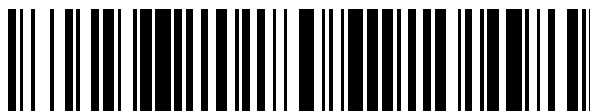


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 509 878**

51 Int. Cl.:

G01N 33/53 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A01K 49/00 (2006.01)

C12N 5/16 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2007** **E 07784108 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.09.2014** **EP 2034830**

54 Título: **Anticuerpo anti-VLA-1 para tratar accidente cerebrovascular**

30 Prioridad:

25.05.2006 US 809149 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.10.2014

73 Titular/es:

BIAGEN IDEC MA INC. (100.0%)
14 CAMBRIDGE CENTER
CAMBRIDGE, MASSACHUSETTS 02142, US

72 Inventor/es:

RELTON, JANE K. y
GARDNER, HUMPHREY

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 509 878 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Anticuerpo anti-VLA-1 para tratar accidente cerebrovascular

5 ANTECEDENTES

[0001] El accidente cerebrovascular es una causa frecuente de muerte y discapacidad en el mundo. Aproximadamente 700 000 estadounidenses tendrán un accidente cerebrovascular este año. En los Estados Unidos, el accidente cerebrovascular es la tercera causa más frecuente de muerte y una causa frecuente de discapacidad grave a largo plazo.

RESUMEN

[0002] La divulgación, que incluye la presente invención, se basa, en parte, en la observación de que la modulación de VLA-1 puede usarse para tratar una lesión isquémica, por ejemplo, accidente cerebrovascular. Por consiguiente, la divulgación proporciona procedimientos de tratamiento de accidente cerebrovascular en un sujeto. El procedimiento incluye administrar al sujeto un antagonista de VLA-1 en una cantidad eficaz para tratar accidente cerebrovascular. Un "antagonista de VLA-1" se refiere a un agente (por ejemplo, cualquier compuesto) que inhiba al menos parcialmente una interacción o actividad de VLA-1. Por ejemplo, el agente inhibe al menos parcialmente una actividad de VLA-1 (por ejemplo, unión de VLA-1 a un ligando, por ejemplo, colágeno), o el agente inhibe al menos parcialmente un ácido nucleico que codifica VLA-1, por ejemplo, para reducir la expresión de proteínas VLA-1. En un caso, el agente reduce la capacidad de VLA-1 para unirse al colágeno, por ejemplo, colágeno IV, por ejemplo, reduce la afinidad de la unión de VLA-1/colágeno por un factor de al menos 2, 3, 5, 10, 20, 50 ó 100 y/o reduce la unión de VLA-1/colágeno al menos el 5 %, por ejemplo, al menos el 10 %, 25 %, 50 %, 75 %, 90 %, 95 % o más, en comparación con la unión en ausencia del agente.

[0003] Basándose en la divulgación que está contenida en el presente documento, la presente invención proporciona un antagonista de VLA-1, es decir, anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso como se define en las reivindicaciones. El anticuerpo anti-VLA-1 puede ser un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-VLA-1 puede ser de longitud completa (por ejemplo, una IgG (por ejemplo, una IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (por ejemplo, IgA1, IgA2), IgD e IgE, o puede incluir solo un fragmento de unión al antígeno (por ejemplo, un fragmento Fab, F(ab')₂ o scFv, o una o más CDR). Un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede incluir inmunoglobulinas de dos cadenas pesadas e inmunoglobulinas de dos cadenas ligeras, o puede ser un anticuerpo monocaténario. El anticuerpo puede, opcionalmente, incluir una región constante elegida de un gen de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon o mu. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 incluye una región constante de la cadena pesada y ligera sustancialmente de un anticuerpo humano, por ejemplo, una región constante de IgG1 humana o una porción de la misma. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 es un anticuerpo humano.

[0004] En otras realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo quimérico o humanizado. Como se trata en el presente documento, los anticuerpos pueden estar injertados en CDR, ser humanizados, o más generalmente, anticuerpos que tienen CDR de un anticuerpo no humano y una región estructural que se selecciona como menos inmunogénica en seres humanos, por ejemplo, menos antigénica que la región estructural murina en la que se produce naturalmente una CDR murina.

[0005] En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1 es un anticuerpo que no se produce naturalmente, por ejemplo, un anticuerpo quimérico, injertado en CDR o humanizado que tiene al menos CDR3 de cadena pesada, y preferentemente todas las CDR de cadena pesada, más preferentemente las tres CDR de cadena pesada y las tres CDR de cadena ligera de un anticuerpo no humano, por ejemplo, un anticuerpo no humano descrito en el presente documento. En una realización preferida, las CDR pueden diferenciarse de una CDR citada en el presente documento en 1, 2 ó 3 residuos de aminoácidos, por ejemplo, la CDR3 de cadena pesada puede ser de una fuente descrita en el presente documento, pero por otra parte otra CDR puede variar como se describe en el presente documento.

[0006] Los anticuerpos anti-VLA-1 preferidos incluyen, por ejemplo, un anticuerpo AQC2 humanizado (por ejemplo, producido por un hibridoma que tiene el n.º de depósito ATCC PTA-3274), AJH10 (ATCC PTA-3580), hAQC2 (ATCC PTA-3275), haAQC2 (ATCC PTA-3274), hsAQC2 (ATCC PTA-3356), mAQC2 (ATCC PTA-3273) y el anticuerpo monoclonal 1B3 (ATCC HB-10536). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 puede unirse al mismo epítipo que AQC2, AJH10, hAQC2, haAQC2, hsAQC2, mAQC2 y/o 1B3. En algunas realizaciones, el

anticuerpo anti-VLA-1 compite con AQC2, AJH10, hAQC2, haAQC2, hsAQC2, mAQC2 y/o 1B3 para unirse a VLA-1.

