated molecular patterns to transfusion-related acute lung injury in cardiac surgery. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue* 12(3):368-375.

22. Ragaller M & Richter T (2010) Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Journal of emergencies, trauma, and shock* 3(1):43-51.

23. Lee K & Rincon F (2012) Pulmonary complications in patients with severe brain injury. *Critical care research and practice* 2012:207247.

24. Yasui H, Donahue DL, Walsh M, Castellino FJ, & Ploplis VA (2016) Early coagulation events induce acute lung injury in a rat model of blunt traumatic brain injury. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 311(1):L74-86.

25. Hendrickson CM*, et al.* (2016) The acute respiratory distress syndrome following isolated severe traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg*.

26. Cross LJ & Matthay MA (2011) Biomarkers in acute lung injury: insights into the pathogenesis of acute lung injury. *Crit Care Clin* 27(2):355-377.

27. Butt Y, Kurdowska A, & Allen TC (2016) Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review. *Archives of pathology & laboratory medicine* 140(4):345-350.

28. Luh SP & Chiang CH (2007) Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies. *Journal of Zhejiang University. Science. B* 8(1):60-69.

29. Matute-Bello G & Martin TR (2003) Science review: apoptosis in acute lung injury. *Critical care* 7(5):355-358.

30. Miao EA, Rajan JV, & Aderem A (2011) Caspase-1-induced pyroptotic cell death. *Immunological reviews* 243(1):206-214.

31. Hornung V*, et al.* (2009) AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature* 458(7237):514-518.

32. Lam NY, Rainer TH, Chan LY, Joynt GM, & Lo YM (2003) Time course of early and late changes in plasma DNA in trauma patients. *Clinical chemistry* 49(8):1286-1291.

33. Fernandes-Alnemri T & Alnemri ES (2008) Assembly, purification, and assay of the activity of the ASC pyroptosome. *Methods Enzymol* 442:251-270.

34. Man SM & Kanneganti TD (2016) Converging roles of caspases in inflammasome activation, cell death and innate immunity. *Nature reviews. Immunology* 16(1):7-21.

35. Liu L*, et al.* (2014) HMGB1-DNA complex-induced autophagy limits AIM2 inflammasome activation through RAGE. *Biochem Biophys Res Commun* 450(1):851-856.

36. Hoesch RE*, et al.* (2012) Acute lung injury in critical neurological illness. *Critical care medicine* 40(2):587-593.

37. Kalsotra A, Zhao J, Anakk S, Dash PK, & Strobel HW (2007) Brain trauma leads to enhanced lung inflammation and injury: evidence for role of P4504Fs in resolution. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 27(5):963-974.

38. Hay (2015) Blood-Brain Barrier Disruption Is an Early Event That May Persist for Many Years After Traumatic Brain Injury in Humans. *J Neuropathol Exp Neurol* 74(12):1147-1157.

39. Zygun DA, Kortbeek JB, Fick GH, Laupland KB, & Doig CJ (2005) Non-neurologic organ dysfunction in severe traumatic brain injury. *Critical care medicine* 33(3):654-660.

40. Peltz ED ME, Eckels PC, Damle SS, Tsuruta Y, Johnson JL, Sauaia A, Silliman CC, Banerjee A, Abraham E. (209) HMGB1 is markedly elevated within 6 hours of mechanical trauma in humans. *Shock* 32(1):17-22.

41. Chi W*, et al.* (2015) HMGB1 promotes the activation of NLRP3 and caspase-8 inflammasomes via NF-kappaB pathway in acute glaucoma. *Journal of neuroinflammation* 12:137.

42. Woodcock T & Morganti-Kossmann MC (2013) The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. *Frontiers in neurology* 4:18.

43. Monsel A, Zhu YG, Gudapati V, Lim H, & Lee JW (2016) Mesenchymal stem cell derived secretome and extracellular vesicles for acute lung injury and other inflammatory lung diseases. *Expert opinion on biological therapy* 16(7):859-871.

44. Taylor DD & Gercel-Taylor C (2014) Exosome platform for diagnosis and monitoring of traumatic brain injury. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 369(1652).

45. Guo H, Callaway JB, & Ting JP (2015) Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature medicine* 21(7):677-687.

46. Silverman WR*, et al.* (2009) The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *The Journal of biological chemistry* 284(27):18143-18151.

47. Tomura S, de Rivero Vaccari JP, Keane RW, Bramlett HM, & Dietrich WD (2012) Effects of therapeutic hypothermia on inflammasome signaling after traumatic brain injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 32(10):1939-1947.

48. Wiklander, O.P., Nordin, J.Z., O'Loughlin, A., Gustafsson, Y., Corso, G., Mager, I., Vader, P., Lee, Y., Sork, H., Seow, Y., Heldring, N., Alvarez-Erviti, L., Smith, C.I., Le Blanc, K., Macchiarini, P., Jungebluth, P., Wood, M.J. and Andaloussi, S.E. (2015). Extracellular

vesicle in vivo biodistribution is determined by cell source, route of administration and targeting. J Extracell Vesicles 4, 26316.
49. de Rivero Vaccari, J.P., Lotocki, G., Marcillo, A.E., Dietrich, W.D. and Keane, R.W. (2008). A molecular platform in neurons regulates inflammation after spinal cord injury. J Neurosci 28, 3404-3414.
50. Assis-Nascimento, P., Umland, O., Cepero, M.L. and Liebl, D.J. (2016). A flow cytometric approach to analyzing mature and progenitor endothelial cells following traumatic brain injury. J Neurosci Methods 263, 57-67.

Exemplo 2: Papel da sinalização de inflamassoma mediada por EV em ALI após a TBI em pacientes humanos

[00179] Como um acompanhamento dos experimentos em camundongos no Exemplo 1, o papel da EV isolada de pacientes com TBI humanos na sinalização de inflamassoma em células endoteliais pulmonares humanas foi examinado.

[00180] Em um primeiro experimento, as EVs derivadas de soro foram isoladas de pacientes com TBI e controle utilizando o kit Total Exosome Isolation (Thermofisher). Pulmonary Human Microvascular Endothelial Cells (HMVEC-Lonza) foram cultivadas e semeadas em uma placa de 12 cavidades. Após a confluência ter sido alcançada, as EV isoladas de pacientes com TBI e de controle foram liberadas (1,94 x 108 partículas/ml) nas células durante um período de incubação de 4 horas. Após a incubação, as células foram colhidas com 200 ul de tampão de lise e os lisados celulares foram utilizados para análise de Western Blot.

[00181] Em um segundo experimento, as EVs derivadas de soro foram isoladas de pacientes com TBI e de controle utilizando o kit Total Exosome Isolation (Thermofisher). Pulmonary Human Microvascular Endothelial Cells (HMVEC- Lonza) foram cultivadas e semeadas em uma placa de 96 cavidades. Após a confluência ter sido alcançada,

as EV isoladas de pacientes com TBI e de controle foram liberadas (1,94 x 108 partículas/ml) nas células durante um período de incubação de 3 horas e, em seguida, 1 hora adicional com caspase-1 FAM FLICA (Immunohistochemistry Technologies) com uma relação volume para volume de 1:30. Após a incubação, o meio foi removido e as células foram lavadas 3 vezes com tampão de lavagem de apoptose (Immunohistochemistry Technologies). As células foram então cocoradas com Hoechst para coloração nuclear e iodeto de propídio para morte celular. As imagens foram tiradas utilizando um microscópio EVOS e, em seguida, as células foram lidas em uma leitora de placa fluorescente em um comprimento de onda de excitação de 492 nm e um comprimento de onda de emissão de 520 nm.

Resultados

[00182] Conforme mostrado na FIG. 10A a 10F, a liberação de EV derivado de soro de pacientes com TBI aumentou a expressão da proteína do inflamassoma em células endoteliais pulmonares. A FIG. 10A a 10E mostrou que caspase-1, ASC, AIM2 e HMGB1 foram elevados em PMVEC incubado com TBI-EV durante 4 horas em comparação com PMVEC incubado com controle-EV durante 4 horas. Os resultados do imunoensaio mostraram um aumento significativo na expressão de IL-1beta utilizando o ensaio Ella simple plex (FIG. 10F).

[00183] Como mostrado na FIG. 11A-11C, a liberação de TBI-EV às células endoteliais pulmonares aumentou a imunorreatividade da caspase-1 e a morte celular.

Conclusão

[00184] Estes estudos forneceram evidências adicionais para um eixo neural-respiratório-inflamassoma em que a EV liberada na circulação após a TBI ativa o inflamassoma em células-alvo do pulmão, contribuindo para a patogênese de ALI.

Exemplo 3: Efeito do uso de anticorpo anti-ASC humanizado em um

modelo animal de esclerose múltipla

[00185] A fim de determinar a utilidade de um anticorpo monoclonal anti-ASC humanizado no tratamento de MS, dito anticorpo foi administrado a camundongos com encefalomielite alérgica experimental (EAE). A EAE é um modelo animal (isto é, roedor) de MS, conforme descrito em Höftberger R, Leisser M, Bauer J, Lassmann H (Dec 2015). "Autoimmune encephalitis in humans: how closely does it reflect multiple sclerosis?". Acta Neuropathol Commun. 3 (1): 80 and Lassman Hans (Feb 2010). "Acute disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis". Brain. 133: 317–319 and L. Gómez Vicente *et al*. Relapse in a paucisymptomatic form of multiple sclerosis in a patient treated with nivolumab, Neuro Oncol (2016) 18 (suppl 4): iv25.

MÉTODOS

Indução de EAE e tratamento com IC 100

[00186] A EAE ativa foi induzida em camundongos fêmeas C57BL/6 de 2 meses de idade com peptídeo glicoproteína 35-55 de oligodendrócito de mielina (MOG_{35-55}, BioSynthesis), conforme descrito precedenteprecedentemente (Brambilla *et al*., 2014). Resumidamente, os camundongos receberam uma injeção intraperitoneal (i.p.) de toxina da coqueluche (dissolvida em PBS (350 ng/camundongo; dia 0), seguida pela administração subcutânea de MOG_{35-55} (300 ng/camundongo; dia 1) emulsificado em Adjuvante Completo de Freund e uma segunda injeção i.p. de toxina da coqueluche (350 ng/camundongo; dia 2). Camundongos receberam veículo (solução salina 0,9%) ou IC 100 em três doses diferentes (10, 30 e 45 mg/kg) por meio de injeção i.p. a cada 4 dias, começando no dia 8 após a indução da EAE. Os sintomas clínicos da EAE foram avaliados diariamente em uma escala de 0 a 6 como se segue: 0, sem sinais clínicos; 1, perda do tônus da cauda; 2, cauda flácida; 3, paralisia completa dos membros posteriores; 4, paralisia completa dos membros preceden-

teprecedentes; 5, moribundo; 6, morto.

Isolamento de células para a citometria de fluxo

[00187] Após a perfusão transcardial com PBS, as medulas espinhais foram colhidas e colocadas em solução salina balanceada de Hanks fria sem Mg^{2+} e Ca^{2+} (HBSS w/o). As amostras foram dissociadas manualmente em suspensões de células isoladas através de um filtro de 70 um e lavadas em HBSS w/o. As amostras de baço foram centrifugadas em 1200 rpm durante 10 min a 4 °C, os sobrenadantes foram removidos e os glóbulos vermelhos (RBCs) lisados em 2 ml de tampão de lise de RBC (eBioscience) de acordo com as instruções do fabricante. As células do baço foram então colocadas novamente em suspensão em PBS. As células isoladas da medula espinhal foram colocadas novamente em suspensão em tampão de citometria de fluxo (FCB, eBioscience) e incubadas com Myelin Removal Beads II (Miltenyi). A mielina foi exaurida utilizando as colunas magnéticas LS, conforme descrito no protocolo do fabricante (Miltenyi). Similar aos esplenócitos, as células da medula espinhal foram colocadas novamente em suspensão em PBS e coradas como descrito abaixo.

Análise de marcação imunológica e citometria de fluxo

[00188] Para experimentos em que a Caspase-1 foi avaliada, o kit FAM FLICA™ Caspase 1 foi utilizado (BioRad) de acordo com as instruções do fabricante. As células foram incubadas durante 30 min a 4 °C em solução FLICA (BioRad), lavadas com tampão de lavagem de apoptose (BioRad) e colocadas novamente em suspensão em 1 ml de PBS. As amostras foram então incubadas durante 30 min a 4 °C com uma coloração viva/morta fixável (Tonbo Biosciences), centrifugadas em 1200 rpm durante 10 min a 4 °C e removidas dos sobrenadantes. As células foram colocadas novamente em suspensão em 100 ul de tampão FACS, bloqueadas com anti-CD16/32 (bloco FcR, eBioscience) na temperatura ambiente durante 5 min, imunomarcadas durante

30 min a 4 °C e fixadas com PFA a 1%. As amostras foram analisadas com um citômetro de fluxo CytoFLEX S equipado com software CytExpert 2.1 (Beckman Coulter). O número de leucócitos da medula espinhal foi determinado com 123count eBeads (eBioscience). O número de leucócitos esplênicos foi determinado por citometria de fluxo em combinação com contagem de exclusão com azul de tripano utilizando um TC20TM Automated Cell Counter (Bio-Rad). Uma lista de anticorpos de citometria de fluxo é fornecida abaixo da Tabela 3.

Tabela 3. Anticorpos de Citometria de Fluxo para Uso nos Métodos No presente documento Fornecidos.

Antígeno	Cor	Diluição	Fornecedor	Catálogo #
CD45	FITC	1:1000	eBioscience	11-0451-82
CD45	PE	1:1000	eBioscience	12-0451-82
CD4	PE/Cy7	1:200	eBioscience	25-0042-81
CD8	Percp-Cy 5.5	1:200	Biolegend	100734
B220	PE	1:200	Biolegend	103208
B220	APC eFluor780	1:200	eBioscience	47-0452-80
CD11b	APC eFluor780	1:200	eBioscience	47-0112-82
CD11b	PE/Cy7	1:200	Biolegend	101215
MHCII	APC	1:200	eBioscience	17-5321-81
Ly6-G	Percp-Cy5.5	1:200	Biolegend	127616
NK1.1	APC	1:200	Tonbo Biosciences	20-5941-U025
Vivo/Morto	Violet 450	1:1000	Tonbo Biosciences	13-0863-T500

Coloração com Luxol fast blue e quantificação do volume de matéria branca desmielinizada.

[00189] Segmentos fixados com paraformaldeído (PFA) da medula

espinhal foram incorporados em parafina, seccionados em seções transversais de 10 mm de espessura com um micrótomo Leica RM 2135 e corados com luxol fast blue (LFB). Dez seções em série em intervalos de 50 µm foram utilizadas para estimar o volume de matéria branca desmielinizada. As áreas desmielinizadas foram delineadas com um microscópio Olympus BX51, e o volume de matéria branca desmielinizada foi quantificado com o software Stereoinvestigator (MicroBrightfield). As reconstruções em 3D da medula espinhal desmielinizada foram executadas nos mesmos cortes em série com o software Neurolucida (MBF Bioscience).

Quantificação de IC 100 em Tecidos

[00190] IC 100 foi quantificado no cérebro, medula espinhal, fígado e baço em 35 dias após a indução (dpi) de EAE utilizando um ensaio desenvolvido pela InflamaCORE, LLC utilizando Meso Scale Technology. O ensaio foi lido utilizando o instrumento QuickPlex SQ 120 (Meso Scale Diagnostics, Maryland).

[00191] Experimentos similares foram conduzidos em um modelo de rato de lesão contusiva da medula espinhal cervical a fim de determinar se o anti-ASC penetra nos neurônios da medula espinhal.

[00192] A fim de determinar se IC 100 é absorvido por células, IC 100 marcado com fluoresceína é adicionado ao meio de cultivo de tecidos contendo células THP-1 (linhagem celular monocítica humana).

Resultados

O tratamento com o anticorpo anti-ASC IC 100 melhora o resultado funcional na encefalomielite autoimune experimental (EAE)

[00193] A fim de avaliar o potencial terapêutico de IC 100, a EAE foi induzida com o peptídeo MOG35-55 (Brambilla *et al*., 2014) em camundongos C57BL/6 fêmeas de dois meses de idade e se administrou IC 100 ou veículo isoladamente começando no dia 8 pós-indução (dpi) da doença. A administração foi repetida a cada quatro dias até o sacri-

fício, que foi fixado em 35 dpi. Três doses foram testadas, 10, 30 e 45 mg/Kg.

[00194] O IC 100 significativamente melhorou a recuperação funcional quando utilizado nas doses de 30 e 45 mg/kg, com uma redução robusta das pontuações de doença clínica ao longo da duração do experimento (FIG. 12A). O tratamento reduziu as pontuações clínicas máximas médias (FIG. 12B), assim como a gravidade geral da EAE medida como uma redução no índice de doença cumulativa (CDI) (FIG. 12C). Os camundongos tratados com 30 e 45 mg/kg de IC 100 também mostraram uma tendência para um início tardio da doença (FIG. 12D). Não foram observadas diferenças no dia em que os camundongos atingiram sua pontuação máxima de doença (FIG. 12E).

Tratamento com o anticorpo anti-ASC IC 100 reduz a infiltração de células imunológicas periféricas na medula espinhal após EAE

[00195] O início, a persistência e a gravidade dos sintomas clínicos da EAE estão diretamente correlacionados com a infiltração de células imunes na medula espinhal. Para avaliar se o IC 100 afetou este processo, as populações de células imunes isoladas da medula espinhal em 35 dpi foram perfiladas por citometria de fluxo. O tratamento com 30 mg/kg de IC 100 reduziu significativamente o número total de células T $CD4^+$ encefalitogênicas, assim como células T $CD8^+$ (FIG. 13A), as populações de células imunes mais cruciais na condução da patologia de EAE. Todas as outras populações de células imunes mostraram uma tendência clara de redução. Nenhuma diferença no número de células foi observada com qualquer uma das doses de IC 100 no baço, sugerindo que o tratamento não interferiu com a capacidade dos camundongos de montar uma resposta imune adequada ao estímulo de EAE (FIG. 13B).

Tratamento com o anticorpo anti-ASC IC 100 reduz o número e o estado de ativação da microglia após a EAE

[00196] A microglia participa da resposta imune-inflamatória à doença do CNS. À medida que seu estado de ativação aumenta, eles proliferam e aumentam a expressão de superfície de MHCII. Para avaliar se IC 100 afetou essa resposta, o número de microglia total e microglia ativada por $MHCII^+$ na medula espinhal foi quantificado por citometria de fluxo. Ambas as populações foram significativamente reduzidas pelo tratamento com 30 mg/kg de IC 100, indicando que nesta dose o IC 100 é eficaz na supressão da ativação da microglia e neuroinflamação mediada pela microglia (ver FIG. 14).

IC 100 penetra no cérebro e na medula espinhal

[00197] Um parâmetro importante na concepção de fármacos para retratar a MS é determinar se o fármaco penetra no CNS em um nível terapêutico. Esta é uma característica importante, particularmente no tratamento da forma progressiva da MS, uma vez que a barreira hematoencefálica parece relativamente intacta neste estágio da doença (Lassman *et al*. 2012). Portanto, coletamos cérebro, medula espinhal, fígado e baço para determinar os níveis de IC 100 nesses tecidos. Como mostrado na FIG. 15, o IC 100 penetrou em todos esses tecidos em todas as três dosagens, incluindo cérebro e medula espinhal. Curiosamente, os níveis de IC 100 na medula espinhal foram mais elevados na dose de 30 mg/kg, consistente com maiores efeitos terapêuticos nesta dose.

[00198] O IC 100 marcado com fluoresceína é absorvido por células THP-1 (linhagem celular monocítica humana) e incorporado em partículas ASC quando adicionado ao meio de cultura de tecidos. Adicionalmente, a indução do inflamassoma dessas células estimula a absorção de IC 100 marcado em partículas ASC juntamente com dextrano marcado com rodamina, sugerindo que a absorção de IC 100 é mediada por endocitose (ver a FIG. 16).

[00199] Da mesma forma, IC 100 evitou a liberação de IL-1β das

células THP-1 (ver FIG. 17).

[00200] Anticorpos anti-ASC (por exemplo, IC 100) também penetraram nos neurônios da medula espinhal em um modelo de rato de lesão contusiva da medula espinhal cervical.

[00201] IC 100 pode funcionar tanto intracelularmente quanto extracelularmente. Intracelularmente, ele pode atuar ligando-se à proteína ASC e inibindo-a, evitando assim a montagem do inflamassoma multiprotéico e o início da resposta inflamatória. Ele também pode se ligar a ASC em partículas ASC, evitando a propagação da grande plataforma de sinalização filamentosa, inibindo assim a ativação extracelular de pró-ILβ responsável por perpetuar a inflamação em doenças inflamatórias crônicas.

Incorporação por referência

[00202] As seguintes referências são incorporadas por referência na sua totalidade para todos os propósitos.

[00203] Brambilla R, Morton PD, Ashbaugh JJ, Karmally S, Lambertsen K, and Bethea JR (2014) Astrocytes play a key role in EAE pathophysiology by orchestrating in the CNS the inflammatory response of resident and peripheral immune cells and by suppressing remyelination. GLIA, 62:452-457.

[00204] Lassmann, H., van Horssen, J. & Mahad, D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. Nat Rev Neurol 8, 647-656, doi:10.1038/nrneurol.2012.168 (2012).

Exemplo 4: Análise cinética de anticorpos monoclonais anti-ASC candidatos

[00205] Uma análise cinética de anticorpos monoclonais anti-ASC candidatos foi executada utilizando interferometria de biocamada (BLI). Na BLI, a associação ou dissociação com os casos de superfície, uma mudança no comprimento de onda da luz refletida e a medição da mudança ao longo do tempo permite a determinação da cinética de liga-

ção.

[00206] O ensaio de BLI consistia do seguinte:

[00207] Verificação do Sensor (30s) → Carregar Ab/Sup. (700s) → Linha de base (300s) → Ab Assoc. (600s) → Dissoc. (600s) → Repetir

[00208] Os sobrenadantes de anticorpos IgG de camundongo candidatos foram testados quanto à ligação ao peptídeo ASC humano (SEQ ID NO: 5) em 7 concentrações diferentes (isto é, 540 nM; 180 nM; 60 nM; 20 nM; 6,67 nM; 2,22 nM; 0,741 nM). Os anticorpos testados foram ICCN 1,0H (isto é, IC 100); ICCN 2,0H; e ICCN 3,0H. Os biossensores AMC (IgG Fc Anti-Camundongo) foram carregados com IgG de camundongo do sobrenadante não diluído. Os dados de cinética de anticorpo brutos para os 3 anticorpos candidatos são mostrados na FIG. 21, enquanto que a FIG. 22 mostra os valores globais da KD.