[0007] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 se une a la subunidad $\alpha 1$ -I de VLA-1, por ejemplo, el dominio $\alpha 1$ -I de VLA-1.

5

[0008] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una cantidad y/o durante un tiempo suficiente para reducir la lesión isquémica en tejido neuronal en el cerebro.

10 **[0009]** El sujeto normalmente es un mamífero, por ejemplo, ser humano, perro, gato, mono, conejo o mamífero agrícola (por ejemplo, caballo, vaca, cerdo, etc.). Por ejemplo, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un hombre o una mujer. El sujeto puede tener al menos 18, 25, 30, 45, 50, 55, 60 ó 70 años de edad.

15 **[0010]** En una realización, el sujeto ha sufrido un accidente cerebrovascular. El accidente cerebrovascular puede ser un accidente cerebrovascular hemorrágico, accidente cerebrovascular isquémico o un ataque isquémico transitorio (AIT).

20 **[0011]** En una realización, el sujeto ha sufrido un accidente cerebrovascular en el plazo de 48 horas, por ejemplo, en el plazo de 2, 3, 5, 8, 12, 20 ó 30 horas desde el tratamiento. En otra realización, el sujeto ha sufrido un accidente cerebrovascular hace más de 48 horas, pero en el plazo de las tres o dos semanas últimas semanas, desde el tratamiento.

25 **[0012]** En otra realización, el sujeto está en riesgo de accidente cerebrovascular, por ejemplo, ha sufrido o está sufriendo afecciones que crean un riesgo de accidente cerebrovascular. Ejemplos de tales afecciones incluyen hipertensión arterial; consumo de tabaco; diabetes mellitus; enfermedad de las arterias carótidas u otras arterias; enfermedad de las arterias periféricas; fibrilación auricular; otra enfermedad cardíaca; ataques isquémicos transitorios (AIT); ciertos trastornos de la sangre (por ejemplo, alto número de eritrocitos; drepanocitosis); colesterol alta; inactividad física y obesidad; consumo excesivo de alcohol; algunas drogas ilegales; un accidente cerebrovascular previo; o infarto de miocardio previo.

30

[0013] En una realización, el sujeto presenta uno o más de los siguientes síntomas: insensibilidad repentina o debilidad de la cara, insensibilidad repentina o debilidad de un brazo; repentina insensibilidad o debilidad de una pierna; confusión repentina; problemas repentinos para hablar; problemas repentinos de entendimiento; problemas repentinos de visión en uno o ambos ojos; problemas repentinos al caminar; mareos repentinos; pérdida repentina del equilibrio o coordinación; cefalea repentina y severa sin causa conocida. En algunas realizaciones, al sujeto se le ha diagnosticado que ha sufrido un accidente cerebrovascular.

35 **[0014]** En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una cantidad suficiente para reducir el tamaño del infarto, por ejemplo, al menos el 5, 10, 15, 20, 40, 50, 60, 70 o el 80 % o más, en tejido neuronal en el cerebro, con respecto al tamaño del infarto en un sujeto no tratado. La cantidad suficiente para reducir el tamaño del infarto puede evaluarse usando un modelo animal, por ejemplo, como se describe en el presente documento.

45 **[0015]** En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una cantidad suficiente para mejorar los síntomas en uno o más criterios de evaluación del accidente cerebrovascular, por ejemplo, un criterio o escala descrito en el presente documento, al menos el 5, 10, 15, 20, 40, 50, 60, 70 o el 80 % o más, o media etapa o etapa completa en la escala. Por ejemplo, la puntuación de la escala de Rankin modificada puede reducirse al menos 1 etapa, por ejemplo, al menos 2, 3 ó 4 etapas, y/o la puntuación puede disminuirse a, por ejemplo, 4, 3, 2, 1 ó 0. La puntuación NIHSS puede reducirse al menos 1 etapa, por ejemplo, al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18, 20 etapas o más, y/o la puntuación puede disminuirse a, por ejemplo, 15, 13, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 ó 0. La puntuación de la escala de Barthel puede aumentarse al menos 5 etapas, por ejemplo, al menos 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 etapas o más, y/o la puntuación puede aumentarse a, por ejemplo, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95 ó 100.

55 **[0016]** En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una dosificación de 0,025 mg/kg por día a 30 mg/kg por día, por ejemplo, 0,1 a 5 mg/kg, por ejemplo, 0,3 a 3 mg/kg. En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse al menos dos veces en el plazo de un periodo de 14 días después de un accidente cerebrovascular, por ejemplo, al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14 veces en el plazo de un periodo de 14 días después de

un accidente cerebrovascular. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse, por ejemplo, una vez al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, una vez a la semana, o una vez al día durante 1 día, por ejemplo, durante 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 ó 28 días. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse intravenosamente o parenteralmente.

5

[0017] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en combinación con un tratamiento para accidente cerebrovascular. Por ejemplo, el tratamiento incluye administrar un segundo agente que proporciona un beneficio terapéutico a un paciente que tiene o está en riesgo de accidente cerebrovascular. Segundos agentes a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, un agente trombolítico (por ejemplo, estreptocinasa, complejo activador de plasminógeno-estreptocinasa acilado (APSAC), urocinasa, activador de urocinasa-plasminógeno monocatenario (scu-PA), agentes antiinflamatorios, enzimas similares a trombina de venenos de serpiente tales como ancrod, inhibidores de la trombina, activador tisular del plasminógeno (t-PA) y variantes biológicamente activas de cada uno de los anteriores); un anticoagulante (por ejemplo, warfarina o heparina); fármaco antiplaquetario (por ejemplo, aspirina); un inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa; un glicosaminoglicano; cumarina; GCSF; melatonina; un inhibidor de la apoptosis (por ejemplo, inhibidor de caspasa), un antioxidante (por ejemplo, NXY-059); y un neuroprotector (por ejemplo, un antagonista de receptores de NMDA o un antagonista de cannabinoides).