Exemplo 5: Estudos Farmacocinéticos dos Estudos de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção de IC 100

[00209] Experimentos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) serão executados para descrever a disposição de IC 100 em ratos machos CD-1.

[00210] Em uma primeira experiência, 30 ratos machos CD-1 de seis semanas de idade serão obtidos da Charles River. Os experimentos serão conduzidos na Bolder BioPath (BBP). Os camundongos serão aclimatados durante pelo menos sete dias após a chegada em BBP. Os camundongos serão alojados em quatro animais por gaiola.

[00211] Os animais serão randomizados em grupos de tratamento (nove camundongos por grupo) com base no peso corporal e administrados com uma dose de IC 100 por via intravenosa (IV). Os grupos de tratamento receberão 5 mg/kg, 15 mg/kg ou 30 mg/kg de IC 100. O plasma será coletado em vários momentos após uma única dose IV para monitoramento farmacocinético (PK). Um cronograma exemplar de coleta de plasma é mostrado na Tabela 4 abaixo. A toxicidade agu-

da será monitorada por meio de observações clínicas. O plasma será enviado para a Antibody Solutions para análise. O experimento continuará durante dez semanas.

[00212] As medições de peso corporal serão feitas nos dias 0, 7, 14, 21, 28 e 35.

[00213] O sangramento retro-orbital será usado para coletar volumes adequados de sangue; camundongos serão anestesiados com isoflurano antes da coleta da amostra. Os animais 1, 2 e 3 de cada grupo serão sangrados nos dias 1 e 10; os animais 4, 5 e 6 serão sangrados nos dias 2 e 15; os animais 7, 8 e 9 serão sangrados nos dias 5 e 20.

[00214] No momento final, os animais serão anestesiados com isoflurano e sangrados até a exsanguinação, seguido por pneumotórax bilateral. Os animais 1, 2 e 3 serão sacrificados no dia 25. Os animais 4, 5 e 6 serão sacrificados no dia 30. Os animais 7, 8 e 9 serão sacrificados no dia 35.

Tabela 4. Lista de Coleta de Amostra

Grupo	An. #	Momento
1, 2, 3	1-3	Dia 1 (24 h)
1, 2, 3	4-6	Dia 2 (48 h)
1, 2, 3	7-9	Dia 5
1, 2, 3	1-3	Dia 10
1, 2, 3	4-6	Dia 15
1, 2, 3	7-9	Dia 20
1, 2, 3	1-3	Dia 25 (terminal)
1, 2, 3	4-6	Dia 30 (terminal)
1, 2, 3	7-9	Dia 35 (terminal)

*A necropsia ocorre no sangramento terminal

Exemplo 6. Biodistribuição de IC 100 utilizando Camundongos Albinos Fêmeas B6 e Formações de Imagem de Fluorescência

[00215] Em um segundo experimento, IC 100 e IgG de camundongo controle serão marcados com corante de marcação fluorescente VivoTag 680XL de acordo com protocolos estabelecidos da VivoTag, e a afinidade de ligação será determinada. Resumidamente, de acordo com os protocolos da VivoTag, o protocolo de marcação envolverá:

1. Preparação das soluções de anticorpo (> 7 kDa) para 1 a 10 mg/ml em PBS. Os anticorpos estarão livres de íons de amônio ou aminas primárias para reduzir a competição pela reação com o corante reativo.

2. 0,25 mg de VivoTag 680XL será dissolvido em 10 µl de DMSO seco. Uma vez reconstituído, VivoTag 680XL é estável durante até 7 dias quando armazenado de 2 a 8 °C e protegido da luz.

3. 0,5 ml de proteína (0,5 a 5 mg), 50 µl de bicarbonato de sódio, 2 µl de VivoTag 680XL para cada mg de proteína serão adicionados a um tubo eppendorf. A mistura será incubada no escuro durante 2 horas na temperatura ambiente com agitação.

4. Separação do conjugado de proteína do corante livre. Arrancar o fechamento inferior da coluna e liberar a tampa. A coluna será colocada em um tubo de coleta cônico de 15 ml e centrifugada em 1.000 x g durante 2 min. 2 ml de PBS serão adicionados à coluna e centrifugados em 1.000 x g durante 2 min. A lavagem será repetida mais duas vezes.

5. A coluna será colocada em um tubo de coleta cônico de 15 ml novo. Todas as amostras de proteína serão carregadas (200 a 700 µl) na coluna e centrifugadas em 1.000 x g durante 2 min. O fluxo através da amostra de proteína será coletado.

6. A amostra de anticorpo marcada coletada pode ser analisada quanto ao grau de marcação (DOL). Determinar a absorbância do conjugado purificado em 280 nm e 668 nm.

7. Ajustar a absorbância em 280 nm da proteína purificada através da subtração da absorbância de 280 nm do VivoTag 680XL, que é 16% da absorbância em 668 nm.

8. A análise de absorbância pode ser feita com um espectrofotômetro de UV ou um espectrofotômetro de nanogota. Para utilizar o último, as amostras precisam ser diluídas para a faixa de 0,5 a 2 mg/ml antes da medição. Como o caminho da luz é de 1 mm, a leitura deve ser normalizada com um fator de 10.

[00216] Em um terceiro experimento, a biodistribuição de IC 100 será determinada. Quinze camundongos B6 Albino (C57BL6) fêmeas de 8 a 12 semanas de idade serão utilizados para o estudo. Os animais serão distribuídos aleatoriamente em grupos com base no peso corporal do primeiro dia.

[00217] Camundongos fêmeas B6 Albino não receberão nenhum tratamento (controle negativo), uma dose única de IC 100 marcada com VivoTag 680XL, ou uma dose única de IgG de camundongo marcada com VivoTag 680XL (controle negativo). Os tratamentos serão administrados por via intravenosa (volume = 200 µl) na dose de 100 µg/animal.

[00218] A formação imagem de fluorescência in vivo será executada em 2 horas, 8 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas e 96 horas após as imagens dorsais e ventrais de corpo inteiro in vivo serem capturadas utilizando a formação imagem de fluorescência em vários momentos até 96 horas após o tratamento. A formação imagem ex vivo do cérebro, olhos com nervos ópticos, coração, rins esquerdo e direito, intestino grosso, incluindo cólon terminal, fígado, pulmões, ovários, pâncreas, intestino delgado, coluna vertebral, estômago, tireóide e bexiga urinária de todos os animais, será realizada.

[00219] Sangue total será coletado, e o infiltrado imune será analisado com relação às células T CD4+ (CD4 + CD11b- CD3+ CD8-), cé-

lulas T CD8+ (CD8+ CD11b-CD3+CD4-), células B (CD3-CD111b-CD45R+), monócitos (CD3-CD11b+CD115+) e células NK (CD3-CD49b+CD335+). A expressão de Ab-VivoTag 680 XL será quantificada para determinar o nível de anticorpo marcado liberado. Um corante LIVE/DEAD será incluído no painel de citometria de fluxo para quantificar o número de células vivas. Todo o painel de anticorpos incluirá anticorpos direcionados para CD3, CD4, CD8, CD11b, CD115, CD45R, CD49b, CD335, e um corante LIVE/DEAD.

Exemplo 7: Efeito da administração de IC 100 na sinalização de inflamassoma

[00220] O sangue de pacientes humanos com esteato-hepatite não alcoólica (NASH), nefropatia diabética e nefrite lúpica será obtido da BioReclamation IVT para análise de biomarcador de proteínas do inflamassoma. Tecidos de pacientes com NASH, nefropatia diabética e nefrite lúpica serão obtidos da Bolder BioPath, e os lisados de proteínas serão obtidos desses tecidos e analisados por immunoblotting e outras técnicas bioquímicas para a expressão de proteínas de sinalização do inflamassoma, incluindo caspase-1 e ASC.

[00221] Adicionalmente, uma linhagem celular de câncer humano será utilizada para examinar a ativação de inflamassomas dependentes de ASC em tempo real. Este estudo consistirá em dois objetivos e será iniciado em um período de 6 a 9 semanas.

Objetivo Específico 1: Marcação de Anticorpos

[00222] 2 mg de IC 100 serão marcados com corante de marcação fluorescente IgG-680 XL-IFC (VivoTag® 680 XL, PerkinElmer #-NEV11120) e a estequiometria da marcação será determinada pelas instruções do fabricante. A IgG de camundongo de controlo (fornecida por Charles River Laboratories (CRL)) será marcada e analisada de forma similar.

Objetivo Específico 2: Determinação da Afinidade de Ligação

[00223] A linhagem celular de câncer humano THP-1 será cultivada em fase log e plaqueada em 20.000 células por cavidade em um volume de 100 µl de meio em uma placa de microcultura de poliestireno branco de 6 cavidades (placa de fundo plano de 96 cavidades Corning® Costar®, Cat. # 3917). O anticorpo marcado será então adicionado em duplicata às cavidades (resposta à dose de 10 pontos, diluição 1:3, concentração mais elevada 200 nM). O anticorpo ligado será detectado para todas as cavidades seguindo o protocolo da Charles River. O anticorpo ligado (intensidade fluorescente média) será marcado em gráfico em função da concentração do anticorpo e da afinidade de ligação (Kd) será estimada através do ajuste da seguinte equação aos dados: Y = Bmax*X/(Kd + X).

Exemplo 8: Estudos In Vivo de IC 100 em um modelo de rato com NASH

[00224] Ratos Wistar Han machos, que são alimentados com uma dieta rica em gordura e deficiente em colina (CDHFD) que têm fibrose hepática, servirão como um modelo animal de NASH. 55 ratos serão utilizados para este estudo. Ratos Wistar Han com 8 a 9 semanas de idade serão obtidos da Envigo ou Charles River. Os ratos serão aclimatados durante 3 a 7 dias após a chegada ao Bolder Biopath. Os ratos serão alojados em 2 a 3 animais por gaiola. Os animais serão alimentados com ração padrão.

[00225] No dia 0, os animais serão randomizados em cinco grupos com base no peso corporal. O Grupo 1 será alimentado com Teklad Global Diets — Rodent 2014, que é uma dieta padrão. Os grupos 2, 3, 4 e 5 serão alimentados com uma dieta CDHFD.

[00226] No dia do estudo 38, os animais serão sangrados para análises químicas clínicas e colocados em grupos de tratamento com base nas concentrações de alanina aminotransferase (ALT). No dia do estudo 42, o tratamento começará. A eficácia de IC 100 será testada

usando doses que serão determinadas com base nos dados farmacocinéticos obtidos no Exemplo 5. Um grupo receberá tratamento com veículo para servir como controle negativo. O grupo que recebe dieta padrão também receberá tratamento com veículo. Peso corporal, consumo de alimento e observação clínica do lado da gaiola serão medidos semanalmente. No dia 38 e no dia 63, o sangue total será obtido através da coleta da veia da cauda. A necropsia será feita no dia 84. Os animais serão sacrificados com anestesia com isoflurano, sangrados até a exsanguinação e posteriormente um pneumotórax bilateral.

[00227] Os animais serão pesados nos dias -1, 0, 2, 4, 6, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 66, 70, 73, 77, 80 e 83 do estudo.

[00228] Uma atualização semanal do consumo alimentar (grama/dia/rato) será registrada nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 e 84 do estudo.

[00229] As observações clínicas do lado da gaiola serão executadas nos dias 0 a 7, 14, 21, 28, 35, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 66, 70, 73, 77, 80, 83. Se os animais começarem a mostrar sinais clínicos de toxicidade ou doença, os animais serão observados e pesados diariamente.

[00230] Na necropsia, os pesos do fígado, tecido adiposo marrom e tecido adiposo inguinal direito serão medidos. Serão obtidas biópsias de 4 x 7 mm do lobo lateral esquerdo do fígado, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80 ^{o}C. Cortes transversais de três mm do lobo medial, lobo lateral esquerdo e lobo lateral direito do fígado serão obtidos e fixados em formalina 10% durante 36 a 48 horas antes do armazenamento em etanol 70% na temperatura ambiente para histopatologia. Três pedaços de 100 mg de tecido adiposo serão congelados em nitrogênio líquido e armazenados em tubos de bloqueio seguro Eppendorf a -80 °C. Três pedaços de tamanhos iguais de tecido adiposo marrom serão congelados repentinamente em nitrogênio lí-

quido e armazenados em tubos de bloqueio seguro Eppendorf a -80 °C.

[00231] Tecido adiposo subcutâneo inguinal, um depósito de tecido adiposo branco (WAT) será coletado de acordo com o seguinte protocolo. Os depósitos SQ triangulares e inguinais serão descritos removendo a metade inferior do camundongo. Os apêndices superiores e o tórax são mantidos em uma mão e a pele será puxada para baixo em direção aos pés com a outra. O camundongo será orientado em uma posição supina, tomando cuidado para não contaminar o depósito exposto com pelos. Os instrumentos cirúrgicos serão limpos e as luvas serão trocadas. Subsequentemente, os triângulos de gordura subcutânea serão dissecados, tomando o cuidado de não contaminar a amostra com músculo, gordura adjacente, glândulas mamárias ou sangue. Um microscópio de dissecção será utilizado se as bordas não estiverem claramente definidas. Os depósitos de gordura serão removidos e transferidos para um fixador 50:1 no volume de tecido de formal tamponado neutro a 10% e fixados durante 36 a 48 horas na temperatura ambiente. Se o RNA ou a proteína for extraído, o tecido será congelado por imersão em nitrogênio líquido e armazenado a -80 °C para evitar a degradação. Serão feitos esforços para não contaminar os depósitos de gordura, trocando frequentemente as luvas.

[00232] O processamento de histologia será executado por Histotox Labs. O processamento de histologia de LLL, MLL e RLL será executado em três cortes transversais de fígado/animal. As amostras serão coradas com vermelho Sirius e hematoxilina e eosina (H&E).

Exemplo 9: Estudos In Vivo do Efeito de IC 100 na Nefropatia Diabética em um Modelo de Camundongo BTBR Ob/Ob

[00233] A cepa de camundongo BTBR com a mutação de deficiência de leptina ob/ob serve como um modelo de camundongo para nefropatia diabética. Camundongos machos BTBR Ob/Ob serão utiliza-

dos para avaliar o efeito de IC 100 na reversão dos efeitos da nefropatia diabética. Cinco camundongos BTBR machos do tipo selvagem (WT) serão utilizados como um controle negativo e não receberão nenhum tratamento. 50 camundongos BTBR Ob/Ob serão utilizados e divididos em cinco grupos. Os grupos receberão veículo, controle ou IC 100 em doses determinadas com base no Exemplo 5. O experimento ocorrerá ao longo de seis semanas.

[00234] A histologia será executada nos rins de camundongo por Histotox Labs. Os parâmetros apropriados serão determinados pelo patologista utilizando os métodos Bolder BioPATH atuais.

[00235] As medições de glicose no sangue serão feitas por corte de cauda e aplicação de uma gota de sangue (~5 µL) em uma tira de teste compatível com um glicosímetro True Metrix. As medições de glicose no sangue serão feitas duas vezes por semana até a conclusão do estudo.

[00236] A pontuação de proteinúria será executada através da expressão da urina do camundongo por manter o camundongo de cabeça para baixo e aplicar pressão no abdômen. As tiras reagentes de Albustix serão utilizadas para determinar a quantidade de proteína na urina.

[00237] Se os animais forem encontrados mortos, nenhuma amostra será coletada. Se os animais precisarem ser sacrificados, independentemente do motivo, as amostras serão coletadas como seriam na necropsia após o dia 7 do estudo.

Exemplo 10: Estudos In Vivo do Efeito de IC 100 na Nefrite Lúpica em um Modelo de Camundongo

[00238] Camundongos MRL/MpJ-Tnfrsf6lpr/J fêmeas de 12 semanas de idade serão utilizados para desenvolver um modelo de nefrite lúpica. Os camundongos serão obtidos na Bolder BioPath. Os camundongos serão randomizados em grupos de tratamento com base no

peso corporal. Os animais serão observados diariamente quanto a sinais clínicos significativos, definhamento e mortalidade. O início da nefrite lúpica ocorrerá em aproximadamente 12 a 14 semanas de idade.

[00239] Após o início da nefrite lúpica, os camundongos serão divididos em cinco grupos e tratados com doses variáveis de IC 100, de acordo com os resultados do Exemplo 5, veículo ou IgG de controle.

[00240] Peso corporal, proteinúria urinária, pontuações de linfadenopatia e pontuações de lesão da pele serão coletadas. A necropsia será conduzida na semana 20, e os tecidos e o sangue total serão coletados para análise. O experimento deve durar 15 semanas.

Exemplo 11: Um Estudo Agudo e de 21 Dias de Detecção da Toxicidade por Injeção em Bolo Intravenosa de IC 100 em Ratos Albinos

[00241] Ratos albinos serão obtidos da Charles River. Os níveis de dose de IC 100 para uma toxicidade de dose múltipla definitiva de 28 dias e estudos farmacocinéticos em ratos serão estabelecidos. Os ratos serão divididos em quatro grupos contendo três ratos/sexo/dose. Um estudo ascendente e descendente será executado.

[00242] Um estudo de dose repetida ocorrerá ao longo de três semanas. Os ratos serão divididos em grupos de todos os machos ou todas as fêmeas que contêm cinco ratos. Os ratos serão ministrados semanalmente com um nível de dose de IC 100. Parâmetros em vida, incluindo mortalidade, sinais clínicos, peso corporal e laboratório clínico com toxicocinética serão executados.

Exemplo 12: Um estudo de descoberta de dose máxima tolerada e faixa de dose em 22 dias de IC 100 no macaco cinomolgo

[00243] Os níveis de dose e farmacocinética para IC 100 serão estabelecidos em macacos cinomolgos. Os experimentos ocorrerão em Charles River. Os macacos serão divididos em quatro grupos contendo um macaco/sexo/dose. Um estudo ascendente e descendente será executado durante 28 dias.

[00244] Um estudo de dose repetida ocorrerá ao longo de três semanas. Os macacos serão divididos em grupos de todos os machos ou todas as fêmeas que contenham dois macacos. Os macacos receberão dosagens semanais com um nível de dose de IC 100. Parâmetros em vida incluindo mortalidade, sinais clínicos, peso corporal e laboratório clínico com toxicocinética, serão avaliados.

[00245] Esta experiência deve durar 15 semanas.

Exemplo 13: Estudo de toxicidade de IC 100 no rato seguido por um período de recuperação de 4 semanas

[00246] A toxicidade e a toxicocinética após a administração intravenosa de IC 100 seguida por um período de recuperação em ratos obtidos da Charles River serão estabelecidas.

[00247] Os ratos serão divididos em 10 a 15 ratos/sexo/grupo com três níveis de dose acrescido do controle. Os grupos adicionais incluirão um grupo de alta dose e um grupo de controle que conterá 5 ratos/sexo para uma recuperação de quatro semanas.

[00248] Mortalidade, peso corporal, consumo de alimentos, observações clínicas, patologia clínica (hematologia e química clínica), achados de necropsia, histopatologia do órgão e toxicocinética serão medidos. Após a recuperação, os mesmos parâmetros serão medidos, excluindo a toxicocinética.

[00249] Espera-se que esta experiência dure seis meses.

Exemplo 14: Estudo de toxicidade de IC 100 no macaco cinomolgo seguido por um período de recuperação de 4 semanas

[00250] A toxicidade e a toxicocinética após a administração intravenosa de IC 100 seguida por um período de recuperação em primatas não humanos serão estabelecidas em Charles River.

[00251] Os macacos serão divididos em 3 macacos/sexo/grupo com três níveis de dose acrescido do controle. Os grupos adicionais incluirão um grupo de alta dose e um grupo de controle que conterá 2 ma-

cacos/sexo para uma recuperação de quatro semanas.

[00252] Mortalidade, peso corporal, consumo de alimentos, observações clínicas, patologia clínica (hematologia e química clínica), achados de necropsia, histopatologia do órgão e toxicocinética serão medidos. Após a recuperação, os mesmos parâmetros serão medidos, excluindo a toxicocinética.

[00253] Espera-se que esta experiência dure seis meses.

Exemplo 15: Estudo Cardiovascular In Vitro utilizando um Ensaio hERG

[00254] O potencial de toxicidade cardiovascular (prolongamento QT) será avaliado em um ensaio in vitro com células CHO ou HEK293.

[00255] Este experimento estabelecerá a IC50 para o bloqueio de IC 100 do canal HERG.

[00256] Espera-se que esta experiência dure dois meses.

Exemplo 16: Estudo de Hemólise Sanguínea In-Vitro

[00257] O potencial da formulação intravenosa de IC 100 para provocar hemólise de glóbulos vermelhos humanos in vitro será avaliado. As concentrações de IC 100 (determinadas com base no Exemplo 5) serão misturadas com glóbulos vermelhos em um sistema in vitro. O grau de hemólise será estabelecido. O experimento tem duração prevista de dois meses.

Exemplo 17: Examinando a eficácia in vivo de IC 100 no tratamento da doença de Parkinson (PD)

[00258] A eficácia de IC 100 no tratamento de PD será avaliada através da administração de IC 100 em vários modelos animais (isto é, roedores) de PD. 5 mg/kg, 15 mg/kg, 30 mg/kg.

[00259] O modelo de rato 6-OHDA de PD é um modelo unilateral quimicamente induzido (lesão intrastriatal ou mediana do feixe do prosencéfalo) de PD em que os camundongos apresentam déficits comportamentais que incluem assimetria rotacional e defeitos motores O

modelo 6-OHDA apresenta teor reduzido de dopamina, DOPAC e HVA no corpo estriado e mostra uma redução de células TH-positivas na substância negra pela histologia.

[00260] Em um conjunto de experimentos utilizando o modelo 6-OHDA de PD, um total de 45 ratos machos serão separados em 3 grupos experimentais (n = 15 ratos/grupo) e serão tratados como se segue:

1. Ratos com indução simulada tratados serão tratados com veículo;

2. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados serão tratados com veículo; e

3. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados serão tratados com 1 dose de IC 100 (selecionado com base em estudos de PK/meia-vida)

A infusão unilateral de 6-OHDA/simulação ocorrerá no dia 0 do estudo;

A formulação de dose diária e a dosagem (QD, p.o.) ocorrerão nos dias 15 a 28 do estudo

O acompanhamento do peso corporal será conduzido e o teste comportamental será executado no - dia 14 (linha de base), dia 28 e dia 42 e incluirá rotações induzidas por anfetaminas.

Amostras de sangue terminal, CSF e cérebro ocorrerão no dia 42 do estudo seguido por HPLC para examinar DA, DOPAC e HVA no corpo estriado e IHC para examinar células TH+ em SNpc.