[0018] En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y el segundo agente van a administrarse al mismo tiempo. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse primero en el tiempo y el segundo agente va a administrarse segundo en el tiempo. En una realización preferida, el segundo agente va a administrarse primero en el tiempo y el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse segundo en el tiempo.

25

[0019] Como se usa en el presente documento, “administrado en combinación” significa que dos o más agentes (por ejemplo, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y el segundo agente) van a administrarse a un sujeto al mismo tiempo o en el plazo de un intervalo, de forma que haya solapamiento de un efecto de cada agente en el paciente. Preferentemente, las administraciones del primer y segundo agente están separadas suficientemente próximas entre sí de manera que se logre un efecto combinatorio. El intervalo puede ser un intervalo de horas, días o semanas. Generalmente, los agentes están simultáneamente biodisponibles, por ejemplo, detectables, en el sujeto. En una realización preferida se hace al menos una administración de uno de los agentes, por ejemplo, el primero agente, mientras que el otro agente, por ejemplo, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, está todavía presente a un nivel terapéutico en el sujeto.

35

[0020] En una realización, el uso también incluye evaluar el sujeto para un criterio después de accidente cerebrovascular, por ejemplo, un criterio de evaluación del accidente cerebrovascular o escala descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la evaluación se realiza al menos 1 hora, por ejemplo, al menos 2, 4, 6, 8, 12, 24 ó 48 horas, o al menos 1 semana, 2 semanas, 4 semanas, 10 semanas, 13 semanas, 20 semanas o más, después de la administración del anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo. El sujeto puede evaluarse en uno o más de los siguientes periodos: antes de empezar el tratamiento; durante el tratamiento; o después de que se hayan administrado uno o más elementos del tratamiento. La evaluación puede incluir evaluar la necesidad de tratamiento adicional con el mismo anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, o de tratamiento adicional con agentes adicionales. En una realización preferida, si se obtiene un resultado preseleccionado de la evaluación, se realiza una etapa adicional, por ejemplo, al sujeto se le va a administrar otro tratamiento o va a realizarse otra evaluación o prueba.

[0021] En otra realización, el uso incluye adicionalmente una etapa de identificar un sujeto que tiene un accidente cerebrovascular (por ejemplo, accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico o ataque isquémico transitorio) o síntomas de un accidente cerebrovascular.

[0022] En un caso, la divulgación incluye un procedimiento para tratar un sujeto, incluyendo el procedimiento (a) determinar si un paciente tiene isquemia, por ejemplo, isquemia pos-accidente cerebrovascular; (b) determinar si el accidente cerebrovascular u otro acontecimiento que causa la isquemia es en el plazo de un tiempo preseleccionado, por ejemplo, un tiempo descrito en el presente documento; y, si (a) y (b) se cumplen, administrar al sujeto un antagonista de VLA-1 en una cantidad eficaz para tratar la isquemia.

[0023] En un aspecto, la divulgación, que incluye la presente invención, incluye un antagonista de VLA-1 para su uso en el tratamiento de isquémico o hemorrágico. El antagonista es un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de

unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento. En otro aspecto, la divulgación, que incluye la presente invención, incluye el uso de un antagonista de VLA-1 para la fabricación de un medicamento para tratar accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico. El antagonista es el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento.

5

[0024] En un caso, la divulgación incluye un recipiente que incluye un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y una etiqueta con instrucciones para el uso del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno en el tratamiento de accidente cerebrovascular.

- 10 **[0025]** En un caso, la divulgación incluye procedimientos de tratamiento de una lesión isquémica en un sujeto, por ejemplo, una lesión isquémica descrita en el presente documento, procedimiento que incluye administrar al sujeto un antagonista de VLA-1, por ejemplo, un anticuerpo anti-VLA-1 descrito en el presente documento, en una cantidad eficaz para tratar la lesión isquémica. En otro caso, la divulgación incluye procedimientos de tratamiento de lesión por isquemia-reperfusión en un sujeto, procedimiento que incluye administrar al sujeto un antagonista de VLA-1, por ejemplo, un anticuerpo anti-VLA-1 descrito en el presente documento, en una cantidad eficaz para tratar la lesión por isquemia-reperfusión.

- 15 **[0026]** En otro caso, la divulgación incluye procedimientos de tratamiento de lesión cerebral traumática (LCT) en un sujeto. El procedimiento incluye administrar al sujeto un antagonista de VLA-1 en una cantidad eficaz para tratar LCT.

- [0027]** El antagonista de VLA-1 es un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-VLA-1 puede ser un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-VLA-1 puede ser de longitud completa (por ejemplo, una IgG (por ejemplo, una IgG1, IgG2, IgG3, 25 IgG4), IgM, IgA (por ejemplo, IgA1, IgA2), IgD e IgE, o puede incluir solo un fragmento de unión al antígeno (por ejemplo, un fragmento Fab, F(ab')₂ o scFv, o una o más CDR). Un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede incluir inmunoglobulinas de dos cadenas pesadas e inmunoglobulinas de dos cadenas ligeras, o puede ser un anticuerpo monocatenario. El anticuerpo puede, opcionalmente, incluir una región constante elegida de un gen de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon o mu. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 incluye una región constante de la cadena pesada y ligera sustancialmente de un anticuerpo humano, por ejemplo, una región constante de IgG1 humana o una porción de la misma. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 es un anticuerpo humano.

- 30 **[0028]** En otras realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo quimérico o humanizado. Como se trata en el presente documento, los anticuerpos pueden estar injertados en CDR, ser humanizados o más generalmente anticuerpos que tienen CDR de un anticuerpo no humano y una región estructural que se selecciona como menos inmunogénica en seres humanos, por ejemplo, menos antigénica que la región estructural murina en la que se produce naturalmente una CDR murina.