[00261] Em um segundo conjunto de experimentos utilizando o modelo 6-OHDA de PD, um total de 45 ratos machos serão separados em 3 grupos experimentais (n = 15 ratos/grupo) e serão tratados da seguinte forma:

1. Ratos com indução simulada tratados serão tratados com veículo;

2. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados serão tratados com veículo; e

3. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados serão tratados com 1 dose de IC 100 (selecionado com base em estudos de PK/meia-vida)

O experimento será conduzido ao longo de um período de 6 semanas com infusão unilateral de 6-OHDA/simulação ocorrendo no dia 0 do estudo;

A formulação de dose diária e dosagem (QD, p.o.) ocorrerão no dia 1 do estudo e continuarão até 6 semanas após a infusão de 6-OHDA.

O teste comportamental será executado no – dia 14 (linha de base), dia 28 e dia 42 e incluirá rotações induzidas por anfetamina e um teste de cilindro.

A amostragem do cérebro terminal ocorrerá no dia 42 do estudo seguido por HPLC para examinar DA, DOPAC e HVA no corpo estriado e IHC para examinar TH e Iba-1 em SNc (bilateralmente).

[00262] Em um terceiro conjunto de experimentos utilizando o modelo 6-OHDA de PD, um total de 90 ratos machos será separado em 6 grupos experimentais (n = 18 ratos/grupo no início até a linha de base do dia 14, n = 15 ratos/grupo como alvo) e serão tratados da seguinte forma:

1. Ratos induzidos por simulação tratados com veículo

2. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados com veículo

3. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados com 1 dose de IC 100

4. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados com 2 doses de IC 100

5. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados com 3 doses de IC 100

6. Ratos induzidos por 6-OHDA tratados com 4 doses de IC 100

O experimento será conduzido durante um período de 6 semanas com infusão unilateral de 6-OHDA/simulação ocorrendo no dia 0 do estudo;

A formulação de dose diária e dosagem (QD, p.o.) ocorrerão nos dias 15 a 42 do estudo.

O teste comportamental será executado no – dia 14 (linha de base), dia 28 e dia 42 e incluirá rotações induzidas por anfetamina e um teste de cilindro.

A amostragem do cérebro terminal ocorrerá no dia 42 do estudo seguido por HPLC para examinar DA, DOPAC e HVA no corpo estriado e IHC para examinar TH e Iba-1 em SNc (bilateralmente).

Exemplo 18: Exame da eficácia *in vitro* de IC 100 no tratamento da Doença de Parkinson (PD)

Ensaio TOM20:

[00263] A patogênese da PD tem sido associada à disfunção mitocondrial através de várias linhas de pesquisa, começando com a descoberta de que o inibidor do complexo I mitocondrial rotenona induz o parkinsonismo. Além disso, mutações em genes que codificam proteínas envolvidas na eliminação seletiva de mitocôndrias disfuncionais e redundantes (mitofagia), tais como PARK2 e PINK1, estão presentes na maioria dos casos autossômicos recessivos de PD. Da mesma forma, um crescente corpo de evidências implicou a disfunção mitocondrial em outras doenças neurodegenerativas, tais como AD, ALS e doença de Huntington (HD). As leituras fenotípicas para medir a (dis) função mitocondrial na origem celular relevante para a doença são, portanto, supostas de representar ferramentas preditivas poderosas para sondar a patobiologia neurodegenerativa e identificar potenciais terapêuticos que possam aumentar a mitofagia.

[00264] TOM20 é uma subunidade do complexo translocase mitocondrial da membrana externa (TOM) e representa um biomarcador para abundância mitocondrial. Ao traçar o perfil de candidatos terapêuticos na ausência (monotratamento) e na presença (cotratamento) de um gatilho indutor de mitofagia estabelecido, moléculas candidatas (por exemplo, IC 100) que aumentam a depuração mitocondrial induzida por gatilho sem danificar as mitocôndrias diretamente podem ser selecionadas.

[00265] O ensaio de perda de TOM20 é um ensaio in vitro escalonável e rápido para rastrear compostos quanto à sua capacidade de aumentar a mitofagia em um contexto neuronal.

[00266] O ensaio TOM20 utilizará células progenitoras mesencefálicas humanas imortalizadas (ReNcell VM) semeadas em 50.000 células/cavidade em placas de 96 cavidades revestidas com laminina que serão diferenciadas pela retirada de fatores de crescimento (bFGF, EGF) e a adição de pró-fatores de diferenciação (cAMP, GDNF) durante sete dias começando no dia 0 (D0), com refrigério no dia 1 (D1) e dia 4 (D4). As células serão então tratadas com IC 100 no dia 7 na ausência e presença de 1 micromolar de oligomicina/antimicina (O/A; um gatilho mitofágico comumente utilizado) durante 18 horas seguido por fixação de coloração imunocitoquímica de TOM20 com um anticorpo anti-TOM20 e coloração DAPI (isto é, no dia 8). Em última análise, o ensaio conterá um controle positivo de O/A 1 μM e um controle negativo de DMSO 0,1%.

[00267] A combinação do tratamento de compostos de aumento da mitofagia com 1 μM de O/A levará a uma redução dramática nos níveis de TOM20 na parte superior das reduções induzidas pelo tratamento com O/A isoladamente. A intensidade da imunomarcação TOM20 será quantificada utilizando algoritmos baseados em análise de alto conteúdo (HCA) desenvolvidos pela Charles River Labs. As contagens nu-

cleares serão quantificadas para identificar a citotoxicidade induzida por composto potencial (por exemplo, IC 100).

Ensaio de agregação de Alfa-Sinucleína:

[00268] Os agregados da proteína pré-sináptica alfa-sinucleína são considerados os biomarcadores primários de PD e as evidências sugerem que os agregados de alfa-sinucleína atuam como mediador diretamente da morte celular neuronal. Como tal, estratégias destinadas a reduzir a agregação e toxicidade de alfa-sinucleína podem possuir potencial terapêutico.

[00269] Neste ensaio, células progenitoras mesencefálicas humanas imortalizadas (ReNcell VM) semeadas em 10.000 células/cavidade em placas de 96 cavidades revestidas com laminina serão diferenciadas pela retirada de fatores de crescimento (bFGF, EGF) e pela adição de fatores pró-diferenciação (cAMP, GDNF) durante sete dias começando no dia 0 (D0). Também em D0, as células serão transferidas com um adenovírus que codifica a alfa-sinucleína humana do tipo selvagem. Após 24 horas, as células serão então tratadas com IC 100 e alfa-sinucleína, a expressão e agregação serão detectadas após 6 dias por imunocitoquímica utilizando anticorpos que detectam alfa/beta sinucleína (Syn205; Cell Signaling Technology) e alfa-sinucleína agregada (MJFR14; Abcam), seguido pela quantificação de HCA conforme descrito para o ensaio TOM20. Em última análise, o ensaio também conterá um controle positivo KU 0063794 10 μM e controle negativo DMSO 0,1% adicionado em D1 e D4.

Modalidades Numeradas da Invenção

[00270] Outro assunto contemplado pela presente invenção é estabelecido nas seguintes modalidades numeradas:

1. Um método de tratamento da inflamação nos pulmões de um paciente com sua necessidade, o método compreendendo: administrar ao paciente uma composição que compreende um agente que

inibe a sinalização do inflamassoma, pelo qual a inflamação nos pulmões do paciente é tratada.

2. O método de acordo com a modalidade 1, em que a inflamação nos pulmões é provocada por uma condição selecionada a partir de uma lesão do sistema nervoso central (CNS), uma doença neurodegenerativa, uma doença autoimune, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose cística, doença pulmonar intersticial e síndrome da angústia respiratória aguda.

3. O método de acordo com a modalidade 2, em que a lesão do CNS é selecionada a partir do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI).

4. O método acordo com 2, em que a doença neurodegenerativa é selecionada do grupo que consiste em esclerose lateral amiotrófica (ALS), esclerose múltipla (MS) e doença de Parkinson (PD).

5. O método de acordo com qualquer uma das modalidades acima, em que a administração da composição resulta na inibição da ativação do inflamassoma nas células pulmonares do paciente.

6. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 1 a 4, em que a administração da composição resulta em uma redução de caspase-1, domínio de pirina de repetição rico em leucina de ligação de nucleotídeo contendo proteína 1 (NLRP1), domínio de pirina de repetição rico em leucina de ligação de nucleotídeo contendo proteína 2 (NLRP2), domínio de pirina de repetição rico em leucina de ligação de nucleotídeo contendo proteína 3 (NLRP3), proteína 4 contendo o domínio CARD da família NLR (NLRC4), caspase-11, inibidor ligado a X da proteína de apoptose (XIAP), panexina-1, proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), interleucina-18 (IL-18), grupo de alta mobilidade box-1 (HMGB1), ou ausente nos níveis de melanoma 2 (AIM2)

nas células pulmonares do paciente em comparação com um controle, em que o controle é um paciente não tratado.

7. O método de acordo com a modalidade 5 ou 6, em que as células pulmonares são células alveolares do Tipo II.

8. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 1 a 5, em que a administração da composição resulta em uma redução na lesão pulmonar aguda (ALI) em comparação com um controle, em que o controle é um paciente não tratado.

9. O método de acordo com a modalidade 8, em que a redução na ALI é evidenciada por uma redução na infiltração de neutrófilos no espaço alveolar e/ou intersticial, espessamento septal alveolar reduzido ou ausente ou uma combinação dos mesmos.

10. O método de acordo com qualquer uma das modalidades acima, em que o agente é um inibidor da captação de vesículas extracelulares (EV), um anticorpo que se liga a um componente de inflamassoma ou uma combinação dos mesmos.

11. O método de acordo com a modalidade 10, em que o inibidor de captação de EV é um composto ou um anticorpo, em que o anticorpo é selecionado da Tabela 1.

12. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 10 a 11, em que o agente é um inibidor de captação de EV em combinação com um anticorpo que se liga a um componente de inflamassoma.

13. O método de acordo com a modalidade 12, em que o inibidor de captação de EV é uma heparina.

14. O método de acordo com a modalidade 13, em que a heparina é Enoxaparina.

15. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 10 a 14, em que o anticorpo que se liga a um componente de inflamassoma é um anticorpo que se liga especificamente a um com-

ponente de um inflamassoma AIM2, NLRP1, NLRP2, NLRP3 ou NLRC4 de mamífero.

16. O método de acordo com a modalidade 10 ou 15, em que o componente de inflamassoma é caspase-1, ASC ou AIM2.

17. O método de acordo com a modalidade 16, em que o componente de inflamassoma é ASC.

18. O método de acordo com a modalidade 17, em que o anticorpo se liga a um domínio N-terminal PYRIN-PAAD-DAPIN (PYD), domínio de recrutamento da caspase C-terminal (CARD) ou um epítopo derivado de domínio PYD ou CARD da proteína ASC.

19. O método de acordo com a modalidade 17, em que o anticorpo se liga a um aminoácido tendo pelo menos 85% de identidade de sequência com uma sequência de aminoácido selecionada a partir do grupo que consiste em SEQ ID NO: 1 e SEQ ID NO: 2.

20. O método, de acordo com qualquer uma das modalidades de 17 a 19, em que o anticorpo inibe a atividade de ASC nos pulmões do paciente.

21. O método de acordo com qualquer uma das modalidades acima, em que a composição é formulada com um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

22. O método de acordo com qualquer uma das modalidades acima, em que a composição é administrada por via intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

23. Um método de tratamento da inflamação nos pulmões de um paciente que foi submetido a uma lesão do sistema nervoso central (CNS), o método compreendendo: administrar ao paciente uma composição que compreende um agente que inibe a sinalização do inflamassoma, pelo qual a inflamação nos pulmões do paciente é tratada.

24. O método de acordo com a modalidade 23, em que a lesão do CNS é selecionada a partir do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI).

25. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 23 a 24, em que a administração da composição resulta na inibição da ativação do inflamassoma nas células pulmonares do paciente.

26. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 23 a 24, em que a administração da composição resulta em uma redução da caspase-1, NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRC4, caspase-11, XIAP, panexina-1, proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), interleucina-18 (IL-18), grupo de alta mobilidade box 1 (HMGB1) ou ausente nos níveis de melanoma 2 (AIM2) em células pulmonares do paciente em comparação com um controle, em que o controle é um paciente não tratado.

27. O método de acordo com a modalidade 25 ou 26, em que as células pulmonares são células alveolares do Tipo II.

28. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 23 a 27, em que a administração da composição resulta em uma redução da lesão pulmonar aguda (ALI) em comparação com um controle, em que o controle é um paciente não tratado.

29. O método de acordo com a modalidade 28, em que a redução na ALI é evidenciada por uma redução na infiltração de neutrófilos no espaço alveolar e/ou intersticial, espessamento septal alveolar reduzido ou ausente ou uma combinação dos mesmos.

30. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 23 a 29, em que o agente é um inibidor de captação de vesícu-

la extracelular (EV), um anticorpo que se liga a um componente de inflamassoma ou uma combinação dos mesmos.

31. O método de acordo com a modalidade 30, em que o inibidor de captação de EV é um composto ou um anticorpo, em que o anticorpo é selecionado da Tabela 1.

32. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 30 a 31, em que o agente é um inibidor de captação de EV em combinação com um anticorpo que se liga a um componente de inflamassoma.

33. O método de acordo com a modalidade 32, em que o inibidor de captação de EV é uma heparina.

34. O método de acordo com a modalidade 33, em que a heparina é Enoxaparina.

35. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 30 a 34, em que o anticorpo que se liga a um componente de inflamassoma é um anticorpo que se liga especificamente a um componente de um inflamassoma AIM2, NLRP1, NLRP2, NLRP3 ou NLRC4 de um mamífero.

36. O método de acordo com a modalidade 30 ou 35, em que o componente do inflamassoma é caspase-1, ASC ou AIM2.

37. O método de acordo com a modalidade 36, em que o componente inflamassoma é ASC.

38. O método de acordo com a modalidade 37, em que o anticorpo se liga ao domínio PYD, CARD ou um epítopo derivado do domínio PYD ou CARD da proteína ASC.

39. O método de acordo com a modalidade 37, em que o anticorpo se liga a um aminoácido com pelo menos 85% de identidade de sequência com uma sequência de aminoácido selecionada do grupo que consiste em SEQ ID NO: 1 e SEQ ID NO: 2.

40. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 37 a 39, em que o anticorpo inibe a atividade de ASC nos pulmões do paciente.

41. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 23 a 40, em que a composição é formulada com um veículo ou diluente farmaceuticamente aceitável.

42. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 23 a 41, em que a composição é administrada por via intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamene ou por inalação.

43. Um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga à proteína tipo Spec associada a apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), em que o anticorpo ou fragmento de anticorpo se liga especificamente a um epítopo de ASC, em que o epítopo compreende ou consiste na sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 5 ou 5 a 10, 10 a 15 ou 15 a 20 aminoácidos da SEQ ID NO: 5.

44. Um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante da mesma tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3.

45. Um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia leve (VL) e uma região variável de cadeia pesada (VH), em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou

uma variante da mesma tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3.

46. Um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, em que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL), em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante desta tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante da mesma tendo pelo menos uma substituição de aminoácido em LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3.

47. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 44, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22.

48. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 45, em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31.

49. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%,

98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31.

50. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

51. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

52. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

53. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

54. O anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

55. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

56. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30

ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

57. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

58. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

59. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

60. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99%

idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

61. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

62. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

63. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

64. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de ami-

noácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

65. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

66. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

67. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

68. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

69. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com a modalidade 46, em que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

70. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 69, em que o ASC é a proteína ASC humana.

71. O fragmento de anticorpo monoclonal de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 70, em que o fragmento de anticorpo é um Fab, um $F(ab')_2$, um Fab', um scFv, um anticorpo de domínio único, um diacorpo ou um anticorpo de camelídeo de cadeia única.

72. O anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 71, em que o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo é humano, humanizado ou quimérico.

73. Uma molécula de ácido nucleico isolada que codifica o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 72.

74. Um vetor de expressão que compreende a molécula de ácido nucleico de acordo com a modalidade 73.

75. O vetor de expressão de acordo com a modalidade 32, em que a molécula de ácido nucleico está ligada de maneira operável às sequências reguladoras adequadas para a expressão do segmento de ácido nucleico em uma célula hospedeira.

76. Uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão de acordo com a modalidade 74 ou 75.

77. Um método para a produção de um anticorpo ou fragmento de anticorpo que se liga especificamente ao ASC, o método compreendendo: cultivar uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão de acordo com a modalidade 74 ou 75 sob condições em que a molécula de ácido nucleico é expressa, produzindo assim o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC.

78. Uma composição farmacêutica que compreende o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 72, e um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

79. Um método de tratamento da inflamação em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 72, tratando assim a inflamação no indivíduo.

80. O método de acordo com a modalidade 79, em que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória.

81. O método de acordo com a modalidade 80, em que a inflamação é uma inflamação relacionada ao inflamassoma.

82. O método de acordo com a modalidade 81, em que a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma lesão do sistema nervoso central (CNS), uma doença autoimune, autoinflamatória, metabólica ou neurodegenerativa.

83. O método de acordo com a modalidade 82, em que a lesão do CNS selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI).

84. O método de acordo com a modalidade 82, em que a doença autoimune ou neurodegenerativa é esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson, distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, doença de Crohn e colite ulcerativa) ou esclerose múltipla (MS).

85. O método de acordo com a modalidade 82, em que a doença autoinflamatória é a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS).

86. O método de acordo com a modalidade 85, em que a CAPS é selecionada da síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID).

87. O método de acordo com a modalidade 82, em que a doença metabólica é síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, um distúrbio de armazenamento de lipídios, uma doença de armazenamento de glicogênio, deficiência da acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteatohepatite não alcoólica (NASH)) e gota.

88. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 79 a 87, em que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo.

89. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 79 a 87, em que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle.

90. O método de acordo com a modalidade 89, em que o controle é um indivíduo não tratado.

91. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 79 a 90, em que a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

92. O método de tratamento de esclerose múltipla (MS) em um indivíduo, o método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo de acordo com qualquer uma das modalidades de 44 a 72, tratando assim a MS no indivíduo.

93. O método de acordo com a modalidade 92, em que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória.

94. O método de acordo com a modalidade 92, em que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação do inflamassoma no indivíduo.

95. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 92 a 94, em que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle.

96. O método de acordo com a modalidade 95, em que o controle é um indivíduo não tratado.

97. O método de acordo com qualquer uma das modalidades de 92 a 96, em que a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

[00271] As várias modalidades descritas acima podem ser combinadas para fornecer outras modalidades. Todas as patentes U.S., publicações de pedidos de patentes U.S., pedidos de patentes U.S., patentes estrangeiras, pedidos de patentes estrangeiras e publicações não patentes referidas neste relatório descritivo são incorporados nesta invenção por referência, na sua totalidade. Os aspectos das modalidades podem ser modificados, se necessário para usar conceitos das várias patentes, pedidos e publicações para fornecer ainda mais outras modalidades.

[00272] Estas e outras alterações podem ser feitas nas modalidades à luz da descrição detalhada acima. Em geral, nas seguintes reivindicações, os termos utilizados não devem ser interpretados para limitar as reivindicações às modalidades específicas descritas no relatório descritivo e nas reivindicações, mas devem ser interpretados de modo a incluir todas as possíveis modalidades juntamente com o escopo completo de equivalentes aos quais tais reivindicações são designadas. Consequentemente, as reivindicações não são limitadas pela invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga à proteína tipo Spec associada à apoptose contendo um Domínio de Ativação e Recrutamento da Caspase (ASC), caracterizado pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de anticorpo se liga especificamente a um epitopo de ASC, em que o epitopo compreende ou consiste na sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 5 ou 5 a 10, 10 a 15 ou 15 a 20 aminoácidos da SEQ ID NO: 5.

2. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, caracterizado pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia leve (VL),

em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante destas tendo pelo menos uma substituição de aminoácido na HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3.

3. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, caracterizado pelo fato de que o anticorpo ou fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia leve (VL) e uma região variável de cadeia pesada (VH),

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante das mesmas tendo pelo menos uma substituição de aminoácido na LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3.

4. Anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC, caracterizado pelo fato de que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo compreende uma região variável de cadeia pesada (VH) e uma região variável de cadeia

leve (VL),

em que a sequência de aminoácido da região VH compreende HCDR1 da SEQ ID NO: 6, HCDR2 da SEQ ID NO: 7 e HCDR3 da SEQ ID NO: 8, ou uma variante destas tendo pelo menos uma substituição de aminoácido na HCDR1, HCDR2 e/ou HCDR3; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende LCDR1 da SEQ ID NO: 12, LCDR2 da SEQ ID NO: 13 e LCDR3 da SEQ ID NO: 14, ou uma variante das mesmas tendo pelo menos uma substituição de aminoácido na LCDR1, LCDR2 e/ou LCDR3.

5. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22.

6. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31.

7. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 ou 22; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência

de aminoácido da SEQ ID NO: 28, 29, 30 ou 31.

8. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

9. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 18; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

10. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 18; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoá-

cido da SEQ ID NO: 30.

11. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 18, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 18; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

12. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

13. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoá-

cido da SEQ ID NO: 29.

14. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

15. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 19, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 19; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

16. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoá-

cido da SEQ ID NO: 28.

17. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

18. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

19. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 20, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 20; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoá-

cido da SEQ ID NO: 31.

20. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

21. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 29.

22. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoá-

cido da SEQ ID NO: 30.

23. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 21, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 21; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

24. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 28 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 28.

25. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 29 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoá-

cido da SEQ ID NO: 29.

26. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 22; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 30 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 30.

27. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a sequência de aminoácido da região VH compreende a SEQ ID NO: 22, ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido de SEQ ID NO: 22; e

em que a sequência de aminoácido da região VL compreende a SEQ ID NO: 31 ou uma sequência de aminoácido que é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% idêntica à sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 31.

28. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 27, caracterizado pelo fato de que o ASC é a proteína ASC humana.

29. Fragmento de anticorpo monoclonal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 27, caracterizado pelo fato de que o fragmento de anticorpo é um Fab, um $F(ab')_2$, um Fab', um scFv, um anticorpo de domínio único, um diacorpo ou um anticorpo de camelídeo de cadeia única.

30. Anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo do

mesmo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 27, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo é humano, humanizado ou quimérico.

31. Molécula de ácido nucleico isolada, caracterizada pelo fato de que codifica o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo, como definido em qualquer uma das reivindicações 2 a 27.

32. Vetor de expressão, caracterizado pelo fato de que compreende a molécula de ácido nucleico, como definida na reivindicação 31.

33. Vetor de expressão, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que a molécula de ácido nucleico está ligada de maneira operável às sequências reguladoras adequadas para a expressão do segmento de ácido nucleico em uma célula hospedeira.

34. Célula hospedeira recombinante, caracterizada pelo fato de que compreende o vetor de expressão, como definido na reivindicação 32.

35. Método para a produção de um anticorpo ou um fragmento de anticorpo que se liga especificamente ao ASC, caracterizado pelo fato de que compreende:

cultivar uma célula hospedeira recombinante compreendendo o vetor de expressão, como definido na reivindicação 32, sob condições em que a molécula de ácido nucleico é expressa, produzindo assim o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo que se liga especificamente ao ASC.

36. Composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que compreende o anticorpo monoclonal ou o fragmento de anticorpo do mesmo, como definido em qualquer uma das reivindicações 2 a 27, e um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

37. Método de tratamento da inflamação em um indivíduo,

caracterizado pelo fato de que compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo, como definido em qualquer uma das reivindicações 2 a 27, tratando assim a inflamação no indivíduo.

38. Método, de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, caracterizado pelo fato de que a inflamação é uma inflamação relacionada ao inflamassoma.

40. Método, de acordo com a reivindicação 39, caracterizado pelo fato de que a inflamação relacionada ao inflamassoma está associada a uma lesão do sistema nervoso central (CNS), uma doença autoimune, autoinflamatória, metabólica ou neurodegenerativa.

41. Método, de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que a lesão do CNS é selecionada do grupo que consiste em lesão cerebral traumática (TBI), acidente vascular cerebral e lesão da medula espinhal (SCI).

42. Método, de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que a doença autoimune ou neurodegenerativa é a esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Alzheimer, doença de Parkinson, distrofia muscular (MD), lúpus eritematoso sistêmico, nefrite lúpica, artrite reumatoide, doença inflamatória intestinal (por exemplo, Doença de Crohn e colite ulcerosa) ou esclerose múltipla (MS).

43. Método, de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que a doença autoinflamatória é a síndrome periódica associada à criopirina (CAPS).

44. Método, de acordo com a reivindicação 43, caracteriza-

do pelo fato de que a CAPS é selecionada de síndrome autoinflamatória familiar do frio (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) e doença inflamatória multissistêmica de início neonatal (NOMID).

45. Método, de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que a doença metabólica é síndrome metabólica, obesidade, diabetes melito, nefropatia diabética ou doença renal diabética (DKD), resistência à insulina, aterosclerose, um distúrbio de armazenamento de lipídios, uma doença de armazenamento de glicogênio, deficiência da acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média, doença hepática gordurosa não alcoólica (por exemplo, esteato-hepatite não alcoólica (NASH)) e gota.

46. Método, de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação de inflamassoma no indivíduo.

47. Método, de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle.

48. Método, de acordo com a reivindicação 47, caracterizado pelo fato de que o controle é um indivíduo não tratado.

49. Método, de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

50. Método de tratamento de esclerose múltipla (MS) em um indivíduo, caracterizado pelo fato de que compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade terapeuticamente eficaz do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo, como definido em qualquer uma das reivindicações 2 a 27, tratando assim a MS no indivíduo.

51. Método, de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo reduz os níveis de pelo menos a citocina inflamatória.

52. Método, de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta na inibição da ativação de inflamassoma no indivíduo.

53. Método, de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que a administração do anticorpo monoclonal ou do fragmento de anticorpo do mesmo resulta em uma redução na atividade de ASC em comparação com um controle.

54. Método, de acordo com a reivindicação 53, caracterizado pelo fato de que o controle é um indivíduo não tratado.

55. Método, de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que a administração é intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosamente ou por inalação.

FIG. 1A

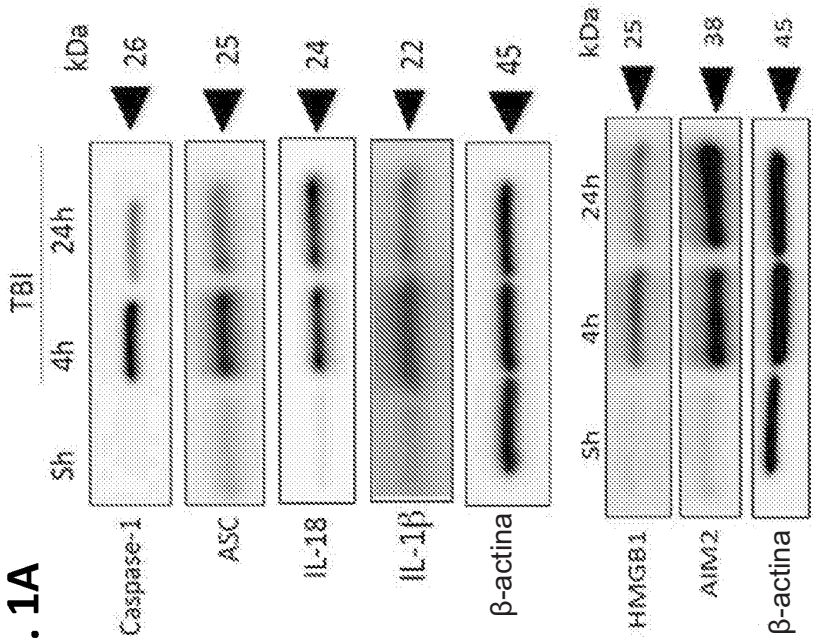


FIG. 1B

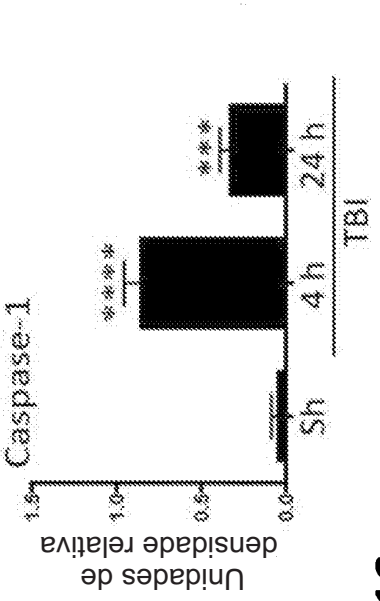
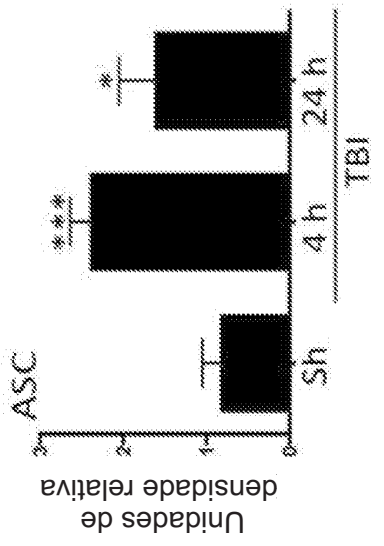


FIG. 1C



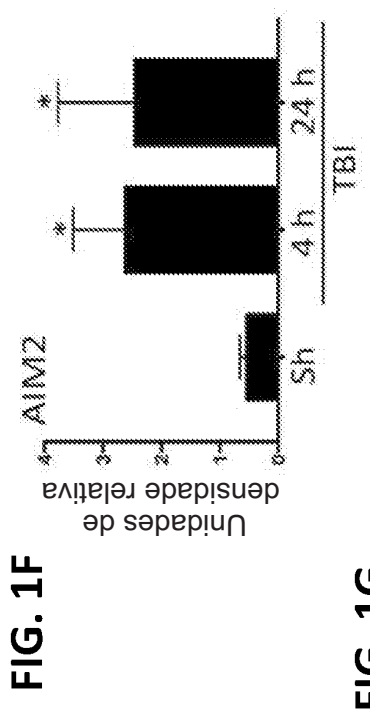


FIG. 1F

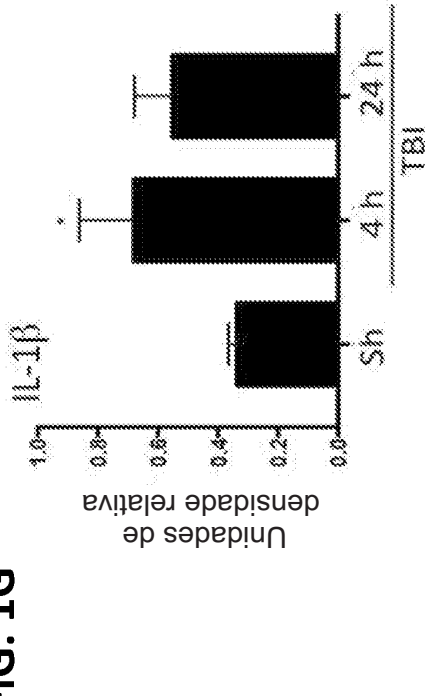


FIG. 1G

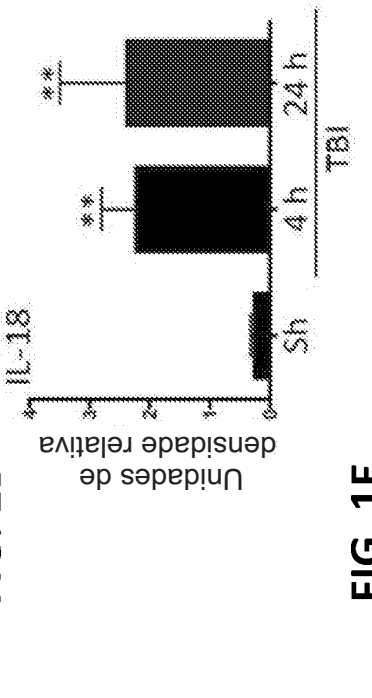


FIG. 1D

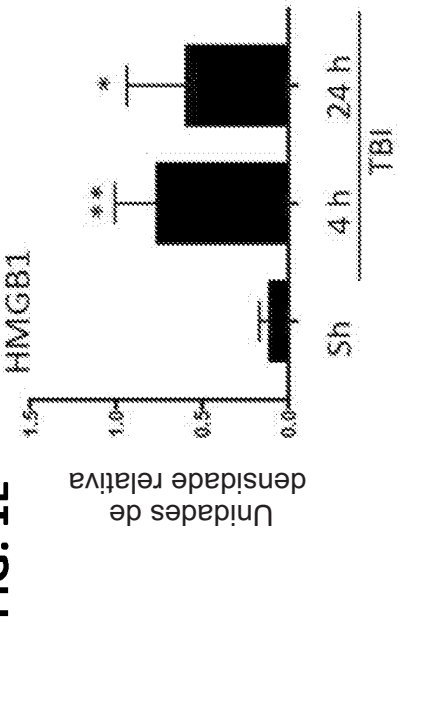


FIG. 1E

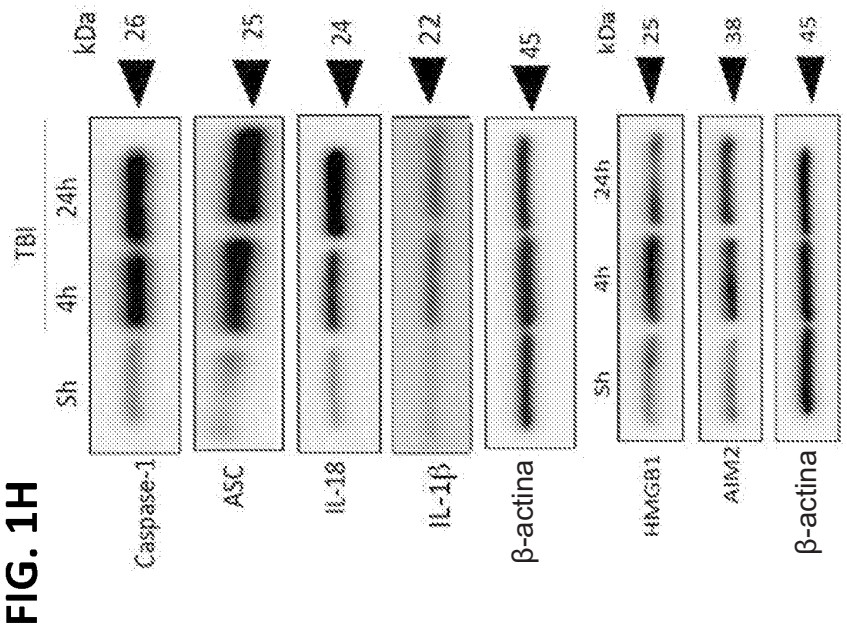


FIG. 1H
TBI
Sh
4h
24h
kDa
Caspase-1
26
ASC
25
IL-18
24
IL-1β
22
β-actina
45
HMGB1
25
AIM2
38
β-actina
45