- 40 **[0029]** En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1 es un anticuerpo que no se produce naturalmente, por ejemplo, un anticuerpo quimérico, injertado en CDR o humanizado que tiene al menos CDR3 de cadena pesada, y preferentemente todas las CDR de cadena pesada, más preferentemente las tres CDR de cadena pesada y las tres CDR de cadena ligera de un anticuerpo no humano, por ejemplo, un anticuerpo no humano descrito en el presente documento. En una realización preferida, las CDR pueden diferenciarse de una CDR citada en el presente documento en 1, 2 ó 3 residuos de aminoácidos, por ejemplo, la CDR3 de cadena pesada puede ser de una fuente descrita en el presente documento, pero por otra parte otra CDR puede variar como se describe en el presente documento.

- 50 **[0030]** Los anticuerpos anti-VLA-1 preferidos incluyen, por ejemplo, un anticuerpo AQC2 humanizado (por ejemplo, producido por un hibridoma que tiene el n° de depósito ATCC PTA-3274), AJH10 (ATCC PTA-3580), hAQC2 (ATCC PTA-3275), haAQC2 (ATCC PTA-3274), hsAQC2 (ATCC PTA-3356), mAQC2 (ATCC PTA-3273) y el anticuerpo monoclonal 1B3 (ATCC HB-10536). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 puede unirse al mismo epítipo que AQC2, AJH10, hAQC2, haAQC2, hsAQC2, mAQC2 y/o 1B3. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 compite con AQC2, AJH10, hAQC2, haAQC2, hsAQC2, mAQC2 y/o 1B3 para unirse a VLA-1.

55

[0031] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 se une a la subunidad $\alpha 1$ de VLA-1, por ejemplo, el dominio $\alpha 1$ -I de VLA-1.

[0032] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a

administrarse en una cantidad y/o durante un tiempo suficiente para tratar LCT, por ejemplo, para curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, remediar, mejorar, corregir o afectar LCT, por ejemplo, uno o más síntomas de LCT descritos en el presente documento.

5 **[0033]** El sujeto normalmente es un mamífero, por ejemplo, ser humano, perro, gato, mono, conejo o mamífero agrícola (por ejemplo, caballo, vaca, cerdo, etc.). Por ejemplo, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un hombre o una mujer. El sujeto puede tener al menos 18, 25, 30, 45, 50, 55, 60 ó 70 años de edad.

[0034] La LCT puede ser, por ejemplo, una contusión, magulladura, laceración o hematoma. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse para tratar una LCT primaria. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse para tratar o prevenir una LCT secundaria.

15 **[0035]** En una realización, el sujeto ha sufrido una LCT en el plazo de 48 horas, por ejemplo, en el plazo de 2, 3, 5, 8, 12, 20 ó 30 horas desde el tratamiento. En otra realización, el sujeto ha sufrido una LCT hace más de 48 horas, pero en el plazo de las tres o dos últimas semanas, desde el tratamiento.

[0036] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una cantidad suficiente para mejorar los síntomas en uno o más criterios de evaluación de LCT, por ejemplo, un criterio descrito en el presente documento, al menos el 5, 10, 15, 20, 40, 50, 60, 70 o el 80 % o más.

[0037] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una dosificación de 0,025 mg/kg por día a 30 mg/kg por día, por ejemplo, 0,1 a 5 mg/kg, por ejemplo, 0,3 a 3 mg/kg. En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse al menos dos veces en el plazo de un periodo de 14 días después de un accidente cerebrovascular, por ejemplo, al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14 veces en el plazo de un periodo de 14 días después de un accidente cerebrovascular. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo puede administrarse, por ejemplo, una vez al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, una vez a la semana, o una vez por día durante 1 día, por ejemplo, durante 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 ó 28 días. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse intravenosamente o parenteralmente.

[0038] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en combinación con un tratamiento para LCT. Por ejemplo, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse conjuntamente con cirugía y/o tratamientos para otras lesiones e infección. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y el segundo agente van a administrarse al mismo tiempo. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse primero en el tiempo y el segundo agente va a administrarse segundo en el tiempo. En una realización preferida, el segundo agente primero en el tiempo y el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse segundo en el tiempo.

[0039] En una realización, el uso también incluye evaluar al sujeto para un criterio de LCT descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la evaluación se realiza al menos 1 hora, por ejemplo, al menos 2, 4, 6, 8, 12, 24 ó 48 horas, o al menos 1 semana, 2 semanas, 4 semanas, 10 semanas, 13 semanas, 20 semanas o más, después de la administración del anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo. El sujeto puede evaluarse en uno o más de los siguientes periodos: antes de empezar el tratamiento; durante el tratamiento; o después de que se hayan administrado uno o más elementos del tratamiento. La evaluación puede incluir evaluar la necesidad de tratamiento adicional con el mismo anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, o de tratamiento adicional con agentes adicionales. En una realización preferida, si se obtiene un resultado preseleccionado de la evaluación, se realiza una etapa adicional, por ejemplo, al sujeto se le va a administrar otro tratamiento o va a realizarse otra evaluación o prueba.

[0040] En un aspecto, la divulgación, que incluye la presente invención, incluye un antagonista de VLA-1 para su uso en el tratamiento de LCT, por ejemplo, como se describe en el presente documento. El antagonista es el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento. En otro aspecto, la divulgación, que incluye la presente invención, incluye el uso de un antagonista de VLA-1 para la fabricación de un medicamento para tratar LCT, por ejemplo, como se describe en el presente documento. El antagonista es el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento.

[0041] En un caso, la divulgación incluye un recipiente que incluye un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y una etiqueta con instrucciones para el uso del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno en el tratamiento de LCT.

5 **[0042]** En otro caso, la divulgación incluye procedimientos de tratamiento de una lesión de la médula espinal (LME) en un sujeto. El procedimiento incluye administrar al sujeto un antagonista de VLA-1 en una cantidad eficaz para tratar LME.