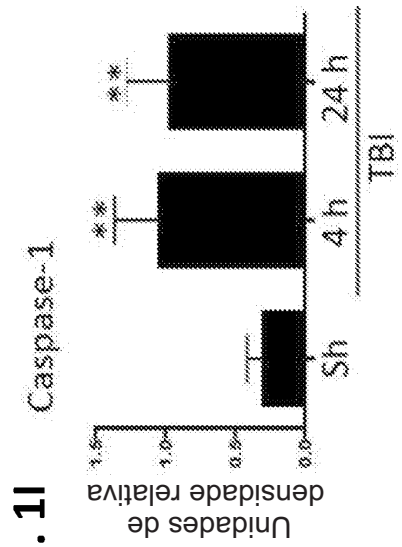


FIG. 1I
Caspase-1
Unidades de densidade relativa
Sh
4 h
24 h
TBI

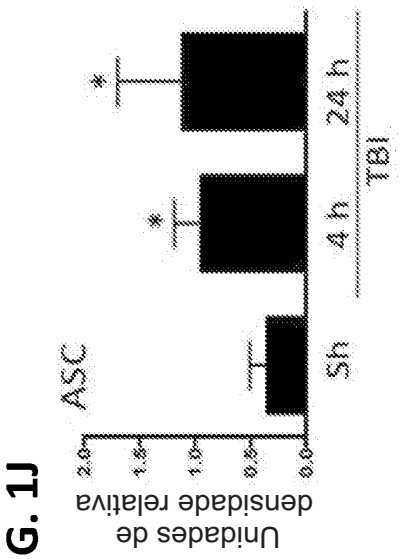


FIG. 1J
ASC
Unidades de densidade relativa
Sh
4 h
24 h
TBI

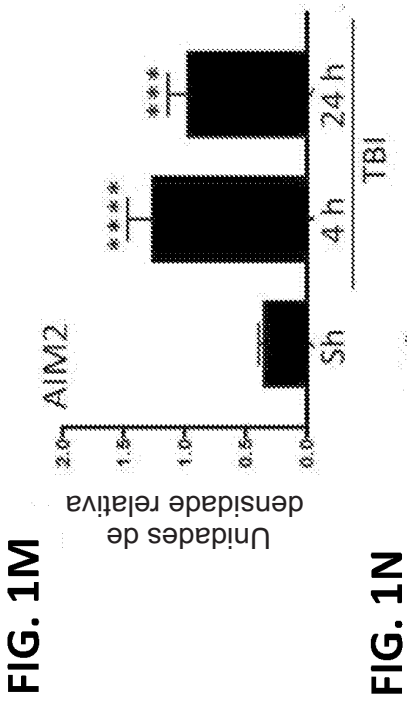


FIG. 1M

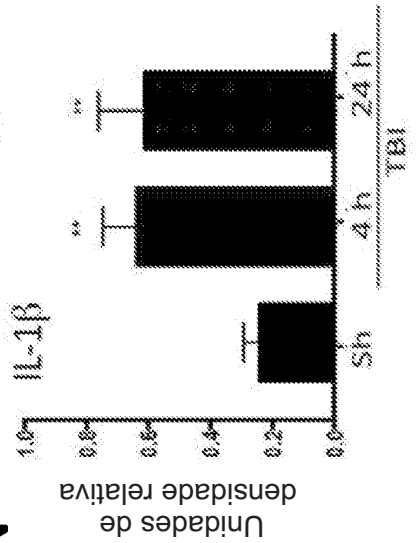


FIG. 1N

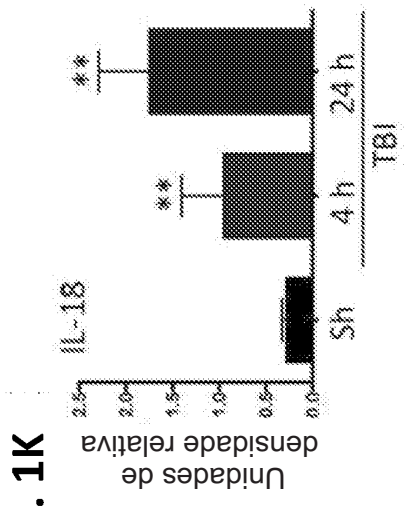


FIG. 1K

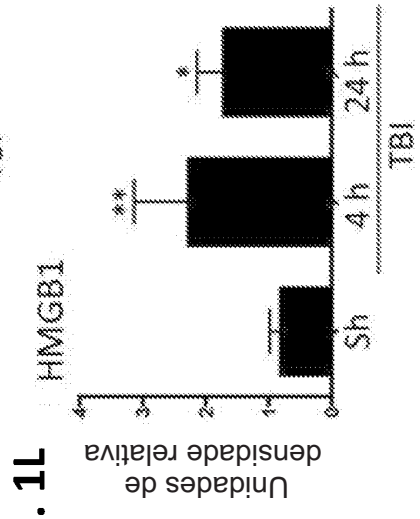


FIG. 1L

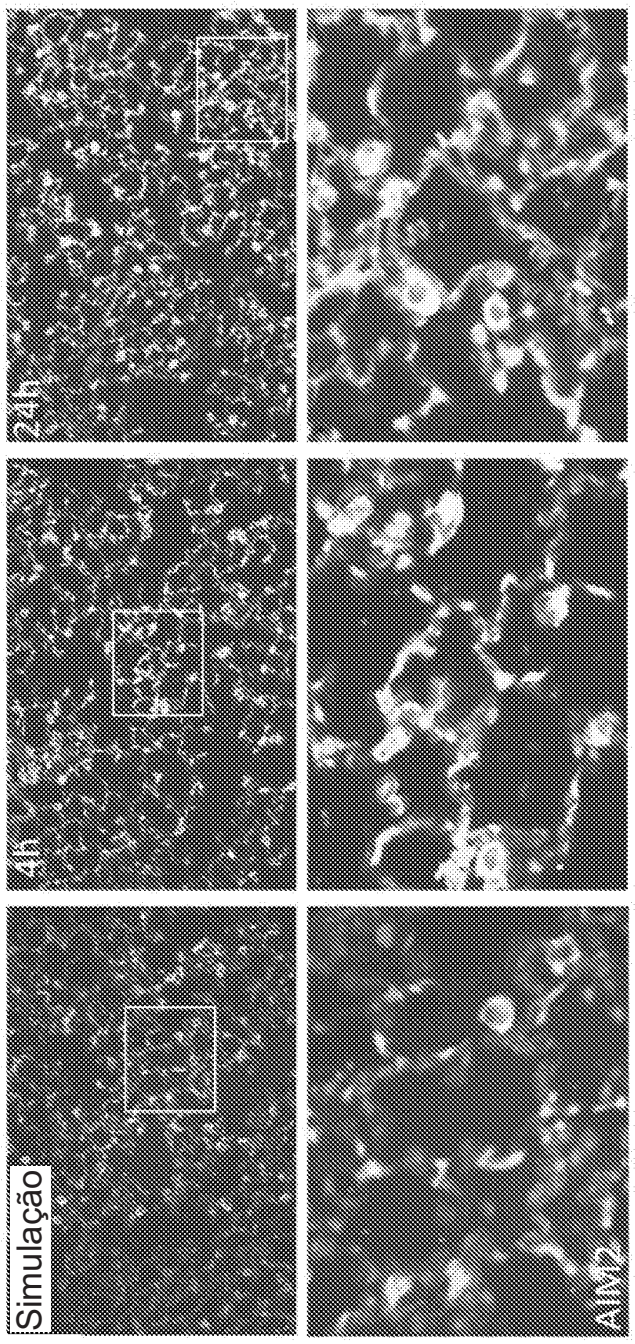


FIG. 2A

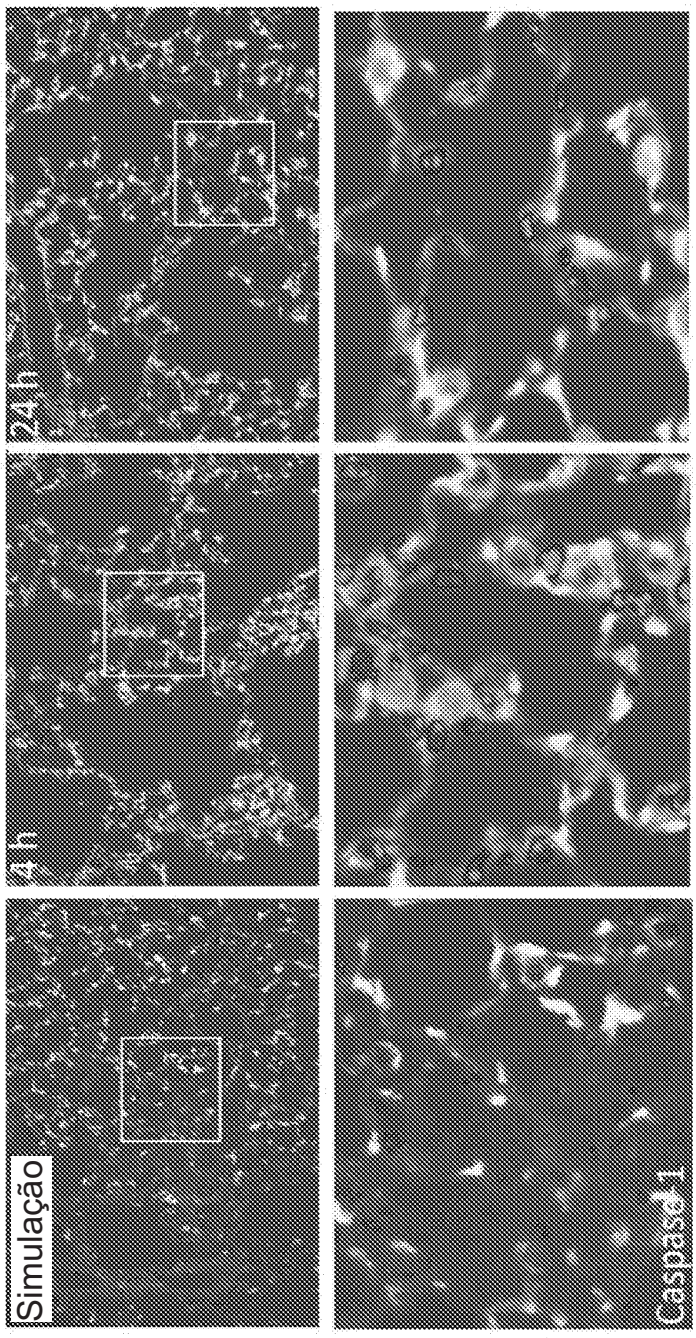


FIG. 2B

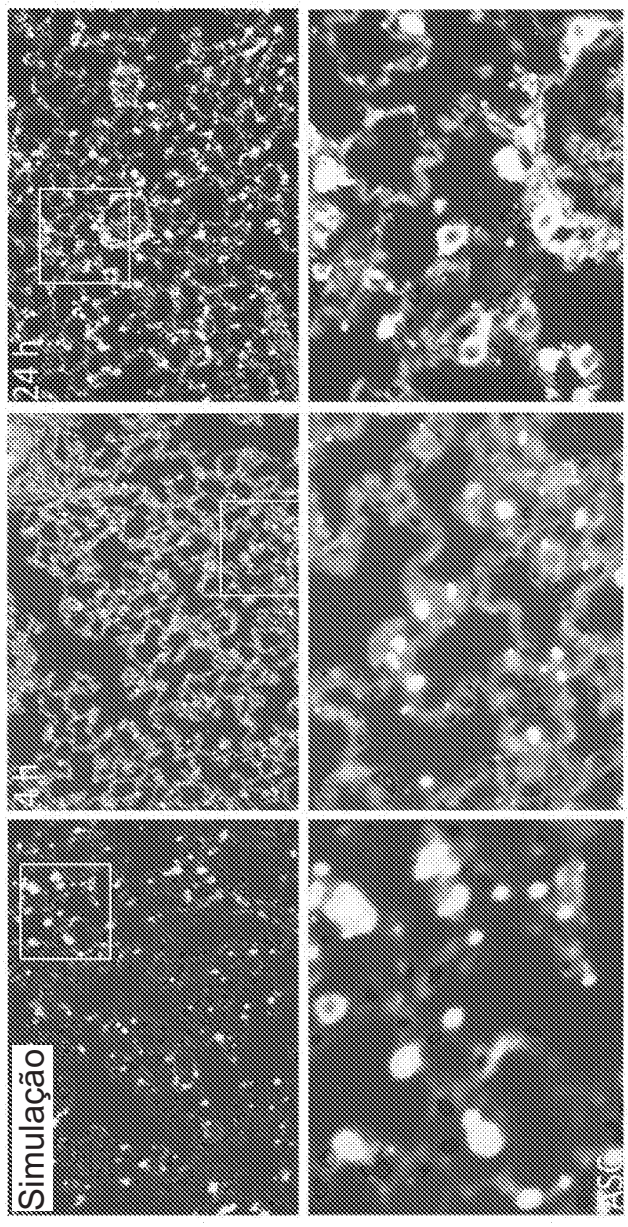


FIG. 2C

FIG. 3A

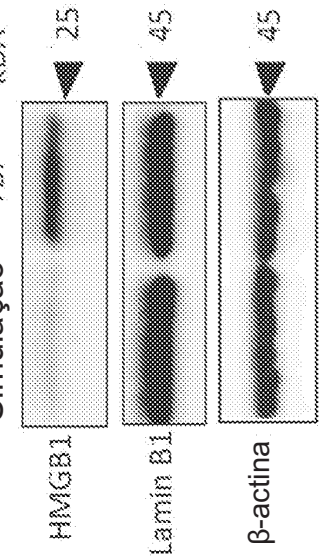


FIG. 3B

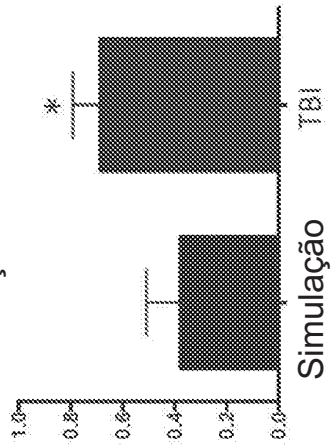


FIG. 3C

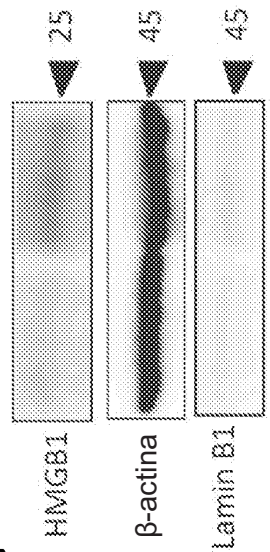


FIG. 3D

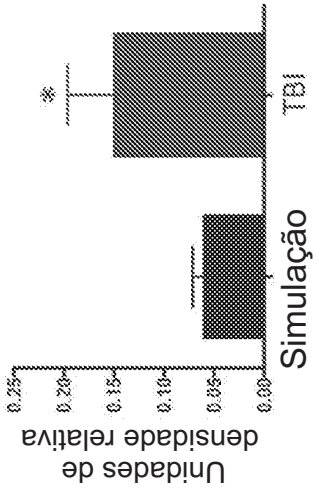


FIG. 3E

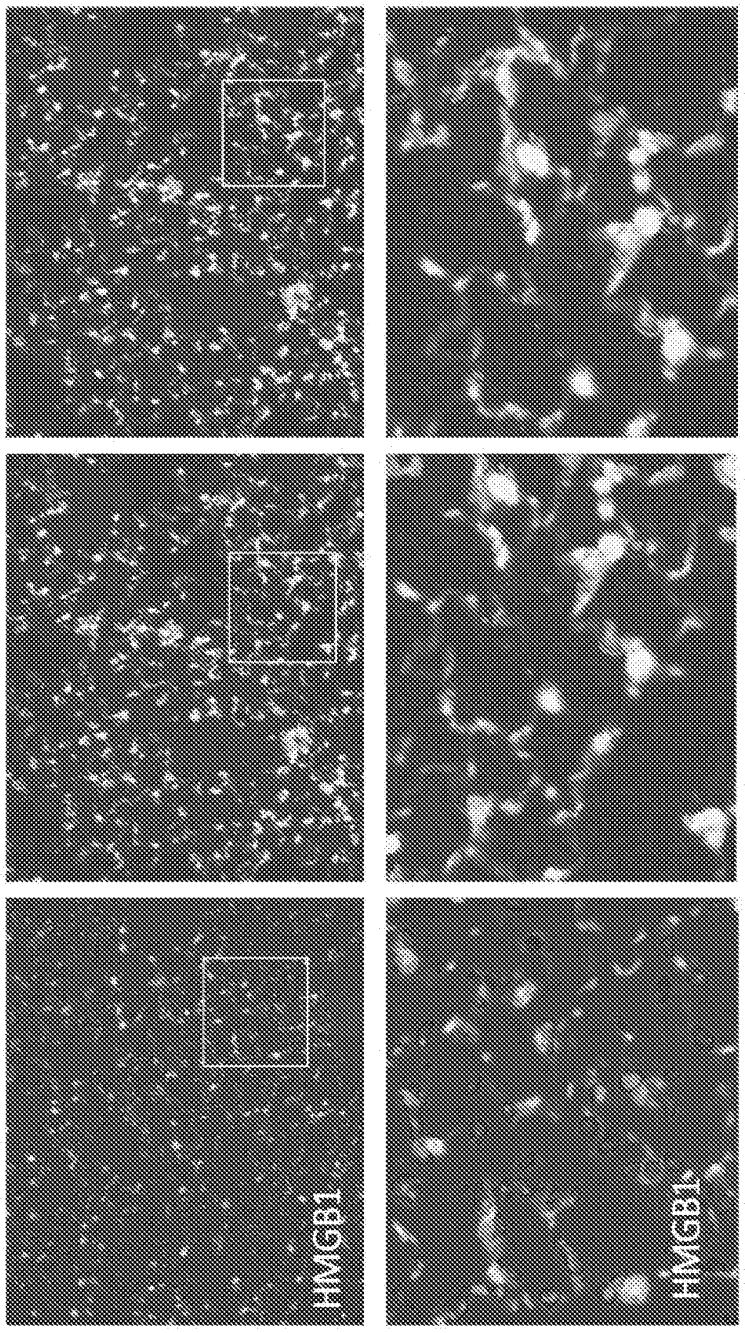


FIG. 4A

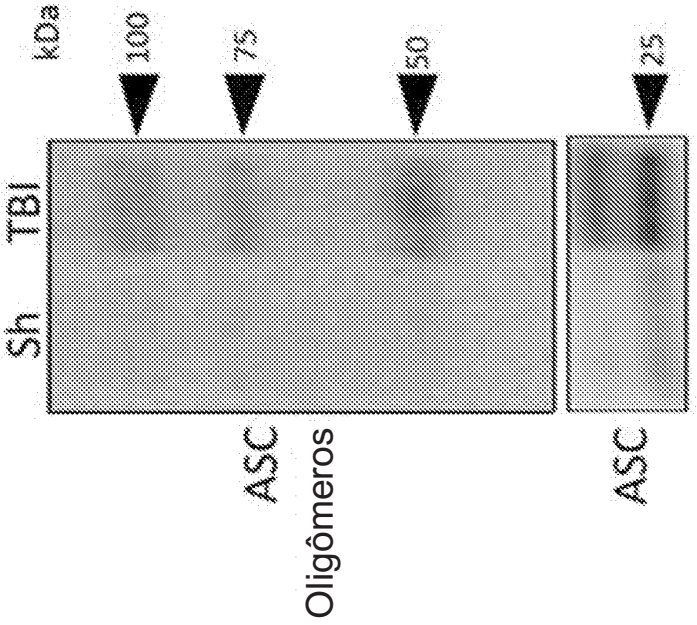


FIG. 4B

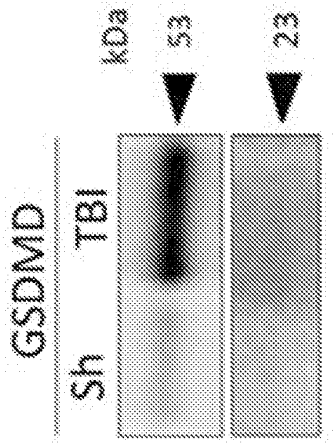


FIG. 4C

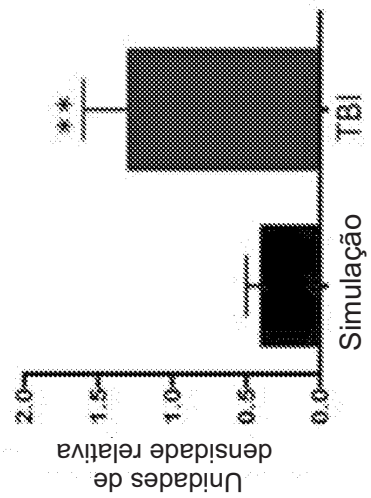
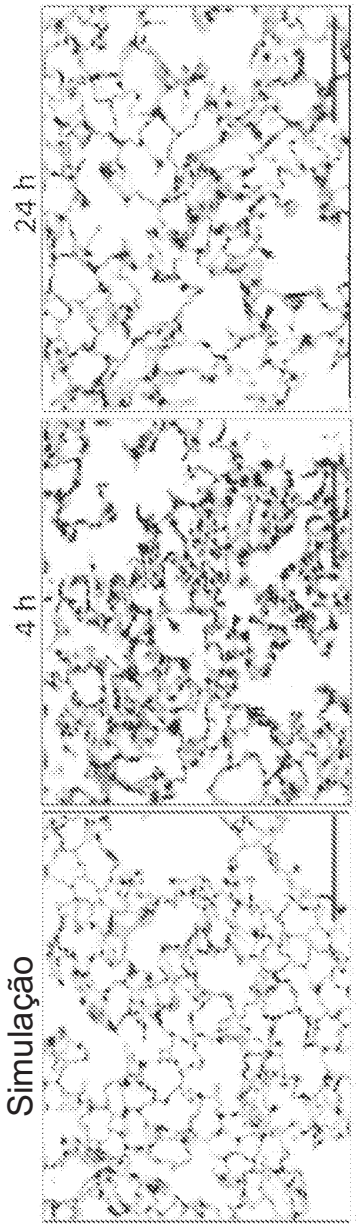


FIG. 5A


Simulação
4 h
24 h

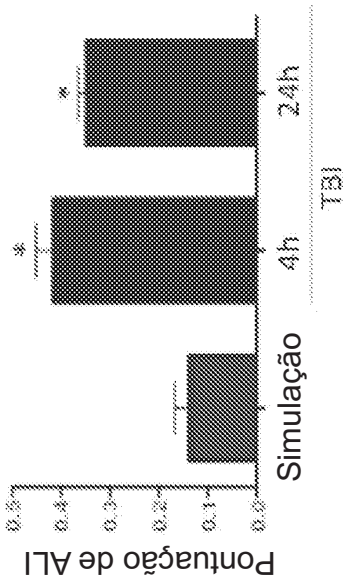

Pontuação de ALI
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
*
*
Simulação
4h
24h
TBI

FIG. 5B

FIG. 6

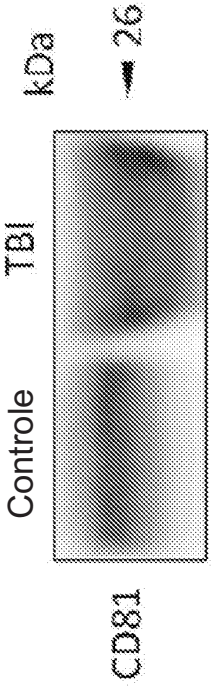


FIG. 7A

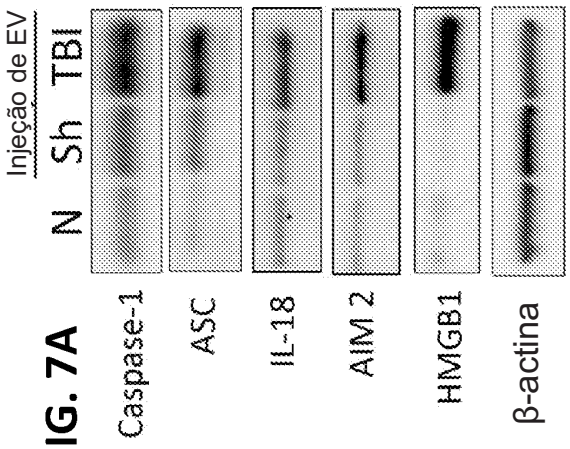


FIG. 7B

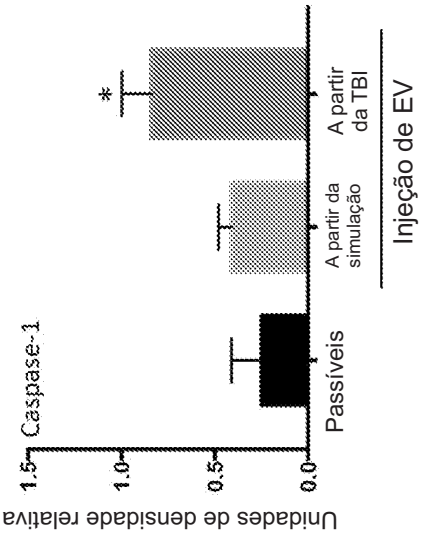


FIG. 7C

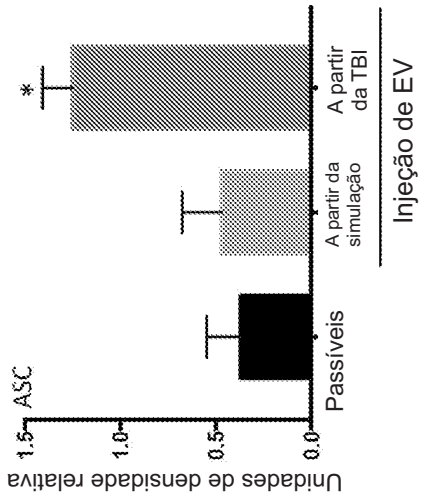


FIG. 7D

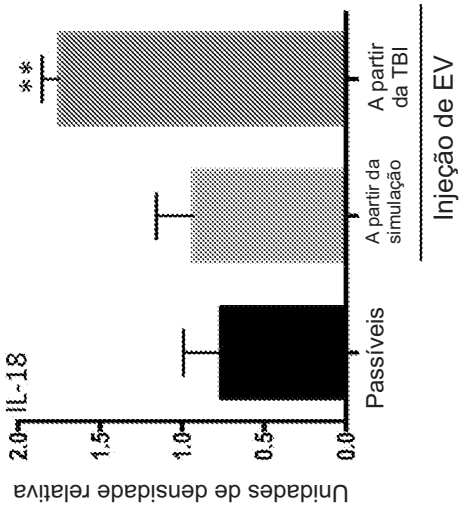


FIG. 7E

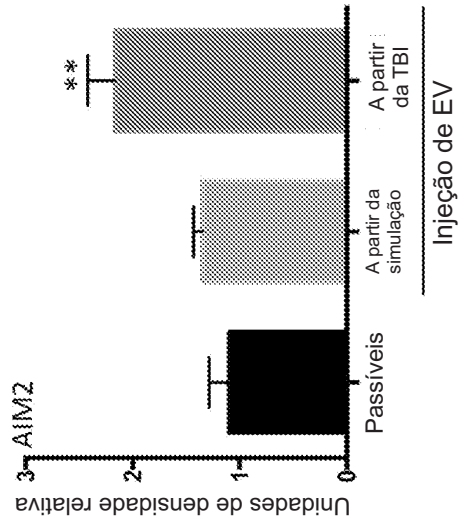


FIG. 7F

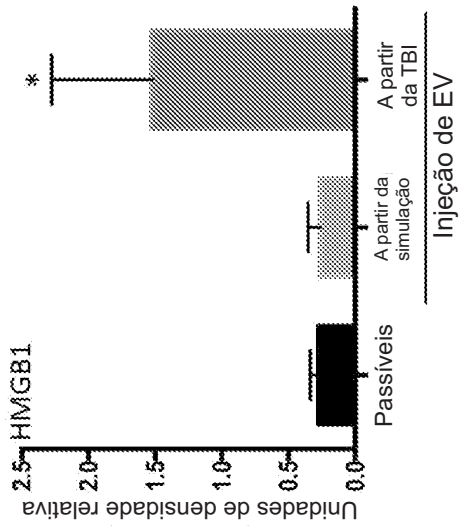


FIG. 7G

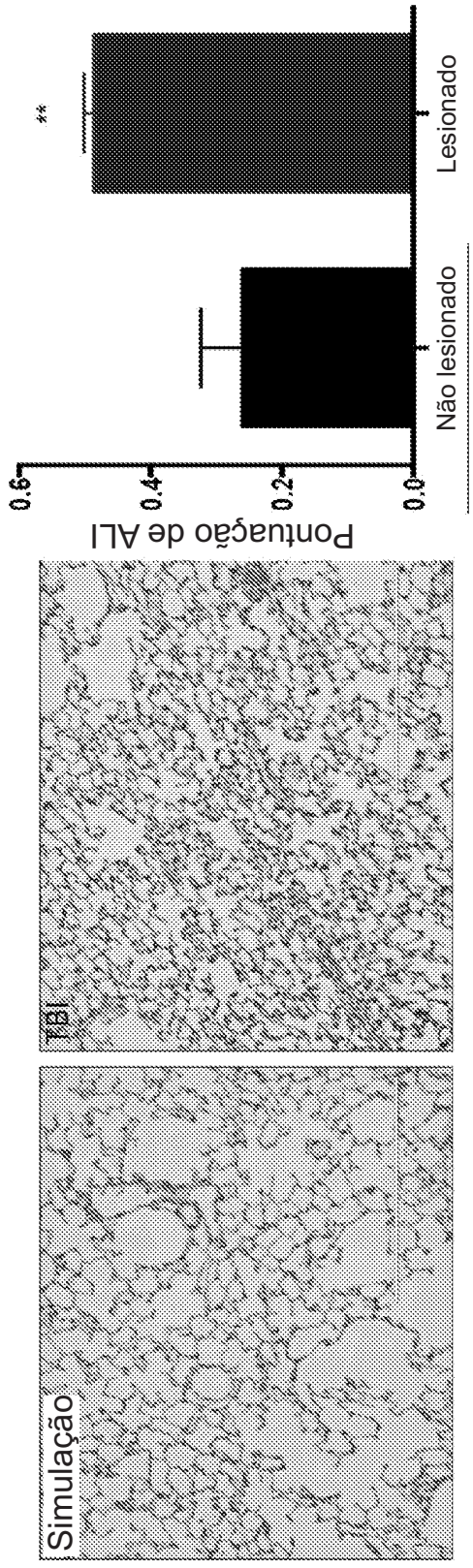

Simulação
TBI
Pontuação de ALI
0.0
0.2
0.4
0.6
**
Não lesionado
Lesionado

FIG. 8A

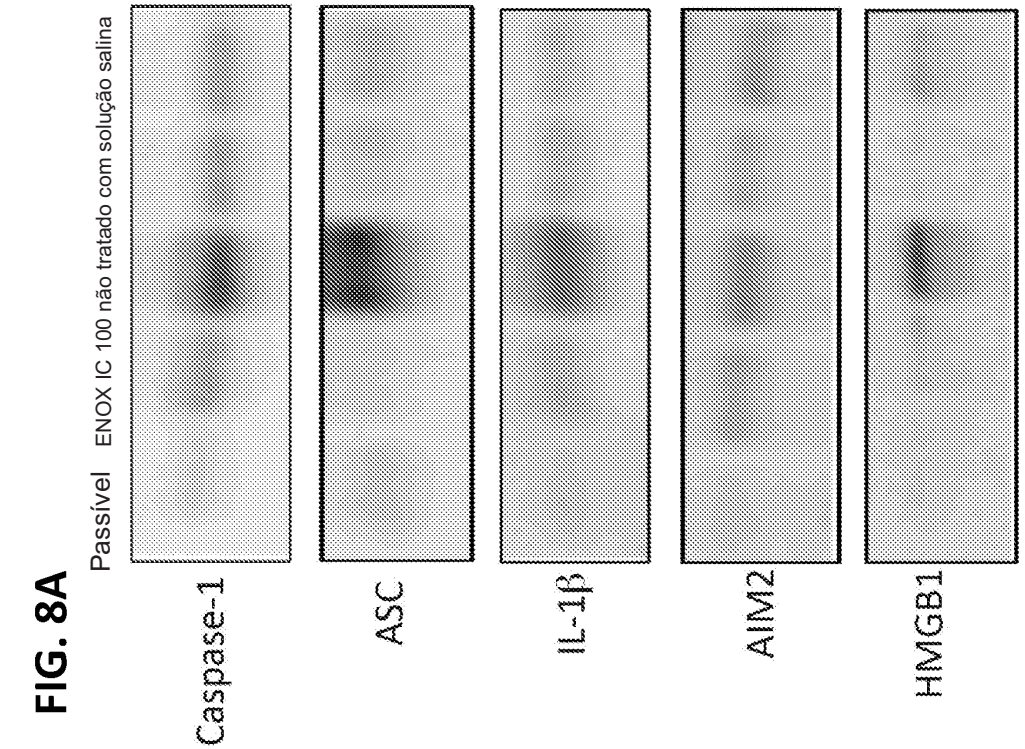


FIG. 8B

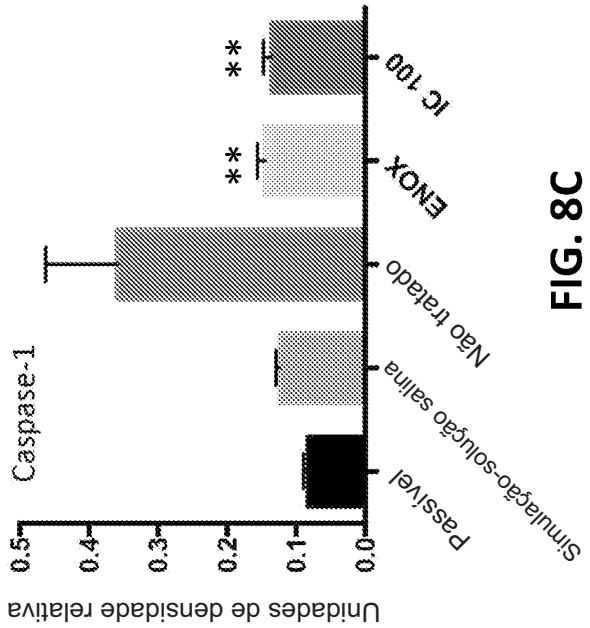
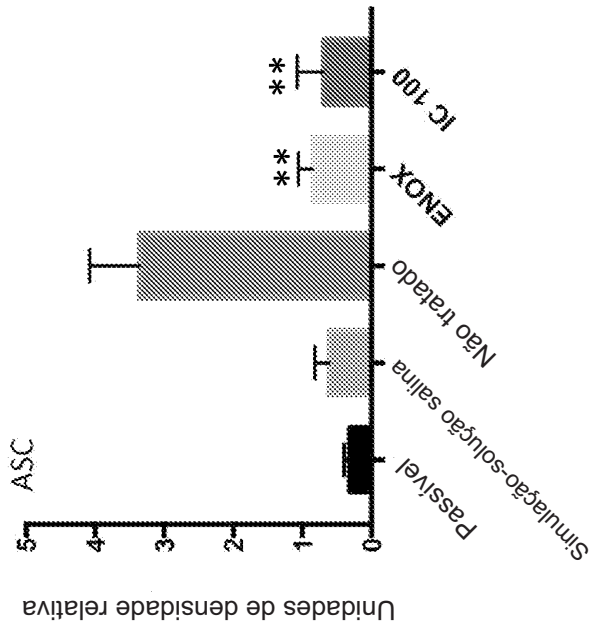


FIG. 8C



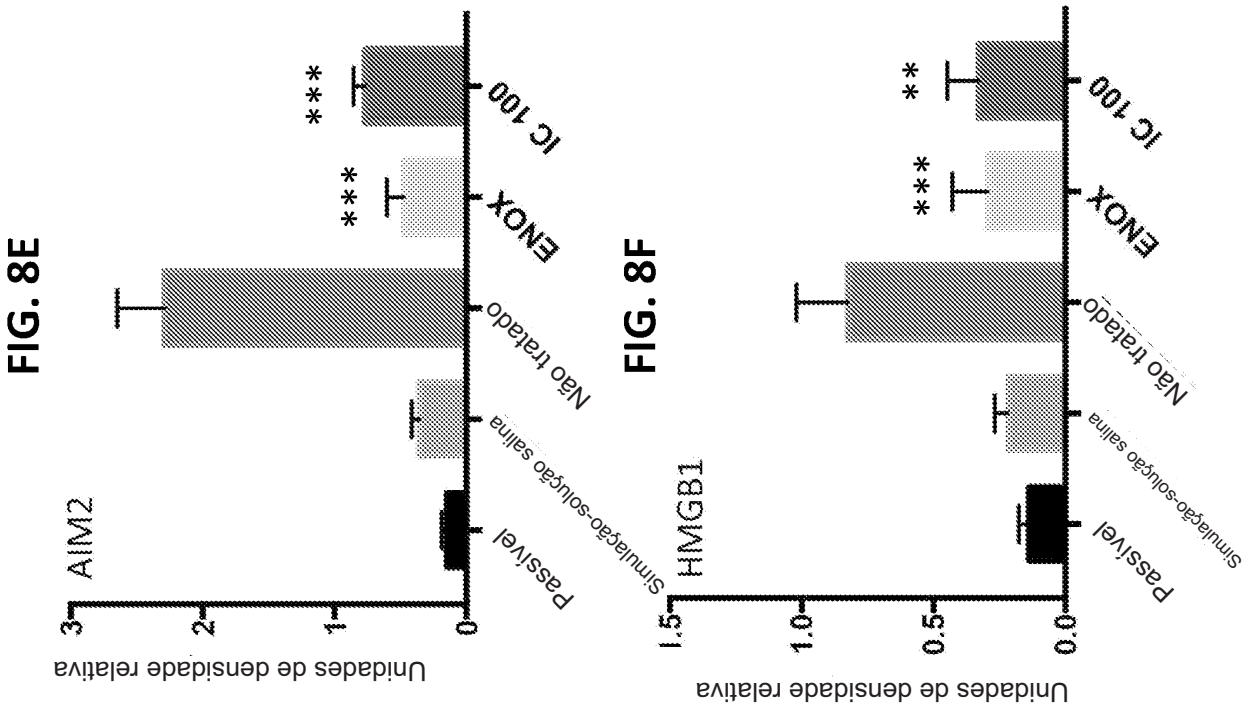


FIG. 8E
AIM2
Unidades de densidade relativa
0
1
2
3
Passivel
Simulação-solução salina
Não tratado
ENOX
IC 100
***
***
FIG. 8F
HMGB1
Unidades de densidade relativa
0,0
0,5
1,0
1,5
Passivel
Simulação-solução salina
Não tratado
ENOX
IC 100
***
**

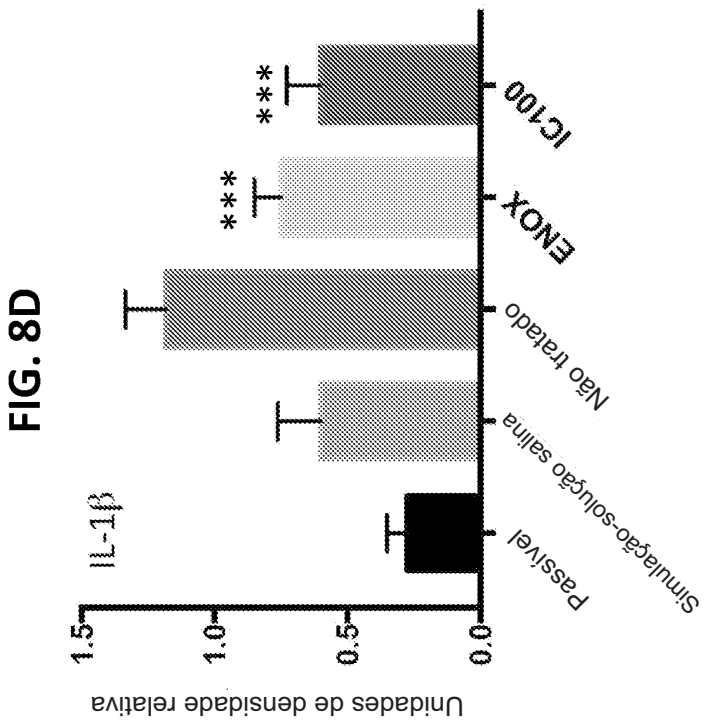


FIG. 8D
IL-1β
Unidades de densidade relativa
0,0
0,5
1,0
1,5
Passivel
Simulação-solução salina
Não tratado
ENOX
IC100
***
***

FIG. 9A Veículo simulado

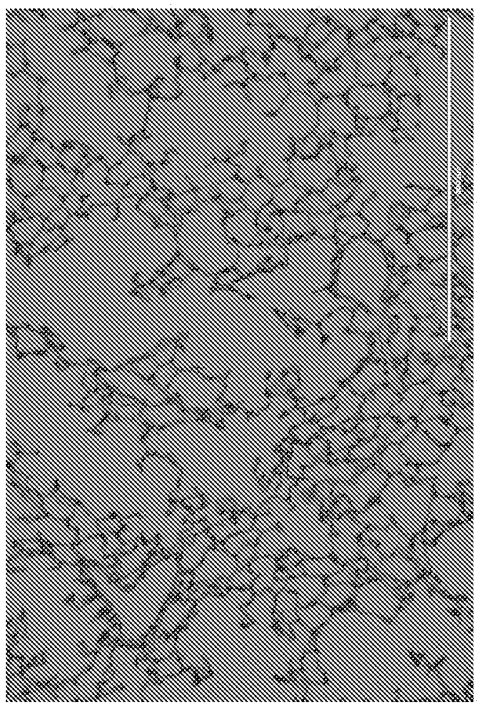


FIG. 9B Não tratado

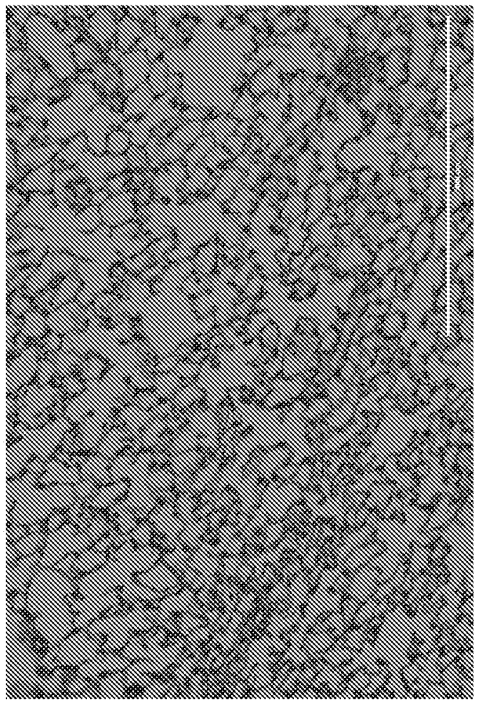


FIG. 9C ENOX

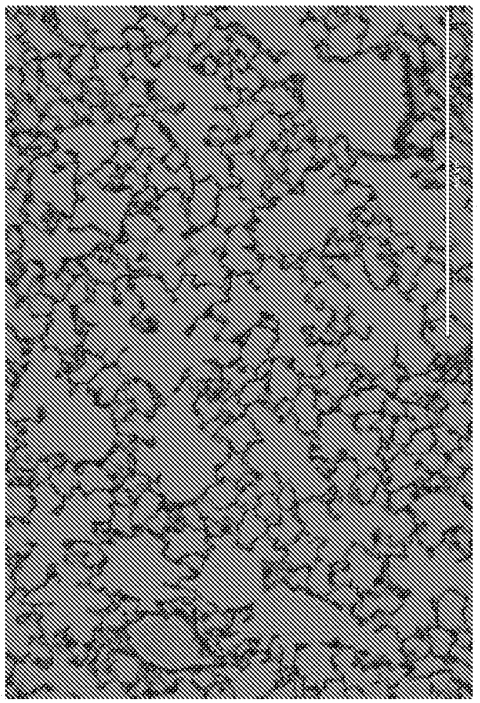
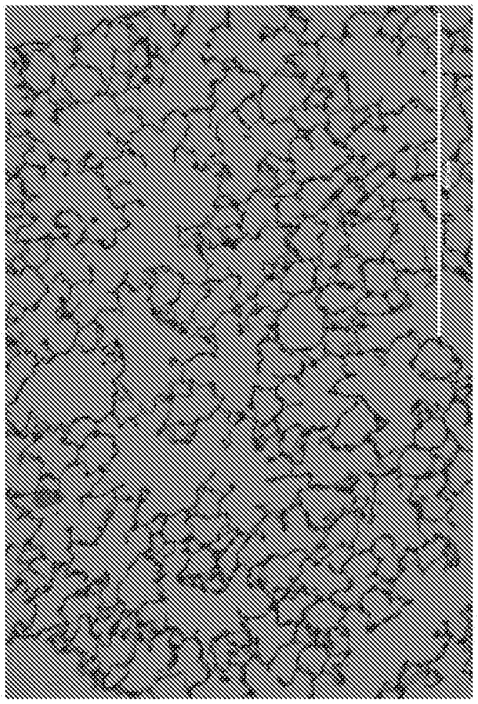


FIG. 9D ANTI-ASC



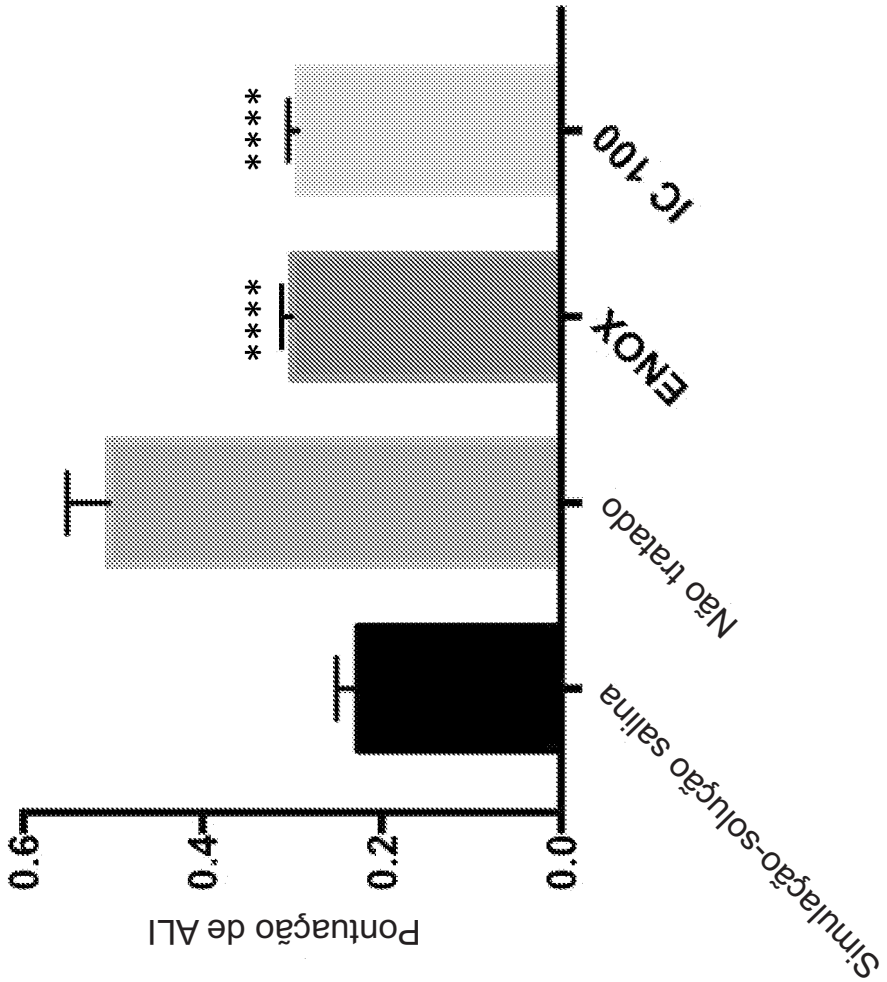

Pontuação de ALI
0.0
0.2
0.4
0.6
Simulação-solução salina
Não tratado
ENOX
IC 100
****
****