[0043] El antagonista de VLA-1 es un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-VLA-1 puede ser un anticuerpo monoclonal, o un fragmento de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-VLA-1 puede ser de longitud completa (por ejemplo, una IgG (por ejemplo, una IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (por ejemplo, IgA1, IgA2), IgD e IgE, o puede incluir solo un fragmento de unión al antígeno (por ejemplo, un fragmento Fab, F(ab')₂ o scFv, o una o más CDR). Un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede incluir inmunoglobulinas de dos cadenas pesadas e inmunoglobulinas de dos cadenas ligeras, o puede ser un anticuerpo monocaténario. El anticuerpo puede, opcionalmente, incluir una región constante elegida de un gen de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon o mu. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 incluye una región constante de la cadena pesada y ligera sustancialmente de un anticuerpo humano, por ejemplo, una región constante de IgG1 humana o una porción de la misma. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 es un anticuerpo humano.

20 **[0044]** En otras realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo quimérico o humanizado. Como se trata en el presente documento, los anticuerpos pueden estar injertados en CDR, ser humanizados, o más generalmente, anticuerpos que tienen CDR de un anticuerpo no humano y una región estructural que se selecciona como menos inmunogénica en seres humanos, por ejemplo, menos antigénica que la región estructural murina en la que se produce naturalmente una CDR murina.

[0045] En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1 es un anticuerpo que no se produce naturalmente, por ejemplo, un anticuerpo quimérico, injertado en CDR o humanizado que tiene al menos CDR3 de cadena pesada, y preferentemente todas las CDR de cadena pesada, más preferentemente las tres CDR de cadena pesada y las tres CDR de cadena ligera de un anticuerpo no humano, por ejemplo, un anticuerpo no humano descrito en el presente documento. En una realización preferida, las CDR pueden diferenciarse de una CDR citada en el presente documento en 1, 2 ó 3 residuos de aminoácidos, por ejemplo, la CDR3 de cadena pesada puede ser de una fuente descrita en el presente documento, pero por otra parte otra CDR puede variar como se describe en el presente documento.

35 **[0046]** Los anticuerpos anti-VLA-1 preferidos incluyen, por ejemplo, un anticuerpo AQC2 humanizado (por ejemplo, producido por un hibridoma que tiene el nº de depósito ATCC PTA-3274), AJH10 (ATCC PTA-3580), hAQC2 (ATCC PTA-3275), haAQC2 (ATCC PTA-3274), hsAQC2 (ATCC PTA-3356), mAQC2 (ATCC PTA-3273) y el anticuerpo monoclonal 1B3 (ATCC HB-10536). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 puede unirse al mismo epítipo que AQC2, AJH10, hAQC2, haAQC2, hsAQC2, mAQC2 y/o 1B3. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 compite con AQC2, AJH10, hAQC2, haAQC2, hsAQC2, mAQC2 y/o 1B3 para unirse a VLA-1.

[0047] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1 se une a la subunidad $\alpha 1$ de VLA-1, por ejemplo, el dominio $\alpha 1$ -I de VLA-1.

45 **[0048]** En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una cantidad y/o durante un tiempo suficiente para tratar LME, por ejemplo, para curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, remediar, mejorar, corregir o afectar LME, por ejemplo, uno o más síntomas de LME descritos en el presente documento.

50 **[0049]** El sujeto normalmente es un mamífero, por ejemplo, ser humano, perro, gato, mono, conejo o mamífero agrícola (por ejemplo, caballo, vaca, cerdo, etc.). Por ejemplo, el sujeto es un ser humano, por ejemplo, un hombre o una mujer. El sujeto puede tener al menos 18, 25, 30, 45, 50, 55, 60 ó 70 años de edad.

55 **[0050]** En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse para tratar una LME primaria. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse para tratar o prevenir una LME secundaria.

[0051] En una realización, el sujeto ha sufrido una LME en el plazo de 48 horas, por ejemplo, en el plazo de 2,

3, 5, 8, 12, 20 ó 30 horas, desde el tratamiento. En otra realización, el sujeto ha sufrido una LME hace más de 48 horas, pero en el plazo de las tres o dos últimas semanas, desde el tratamiento.

[0052] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una cantidad suficiente para mejorar los síntomas en uno o más criterios de evaluación de LME, por ejemplo, un criterio descrito en el presente documento, al menos el 5, 10, 15, 20, 40, 50, 60, 70 o el 80 % o más.

[0053] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una dosificación de 0,025 mg/kg por día a 30 mg/kg por día, por ejemplo, 0,1 a 5 mg/kg, por ejemplo, 0,3 a 3 mg/kg. En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse al menos dos veces en el plazo de un periodo de 14 días después de un accidente cerebrovascular, por ejemplo, al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14 veces en el plazo de un periodo de 14 días después de un accidente cerebrovascular. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede administrarse, por ejemplo, una vez al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, una vez a la semana, o una vez por día durante 1 día, por ejemplo, durante 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 ó 28 días. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse intravenosamente o parenteralmente.

[0054] En una realización, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en combinación con un segundo agente para el tratamiento para LME. El segundo agente puede ser, por ejemplo, un corticosteroide o un glucocorticoide tal como metilprednisolona. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y el segundo agente van a administrarse al mismo tiempo. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse primero en el tiempo y el segundo agente va a administrarse segundo en el tiempo. En una realización preferida, el segundo agente va a administrarse primero en el tiempo y el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse segundo en el tiempo.