FIG. 9E

FIG. 10A

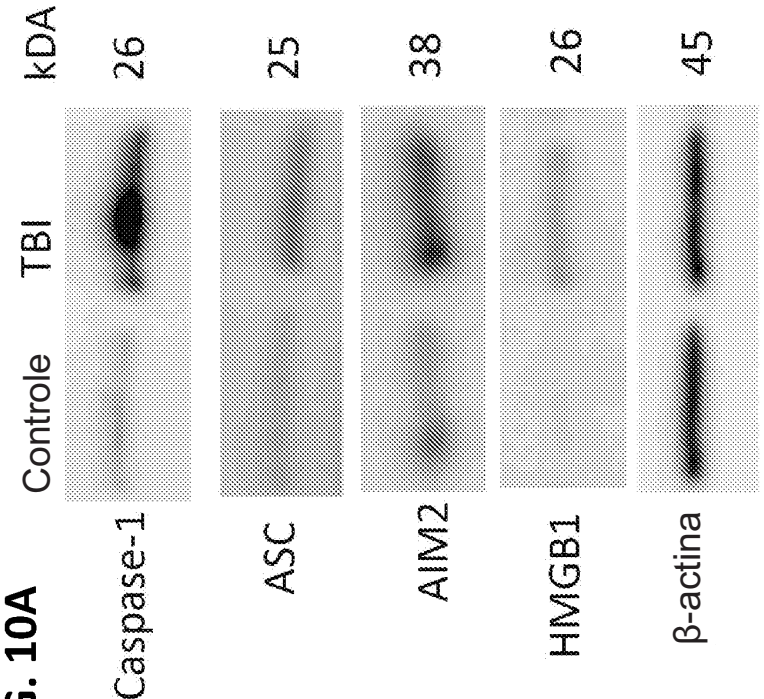


FIG. 10B

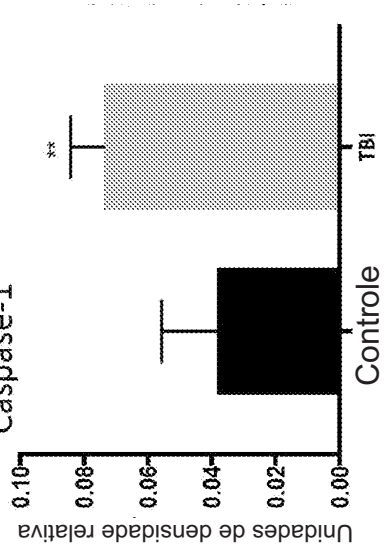


FIG. 10C

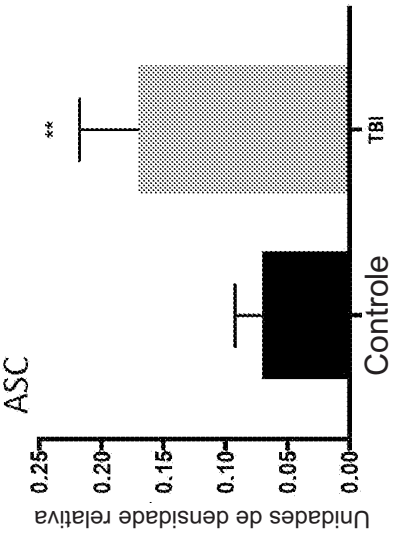


FIG. 10D

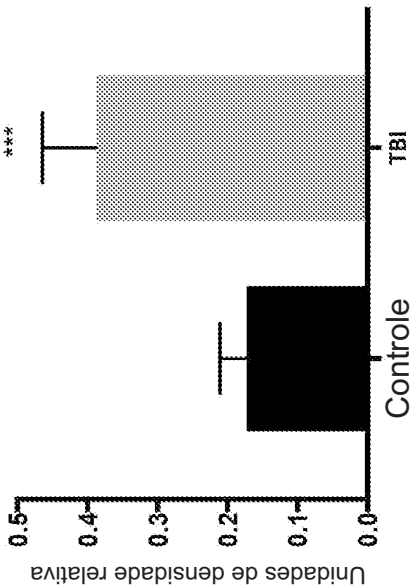


FIG. 10E

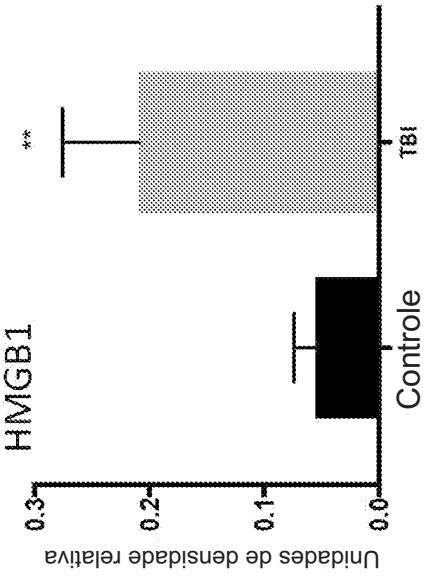


FIG. 10F

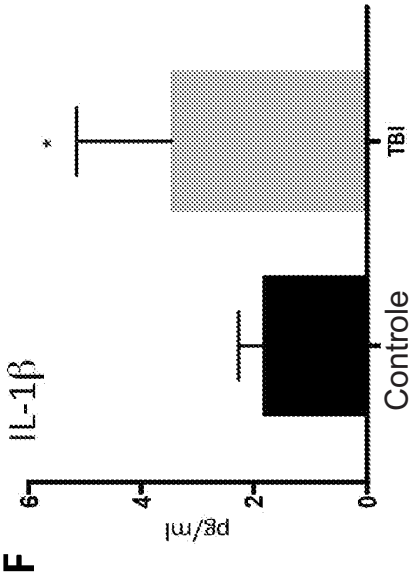


FIG. 11A

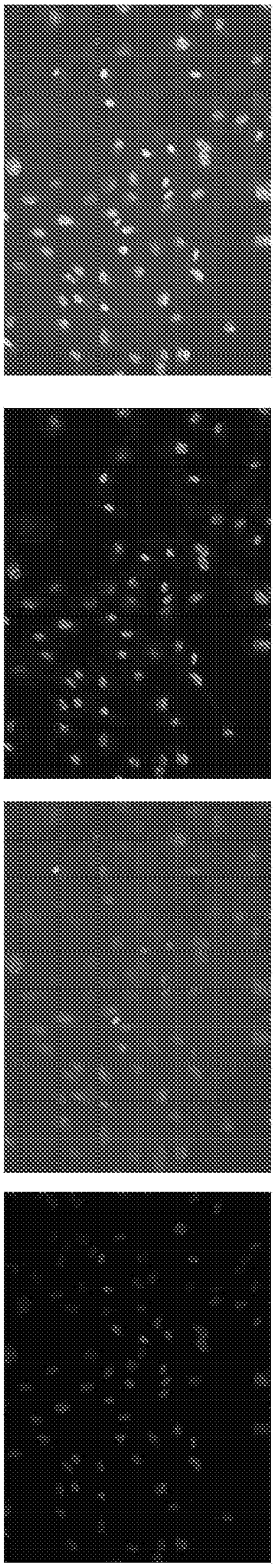


FIG. 11B

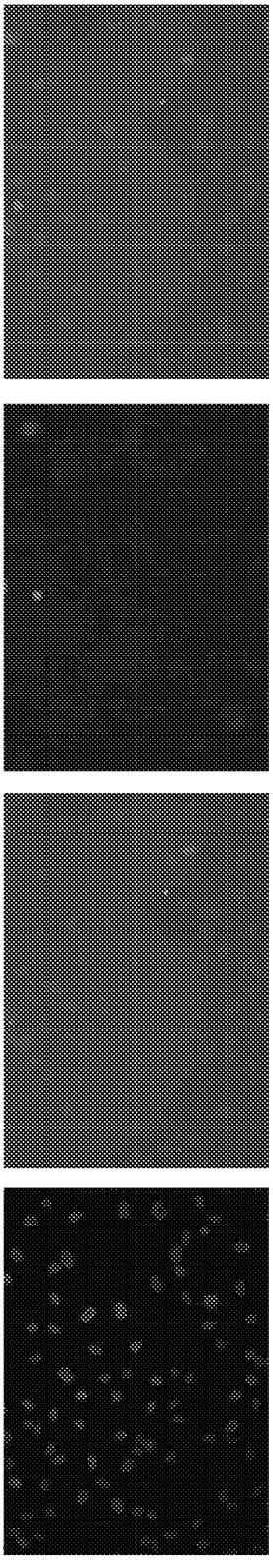


FIG. 11C

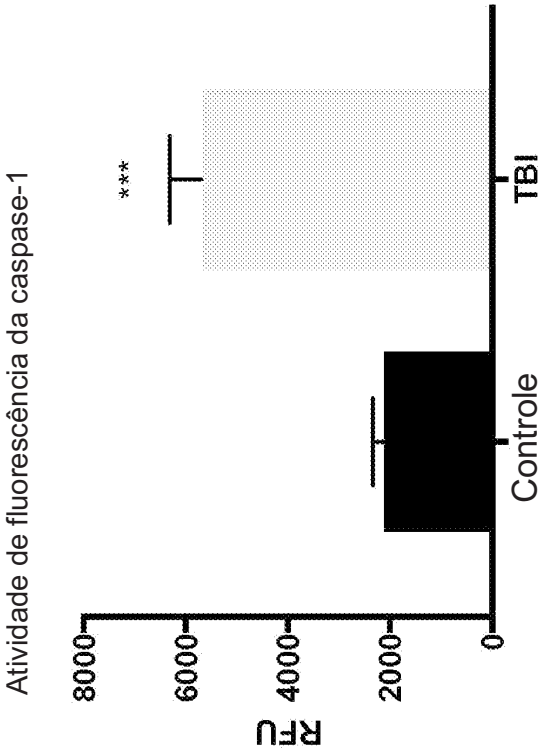
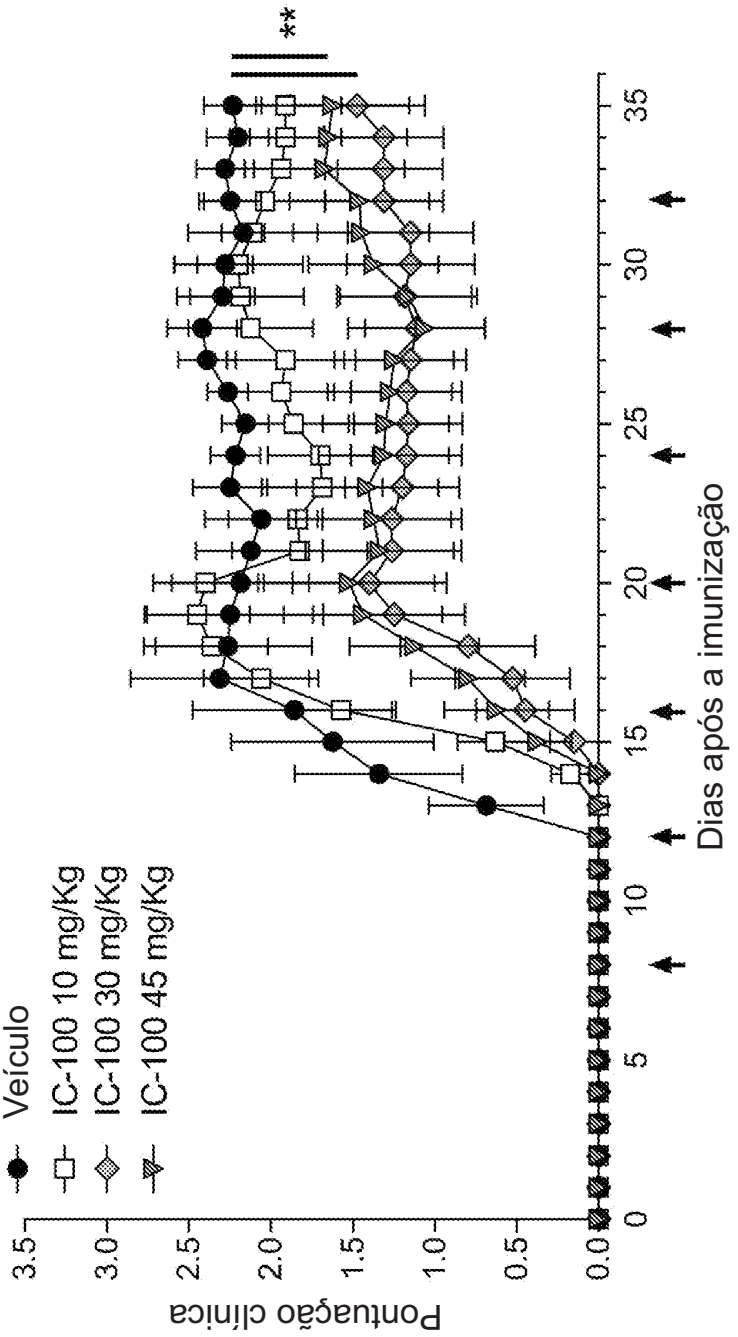

Atividade de fluorescência da caspase-1
RFU
8000
6000
4000
2000
0
***
Controle
TBI

FIG. 12A


Veículo
IC-100 10 mg/Kg
IC-100 30 mg/Kg
IC-100 45 mg/Kg
**
Pontuação clínica
Dias após a imunização
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
0
5
10
15
20
25
30
35

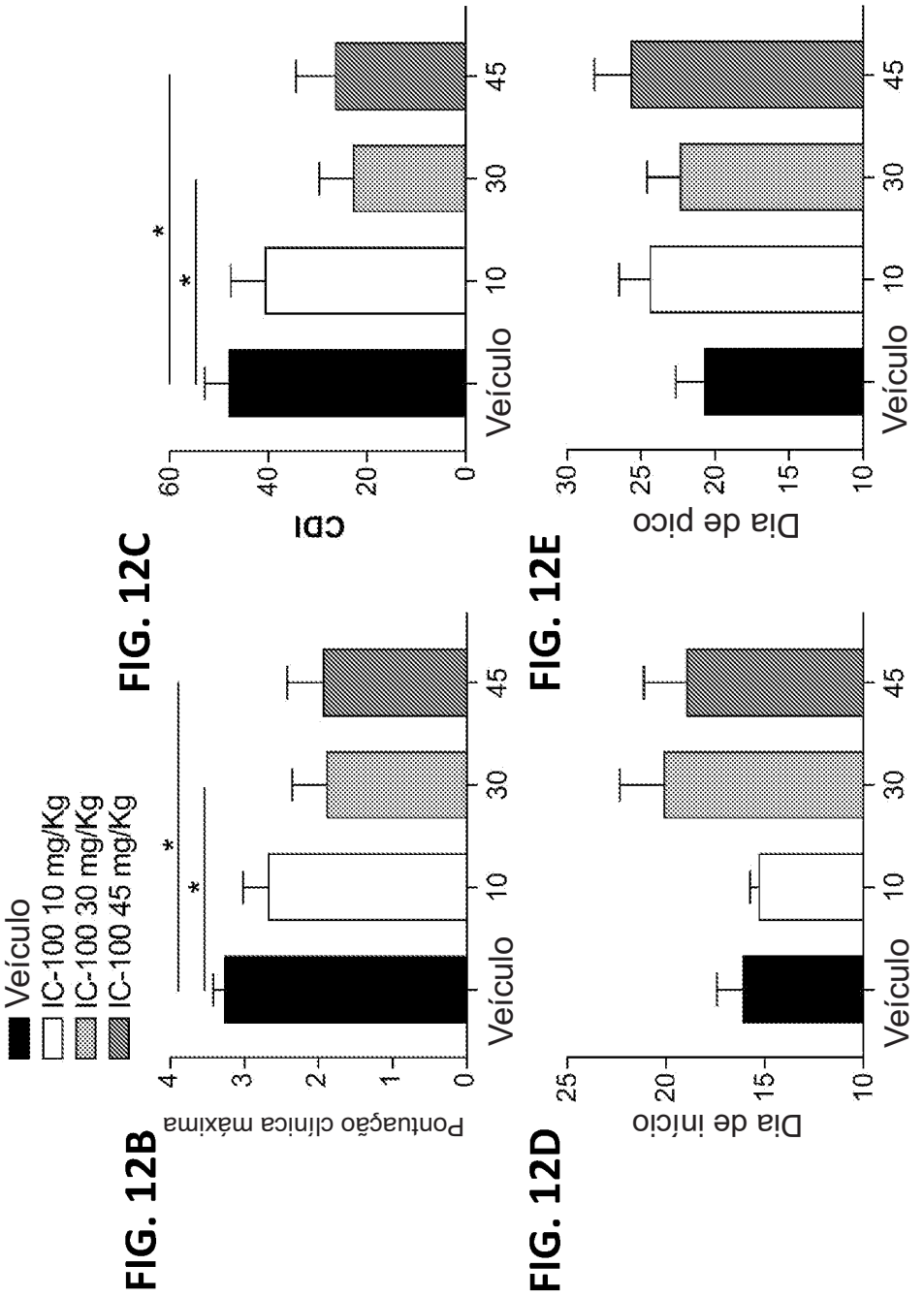


FIG. 12B

FIG. 12C

FIG. 12D

FIG. 12E

FIG. 13A

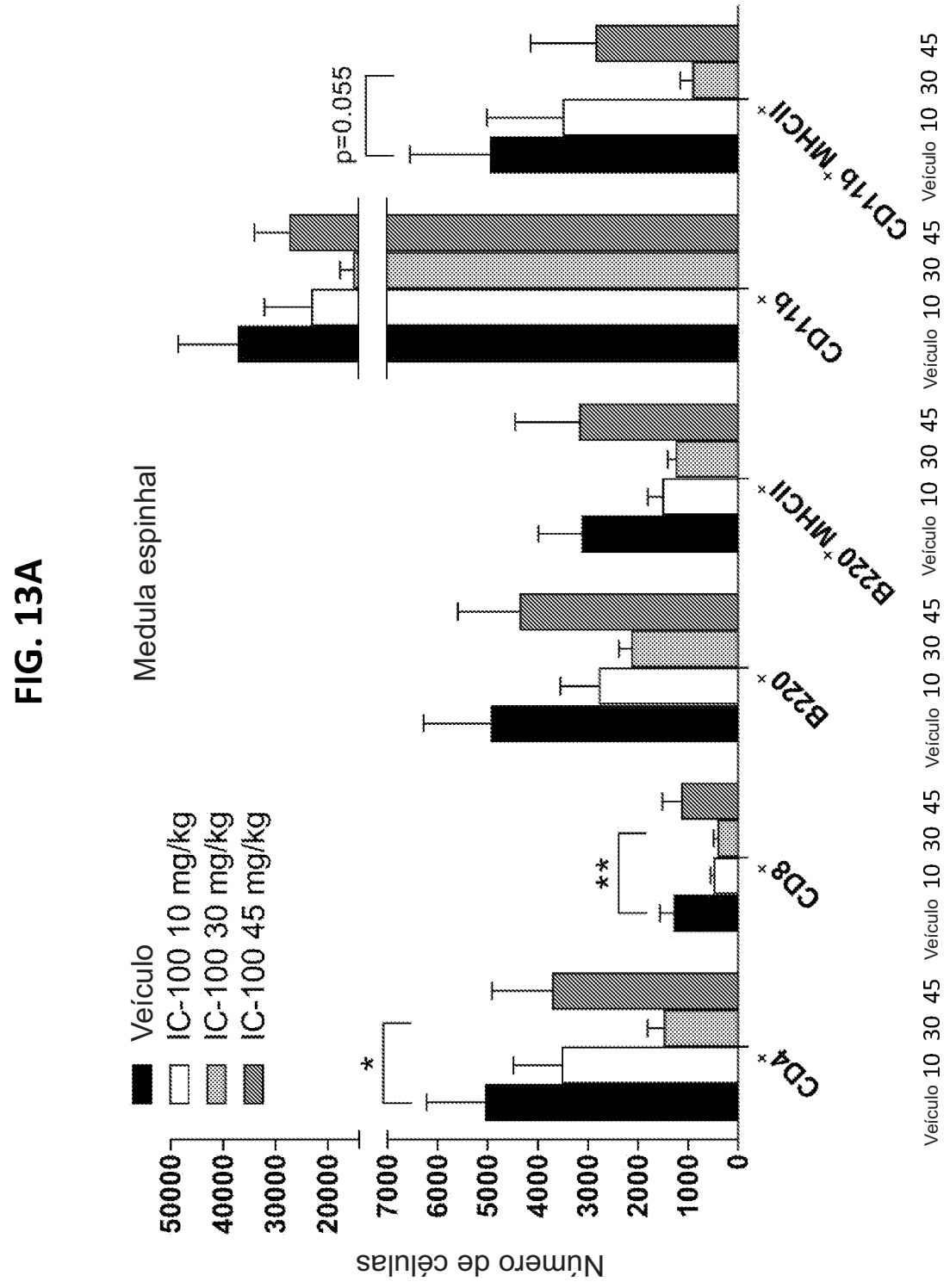

Medula espinhal
Veículo
IC-100 10 mg/kg
IC-100 30 mg/kg
IC-100 45 mg/kg
Número de células
50000
40000
30000
20000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
*
**
p=0.055
CD4+
CD8+
B220+
B220+ MHCII+
CD11b+
CD11b+ MHCII+
Veículo 10 30 45

FIG. 13B

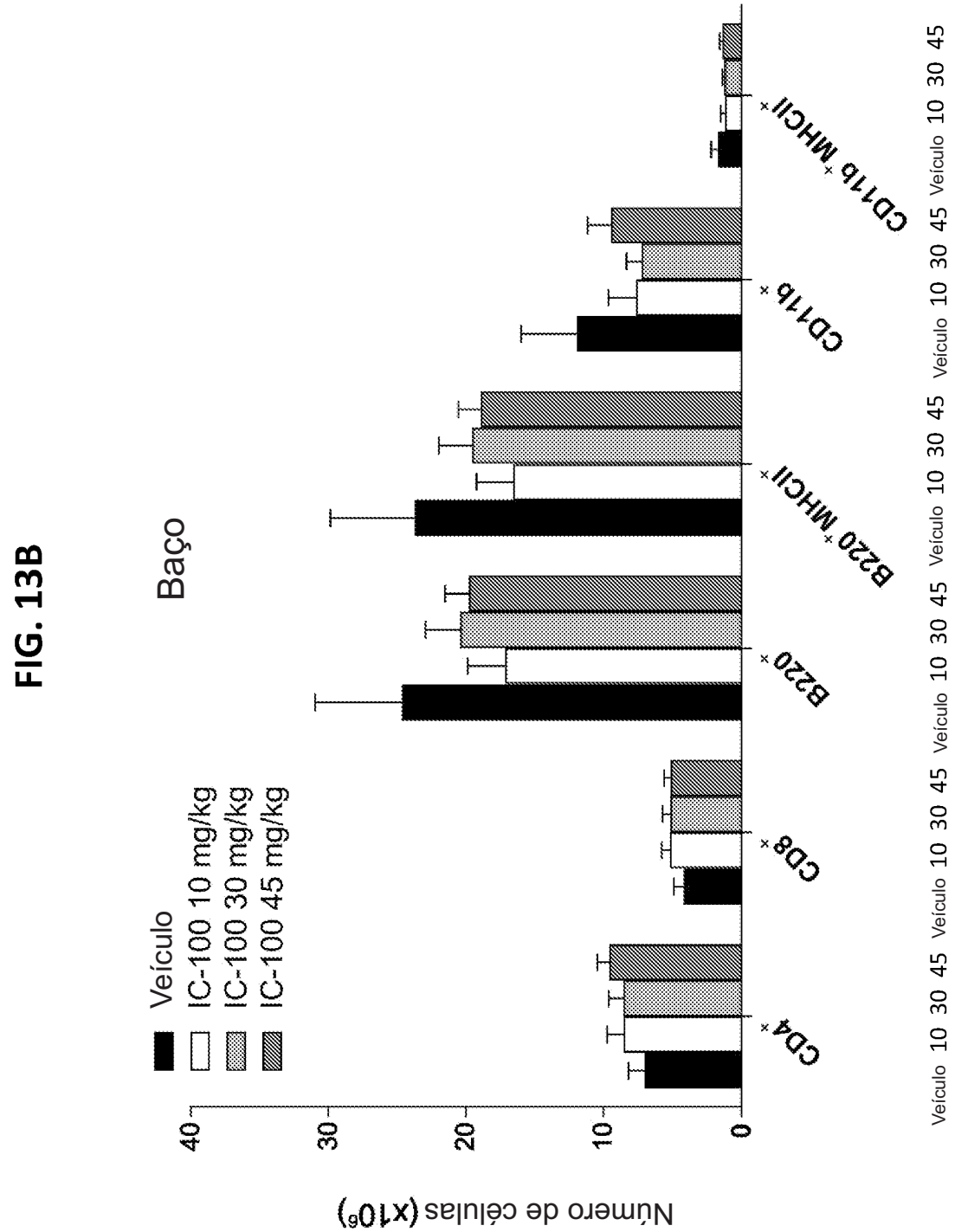

Baço
Veículo
IC-100 10 mg/kg
IC-100 30 mg/kg
IC-100 45 mg/kg
Número de células (x10⁶)
0
10
20
30
40
CD4 +
CD8 +
B220 +
B220 + MHCII +
CD11b +
CD11b + MHCII +
Veículo 10 30 45 Veículo 10 30 45 Veículo 10 30 45 Veículo 10 30 45 Veículo 10 30 45 Veículo 10 30 45

FIG. 14

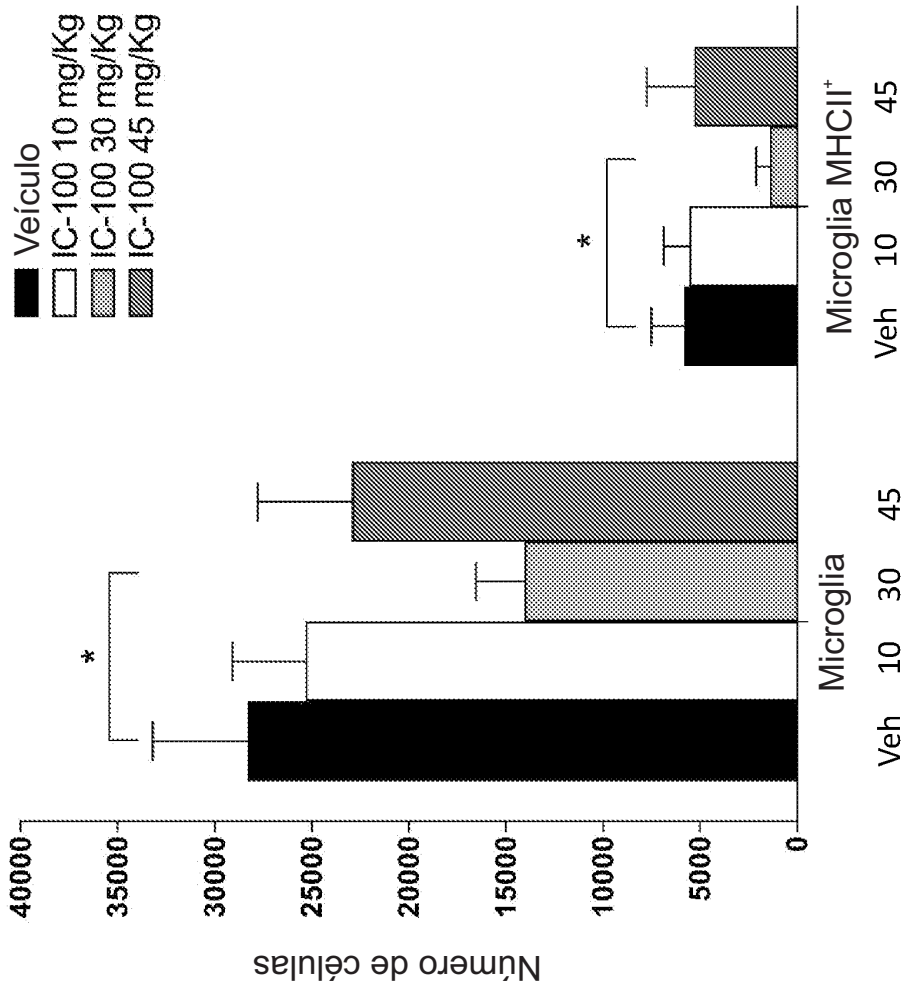
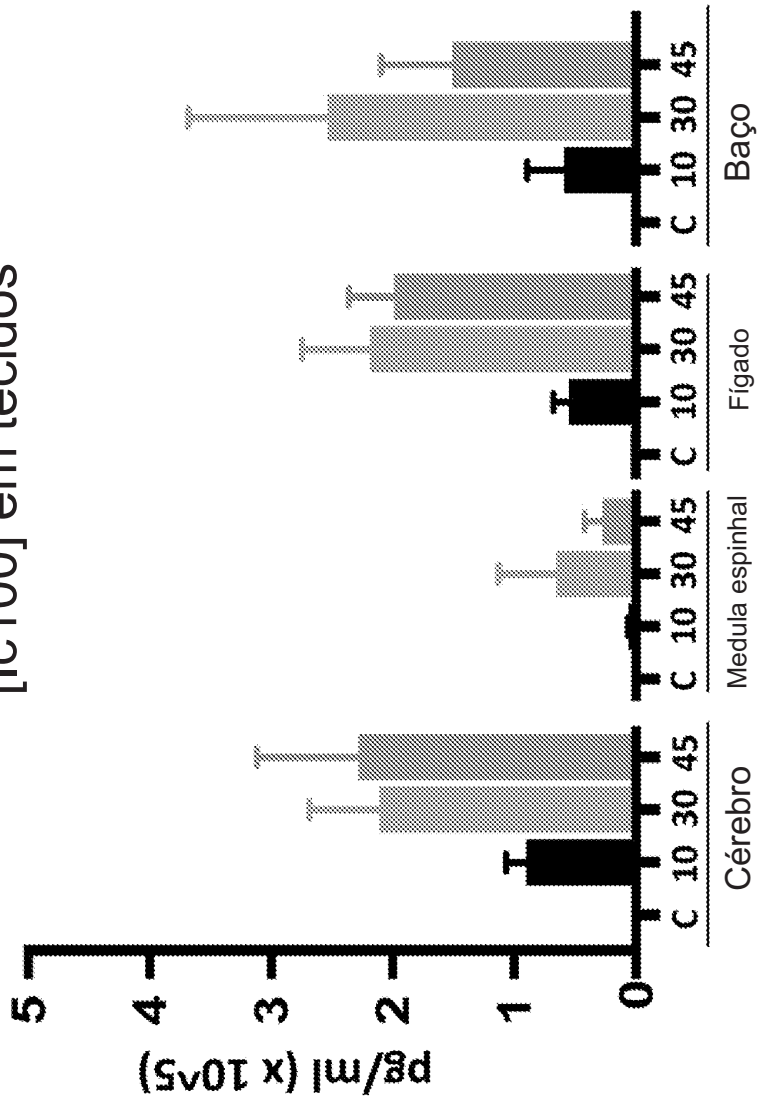