[0055] En una realización, el uso también incluye evaluar el sujeto para un criterio de LME descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la evaluación se realiza al menos 1 hora, por ejemplo, al menos 2, 4, 6, 8, 12, 24 ó 48 horas, o al menos 1 semana, 2 semanas, 4 semanas, 10 semanas, 13 semanas, 20 semanas o más, después de la administración del anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo. El sujeto puede evaluarse en uno o más de los siguientes periodos: antes de empezar el tratamiento; durante el tratamiento; o después de que se hayan administrado uno o más elementos del tratamiento. La evaluación puede incluir evaluar la necesidad de tratamiento adicional con el mismo anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, o de tratamiento adicional con agentes adicionales. En una realización preferida, si se obtiene un resultado preseleccionado de la evaluación, se realiza una etapa adicional, por ejemplo, al sujeto se le va a administrar otro tratamiento o va a realizarse otra evaluación o prueba.

[0056] En un aspecto, la divulgación, que incluye la presente invención, incluye un antagonista de VLA-1 para su uso en el tratamiento de LME, por ejemplo, como se describe en el presente documento. El antagonista es un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento. En otro aspecto, la divulgación, que incluye la presente invención, incluye el uso de un antagonista de VLA-1 para la fabricación de un medicamento para tratar LME, por ejemplo, como se describe en el presente documento. El antagonista es un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento.

[0057] En un caso, la divulgación incluye un recipiente que incluye un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y una etiqueta con instrucciones para el uso del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno en el tratamiento de LME.

[0058] La presente invención y realizaciones de la misma se explican en las reivindicaciones adjuntas.

[0059] Como se usa en el presente documento, el término “tratamiento”, “tratar” o “tratando” se refiere a administrar una terapia en una cantidad, manera y/o modo eficaz para mejorar una afección, síntoma o parámetro asociado a un trastorno (por ejemplo, accidente cerebrovascular, LCT o LME) o para reducir la aparición, progresión o exacerbación del trastorno (incluyendo lesión secundaria producida por el trastorno, por ejemplo, accidente cerebrovascular, LCT o LME), a tanto un grado estadísticamente significativo como a un grado detectable para un experto en la materia. Por consiguiente, el tratamiento puede lograr beneficios terapéuticos y/o profilácticos. Una cantidad eficaz, manera o modo puede variar dependiendo del sujeto y puede adaptarse al sujeto. Como se usa en el presente documento, “tratamiento” también engloba el tratamiento profiláctico de sujetos con un elevado riesgo de

accidente cerebrovascular, por ejemplo, un sujeto que ha sufrido un ataque isquémico transitorio. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse después de la lesión isquémica. En una realización preferida, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse después de que el sujeto haya tenido un accidente cerebrovascular.

5

[0060] Como se usa en el presente documento, “una cantidad eficaz para tratar”, o una “cantidad terapéuticamente eficaz”, se refiere a una cantidad de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que es eficaz, tras administraciones de dosis únicas o múltiples a un sujeto, para mejorar o tratar profilácticamente una afección, síntoma o parámetro asociado a un trastorno o para reducir la aparición, progresión o exacerbación del trastorno, a tanto un grado estadísticamente significativo como a un grado detectable para un experto en la materia. Por ejemplo, en el contexto de accidente cerebrovascular, “una cantidad eficaz para tratar” es una cantidad suficiente para reducir el tamaño del infarto, por ejemplo, al menos el 5, 10, 15, 20, 40, 50, 60, 70 o el 80 % o más, en tejido neuronal en el cerebro, con respecto al tamaño del infarto en un sujeto no tratado. Alternativamente, “una cantidad eficaz para tratar” es una cantidad suficiente para mejorar los síntomas en uno o más criterios de evaluación de accidente cerebrovascular, LCT o LME descritos en el presente documento al menos el 5, 10, 15, 20, 40, 50, 60, 70 o el 80 % o más.

[0061] Como se usa en el presente documento, “accidente cerebrovascular” es un término general que se refiere a afecciones producidas por la oclusión o hemorragia de uno o más vasos sanguíneos que suministran al cerebro, conduciendo a muerte celular. “Accidente cerebrovascular isquémico”, como se usa en el presente documento, se refiere al accidente cerebrovascular producido por una oclusión de uno o más vasos sanguíneos que suministran al cerebro. Los tipos de accidente cerebrovascular isquémico incluyen, por ejemplo, accidente cerebrovascular embólico, accidente cerebrovascular cardioembólico, accidente cerebrovascular trombótico, trombotosis de grandes vasos, infarto lacunar, accidente cerebrovascular arteria-arteria y accidente cerebrovascular criptogénico. “Accidente cerebrovascular hemorrágico”, como se usa en el presente documento, se refiere al accidente cerebrovascular producido por la hemorragia de uno o más vasos sanguíneos que suministran al cerebro. Los tipos de accidente cerebrovascular hemorrágico incluyen, por ejemplo, accidente cerebrovascular subdural, accidente cerebrovascular intraparenquimatoso, accidente cerebrovascular epidural y accidente cerebrovascular subaracnoideo.

30

[0062] Como se usa en el presente documento, “lesión cerebral traumática” o “LCT” se refiere a la lesión al cerebro producida por fuerza física o traumatismo. La LCT puede ser primaria o secundaria. La “LCT primaria” se produce inmediatamente tras la fuerza física o traumatismo y puede producir, por ejemplo, expansión del hematoma, hemorragia subaracnoidea, edema cerebral, presión intracraneal elevada e hipoxia cerebral. La “LCT secundaria” puede producirse durante un periodo de horas a días tras la fuerza física o traumatismo y puede conducir a acontecimientos secundarios graves (por ejemplo, accidente cerebrovascular). La LCT se define como “leve” cuando un paciente puntúa entre 13 y 15 en la escala de coma de Glasgow (GCS). La LCT leve puede asociarse a una pérdida de consciencia (PC) durante 5 minutos o menos después de la fuerza física o traumatismo y/o amnesia durante un periodo de 10 minutos o menos después de la fuerza física o traumatismo. La LCT se define como “moderada a grave” cuando un paciente puntúa menos de 13 en la GCS.

[0063] Como se usa en el presente documento, “lesión de la médula espinal” o “LME” se refiere a una lesión traumática sufrida por la médula espinal y/o el área a su alrededor. La médula espinal puede comprimirse, seccionarse o contusionarse, conduciendo a lesión física o fisiológica a los axones y afectando a la conducción de impulsos neuroeléctricos a lo largo de la longitud de los axones afectados. Pueden morir grandes poblaciones de axones, que incluyen sus cuerpos celulares asociados, causando la pérdida de comunicación entre el cerebro y los nervios periféricos. La LME conduce así a pérdida repentina de la función motora completa o parcial, cuyo grado depende de la localización de la lesión. La LME superior (cervical) puede producir pérdida total de la función motora, cuádruplejía, pérdida del control respiratorio y/o colapso cardiovascular. La LME inferior (torácica) puede producir paraplejía sin implicar disfunción de los brazos o respiratoria.

[0064] Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en los dibujos adjuntos y la descripción a continuación. Otras características, objetivos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y dibujos, y de las reivindicaciones.

55

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0065]

La fig. 1A es una gráfica de evaluación del comportamiento después de OACC.

La fig. 1B es una gráfica del porcentaje del hemisferio infartado en ratones de control y tratados con anticuerpo anti-VLA-1 tras OACC.

5 La fig. 1C es una gráfica de volumen de infarto en ratones de control y tratados con anticuerpo anti-VLA-1 tras OACC.

La fig. 1D es una gráfica de porcentaje de edema en ratones de control y tratados con anticuerpo anti-VLA-1 tras OACC.

La fig. 2A es una gráfica de volumen de infarto en ratones de control y tratados con anticuerpo anti-VLA-1 tras OACC.

10 La fig. 2B es una gráfica de porcentaje de edema en ratones de control y tratados con anticuerpo anti-VLA-1 tras OACC.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

15 **[0066]** Los resultados presentados en el presente documento muestran que un bloqueo del anticuerpo para VLA-1 puede reducir el tamaño del infarto *in vivo* en un modelo de isquemia cerebral. Los resultados demuestran, entre otras cosas, que la administración de un antagonista de VLA-1, por ejemplo, un anticuerpo para VLA-1, puede reducir la lesión isquémica en el SNC, particularmente la lesión isquémica traumática. Por consiguiente, un antagonista de VLA-1, por ejemplo, un anticuerpo para VLA-1, puede administrarse para tratar accidente
20 cerebrovascular, lesión cerebral traumática (LCT) y lesión de la médula espinal (LME), por ejemplo, solo o en combinación con otro tratamiento, además de otras lesiones isquémicas.

VLA-1

25 **[0067]** Las integrinas son una superfamilia de receptores de la superficie celular que median en la adhesión célula-célula y célula-matriz. Se muestra que estas proteínas proporcionan anclaje, además de señales para el crecimiento, migración y diferenciación celular, durante el desarrollo y la reparación de tejido. Participan en procesos inmunitarios e inflamatorios.

30 **[0068]** Las integrinas son proteínas heterodiméricas compuestas por dos cadenas no covalentemente enlazadas de polipéptidos, α y β . El extremo amino de cada cadena forma una cabeza globular que contribuye al enlace entre cadenas y a la unión al ligando. Las cabezas globulares están conectadas a los segmentos transmembrana por tallos. Las colas citoplásmicas son normalmente inferiores a 50 residuos de aminoácidos de longitud. Las subfamilias de la integrina se definieron originalmente basándose en qué unidad β se usó para formar
35 los heterodímeros. Las integrinas que contienen $\beta 1$ también se llaman moléculas VLA, con referencia a antígenos de "activación muy tardía". VLA-1 a VLA-6 se refieren a los miembros de la subfamilia $\beta 1$ que contienen $\alpha 1$ a $\alpha 6$ (es decir, CD49a a CD49f), respectivamente. Para una revisión general véase Cellular and Molecular Immunology, eds. Abul K. Abbas y col., W. B. Saunders Company, Philadelphia, PA, 2000.

40 **[0069]** El colágeno (ambos tipos I y IV) y la laminina son ligandos conocidos de la integrina $\alpha 1 \beta 1$ (es decir, VLA-1). VLA-1 participa en la adhesión y migración celular sobre el colágeno (Keely y col., 1995, J. Cell Sci. 108: 595-607; y Gotwals y col., 1996, J. Clin. Invest. 97: 2469-2477); en promover la contracción y reorganización de matrices de colágeno, un componente crítico de la cicatrización (Gotwals y col., arriba; y Chiro, 1991, Cell 67 : 403-410); y en regular la expresión de genes que participan en la remodelación de la matriz extracelular (Riikonen y col.,
45 1995, J. Biol. Chem. 270: 1-5; y Langholz y col., 1995, J. Cell Biol. 131: 1903-1915).

Antagonistas de VLA-1

[0070] Puede usarse una variedad de agentes como antagonistas de VLA-1 para tratar accidente
50 cerebrovascular. Tales agentes incluyen anticuerpos para VLA-1 o para una parte de VLA-1, por ejemplo, para la subunidad $\alpha 1$ de VLA-1. Algunos agentes preferidos incluyen los anticuerpos anti-VLA-1 desvelados en las solicitudes de patente de EE.UU. 60/283.794, presentada el 14 de abril de 2001, y 60/303.689, presentada el 6 de julio de 2001, y desvelados en el documento WO 02/083854. Las divulgaciones de estas solicitudes se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. Otros agentes incluyen moléculas pequeñas que bloquean
55 la interacción de VLA-1 con su ligando, por ejemplo, colágeno o laminina, o modulan la señalización de células de integrina para reducir una actividad celular o función bioquímica asociada a VLA-1. Agentes útiles en los procedimientos desvelados en el presente documento también incluyen aquellos que reducen la expresión de VLA-1, tal como por terapia génica y tecnología antisentido.