Veículo
IC-100 10 mg/Kg
IC-100 30 mg/Kg
IC-100 45 mg/Kg
Número de células
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
*
*
Microglia
Microglia MHCII+
Veh 10 30 45
Veh 10 30 45

FIG. 15

[Ic100] em tecidos



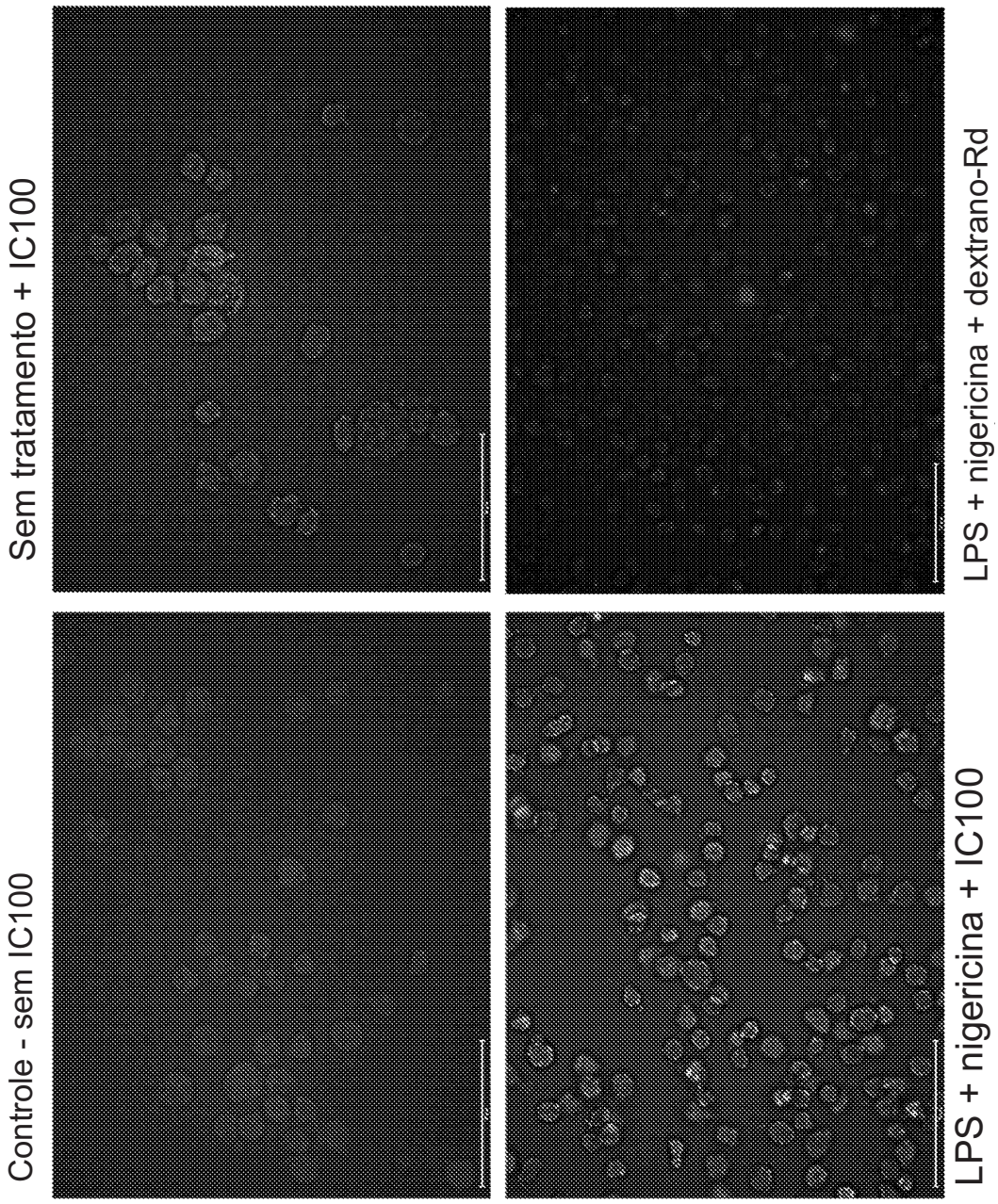

Sem tratamento + IC100
Controle - sem IC100
LPS + nigericina + dextrano-Rd
LPS + nigericina + IC100

FIG. 16

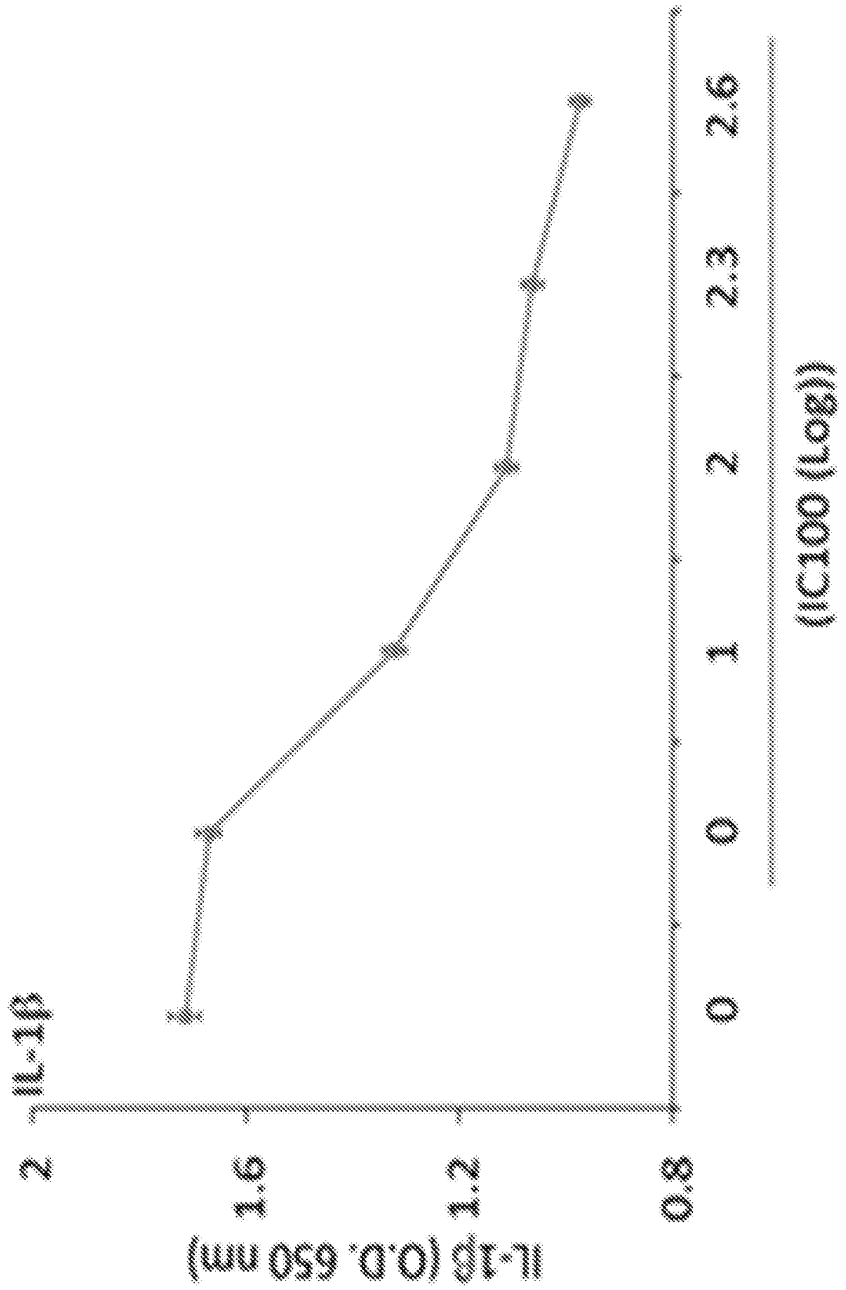


FIG. 17

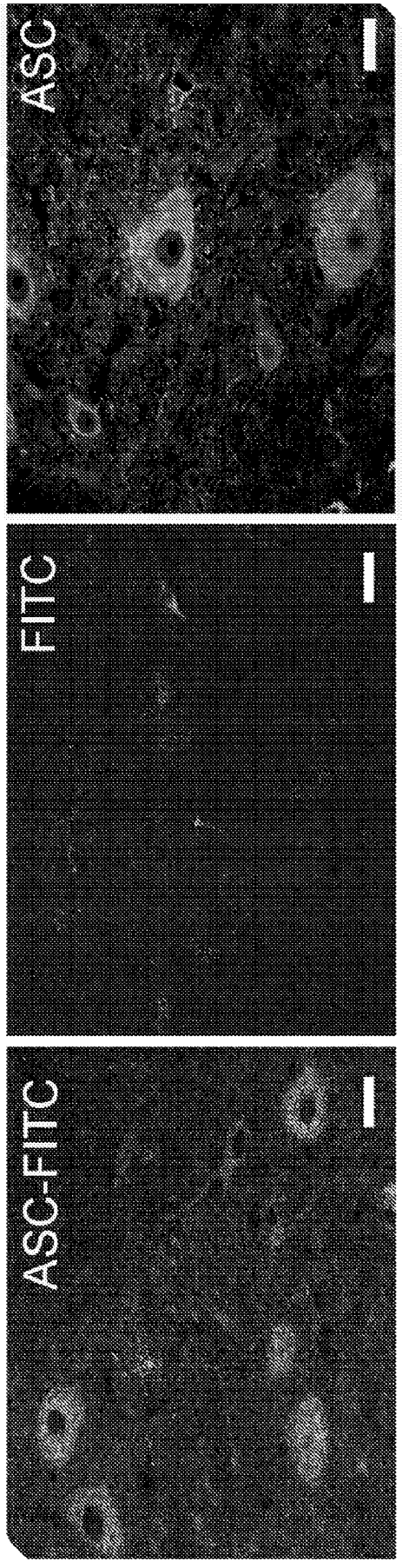
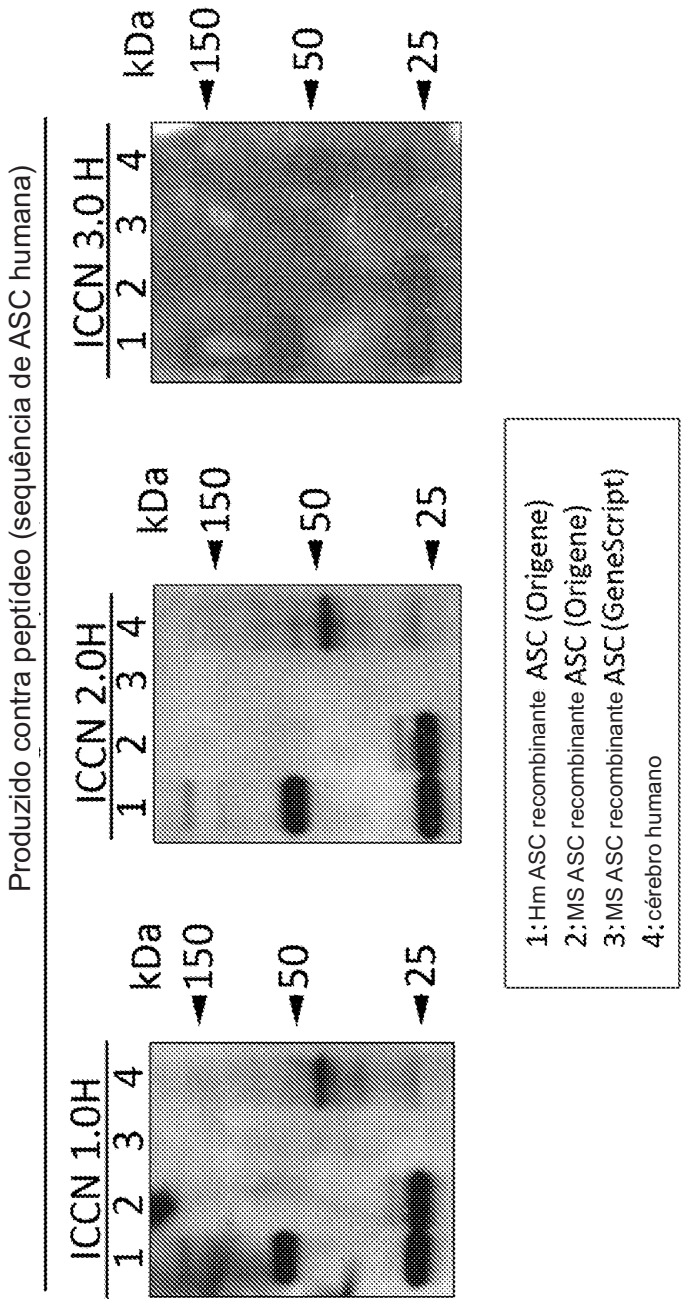


FIG. 18

FIG. 19


Produzido contra peptídeo (sequência de ASC humana)
ICCN 1.0H
1 2 3 4
kDa
150
50
25
ICCN 2.0H
1 2 3 4
kDa
150
50
25
ICCN 3.0 H
1 2 3 4
kDa
150
50
25
1: Hm ASC recombinante ASC (Origene)
2: MS ASC recombinante ASC (Origene)
3: MS ASC recombinante ASC (GeneScript)
4: cérebro humano

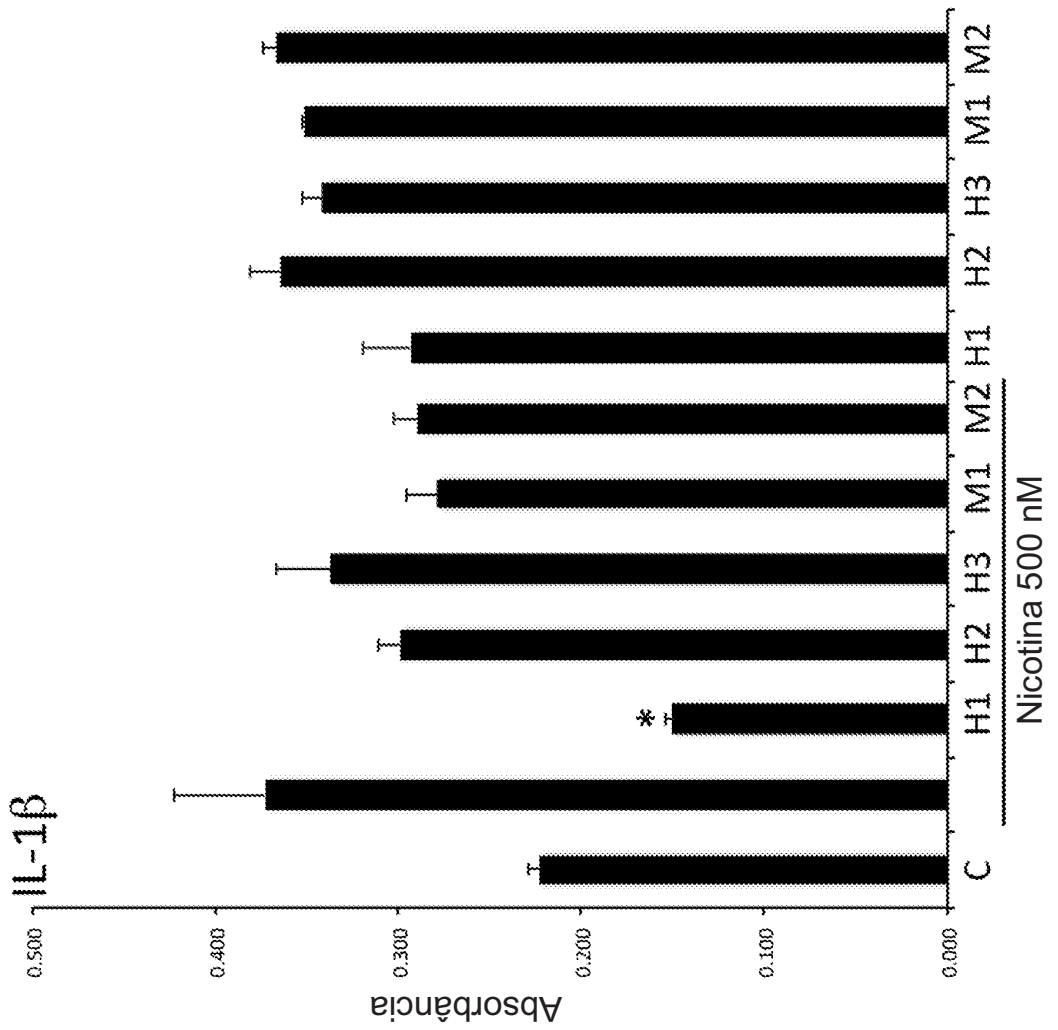

IL-1β
Absorbância
0.500
0.400
0.300
0.200
0.100
0.000
C
H1
H2
H3
M1
M2
H1
H2
H3
M1
M2
Nicotina 500 nM
*

FIG. 20

FIG. 21

ICCN 1.0H

Concenetração de ASC	Resposta (nm)	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	Full R^2
540	0.1852	-	-	-	-
180	0.1615	-	-	-	-
60	0.1423	-	-	-	-
20	0.1513	-	-	-	-
6.67	0.1887	7.792E-12	7.644E+06	5.956E-05	0.9436
2.22	0.1800	4.040E-11	6.382E+06	2.578E-04	0.9693
0.741	0.2021	6.873E-11	5.143E+06	3.534E-04	0.9881
Ajuste global	-	8.877E-11	7.395E+06	6.564E-04	0.8222

Curvas de ligação ICCN 1.0H em concentração de peptídeo de 20 a 540 nM forneceram um parâmetro elevado e fracos ajustes de curva

ICCN 2.0H

Concenetração de ASC	Resposta (nm)	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	Full R^2
540	0.0239	-	-	-	-
180	0.0913	-	-	-	-
60	0.0708	-	-	-	-
20	0.1172	-	-	-	-
6.67	0.1469	4.434E-14	9.987E+06	4.428E-07	0.9502
2.22	0.1483	2.899E-11	8.024E+06	2.326E-04	0.9567
0.741	0.1654	2.729E-11	6.205E+06	1.693E-04	0.9821
Ajuste global	-	3.237E-11	8.594E+06	2.782E-04	0.9316

Curvas de ligação ICCN 2.0H em concentração de peptídeo de 20 a 540 nM forneceram um parâmetro elevado e fracos ajustes de curva

ICCN 3.0H

Concenetração de ASC	Resposta (nm)	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	Full R^2
540	0.0176	-	-	-	-
180	0.0377	-	-	-	-
60	0.0666	-	-	-	-
20	0.1241	-	-	-	-
6.67	0.1600	1.580E-11	1.009E+07	1.594E-04	0.9139
2.22	0.1716	7.413E-11	8.178E+06	6.063E-04	0.9745
0.741	0.1912	5.387E-11	6.855E+06	3.693E-04	0.9918
Ajuste global	-	5.682E-11	8.909E+06	5.062E-04	0.8800

Curvas de ligação ICCN 3.0H em concentração de peptídeo de 20 a 540 nM forneceram um parâmetro elevado e fracos ajustes de curva

FIG. 22

	ICCN 1.0H
Isótipo	IgG1
Ligação ao peptídeo	8.87E11
K_{on} (1/Ms)[1]	7.39E+06
K_{dis} (1/s)[1]	6.56E-04
Reatividade cruzada	Ser humano, camundongo, rato
Atividade funcional	Inibe a via de inflamassoma
	ICCN 2.0H
Isótipo	$IgG2_b$
Ligação ao peptídeo	3.24E11
K_{on} (1/Ms)[1]	8.59E+06
K_{dis} (1/s)[1]	2.78E-04
Reatividade cruzada	Ser humano, camundongo, rato
Atividade funcional	Inibe a via de inflamassoma
	ICCN 3.0H
Isótipo	IgG1
Ligação ao peptídeo	5.68E11
K_{on} (1/Ms)[1]	8.91E+06
K_{dis} (1/s)[1]	5.06E-04
Reatividade cruzada	Ser humano, camundongo, rato
Atividade funcional	Inibe a via de inflamassoma

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS OU CONDIÇÕES RELACIONADAS COM O INFLAMASSOMA".**

As composições e os métodos aqui descritos incluem agentes que inibem a sinalização do inflamassoma no mamífero tais como anticorpos direcionados contra componentes do inflamassoma utilizados isoladamente ou em combinação com inibidor(es) da absorção de vesículas extracelulares. Também são aqui descritos composições e métodos de uso das mesmas para o tratamento de doenças ou condições relacionadas com o inflamassoma.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1

Campo 2

Outras Informações:

- Nome do Arquivo: LISTAGEM DE SEQUÊNCIA - P251380.TXT
- Data de Geração do Código: 28/12/2020
- Hora de Geração do Código: 15:43:42
- Código de Controle:
  - Campo 1: 9A627F9ECD0302B0
  - Campo 2: EC34AC1682C5230E