Anticuerpos anti-VLA-1

[0071] Antagonistas de VLA-1 a modo de ejemplo incluyen anticuerpos que se unen a VLA-1. En una realización, el anticuerpo inhibe la interacción entre VLA-1 y un ligando de VLA-1 (por ejemplo, colágeno), por ejemplo, bloqueando físicamente la interacción, disminuyendo la afinidad de VLA-1 y/o un ligando de VLA-1 para su homólogo, alterando o desestabilizando complejos de VLA-1, secuestrando VLA-1 o eligiendo VLA-1 como diana para la degradación. En una realización, el anticuerpo puede unirse a VLA-1 en uno o más residuos de aminoácidos que participan en la superficie de separación de unión VLA-1/ligando. Tales residuos de aminoácidos pueden identificarse, por ejemplo, por cribado con alanina. En otra realización, el anticuerpo puede unirse a residuos que no participan en la unión VLA-1/ligando. Por ejemplo, el anticuerpo puede alterar una conformación de VLA-1 y así reducir la afinidad de unión, o el anticuerpo puede impedir estéricamente la unión VLA-1/ligando. En una realización, el anticuerpo puede reducir la activación de un acontecimiento o actividad mediada por VLA-1.

[0072] Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" se refiere a una proteína que incluye al menos una región variable de inmunoglobulina, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que proporciona un dominio variable de inmunoglobulina o una secuencia del dominio variable de inmunoglobulina. Por ejemplo, un anticuerpo puede incluir una región variable de la cadena pesada (H) (abreviada en el presente documento VH) y una región variable de la cadena ligera (L) (abreviada en el presente documento VL). En otro ejemplo, un anticuerpo incluye dos regiones variables de la cadena pesada (H) y dos regiones variables de la cadena ligera (L). El término "anticuerpo" engloba fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monocatenarios, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fd, fragmentos Fv y fragmentos dAb), además de anticuerpos completos, por ejemplo, inmunoglobulinas intactas y/o de longitud completa de los tipos IgA, IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgE, IgD, IgM (además de subtipos de las mismas). Las cadenas ligeras de la inmunoglobulina pueden ser de los tipos kappa o lambda. En una realización, el anticuerpo está glicosilado. Un anticuerpo puede ser funcional para citotoxicidad dependiente de anticuerpo y/o citotoxicidad mediada por el complemento, o puede ser no funcional para una o ambas de estas actividades.

[0073] Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, llamadas "regiones determinantes de la complementariedad" ("CDR"), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas "regiones estructurales" (FR). El grado de las FR y CDR se ha definido con precisión (véase, Kabat, E.A. y col. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, US Department of Health and Human Services, Publicación del NIH nº 91-3242; y Chotia, C. y col. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917). En el presente documento se usan las definiciones de Kabat. Cada VH y VL normalmente está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas de extremo amino a extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0074] Un "dominio de inmunoglobulina" se refiere a un dominio del dominio variable o constante de moléculas de inmunoglobulina. Los dominios de inmunoglobulina normalmente contienen dos hojas β formadas de aproximadamente siete cadenas β , y un enlace disulfuro conservado (véase, por ejemplo, A. F. Williams y A. N. Barclay (1988) *Ann. Rev. Immunol.* 6:381-405). Una "secuencia del dominio variable de inmunoglobulina" se refiere a una secuencia de aminoácidos que puede formar una estructura suficiente para poner las secuencias de CDR en una conformación adecuada para la unión al antígeno. Por ejemplo, la secuencia puede incluir toda o parte de la secuencia de aminoácidos de un dominio variable que se produce naturalmente. Por ejemplo, la secuencia puede omitir uno, dos o más aminoácidos del extremo N o C, aminoácidos internos, puede incluir una o más inserciones o aminoácidos terminales adicionales, o puede incluir otras alteraciones. En una realización, un polipéptido que incluye una secuencia del dominio variable de inmunoglobulina puede asociarse con otra secuencia del dominio variable de inmunoglobulina para formar una estructura de unión a la diana (o "sitio de unión al antígeno"), por ejemplo, una estructura que interacciona con VLA-1.

[0075] La cadena VH o VL del anticuerpo puede incluir adicionalmente toda o parte de una región constante de la cadena ligera o pesada, para así formar una cadena de inmunoglobulina pesada o ligera, respectivamente. En una realización, el anticuerpo es un tetrámero de dos cadenas de inmunoglobulina pesadas y dos cadenas de inmunoglobulina ligeras. Las cadenas de inmunoglobulina pesadas y ligeras pueden conectarse por enlaces disulfuro. La región constante de la cadena pesada normalmente incluye tres dominios constantes, CH1, CH2 y CH3. La región constante de la cadena ligera normalmente incluye un dominio CL. La región variable de las cadenas pesadas y ligeras contiene un dominio de unión que interacciona con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos normalmente median en la unión del anticuerpo a tejidos o factores huésped, que incluyen diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico.

[0076] Una o más regiones de un anticuerpo pueden ser humanas, eficazmente humanas, o humanizadas. Por ejemplo, una o más de las regiones variables pueden ser humanas o eficazmente humanas. Por ejemplo, una o más de las CDR, por ejemplo, CDR1 de HC, CDR2 de HC, CDR3 de HC, CDR1 de LC, CDR2 de LC y CDR3 de LC, pueden ser humanas. Cada una de las CDR de la cadena ligera pueden ser humanas. CDR3 de HC puede ser humana. Una o más de las regiones estructurales pueden ser humanas, por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y FR4 de HC o LC. En una realización, todas las regiones estructurales son humanas, por ejemplo, derivadas de una célula somática humana, por ejemplo, una célula hematopoyética que produce inmunoglobulinas o una célula no hematopoyética. En una realización, las secuencias humanas son secuencias de la línea germinal, por ejemplo, codificadas por un ácido nucleico de la línea germinal. Una o más de las regiones constantes pueden ser humanas, eficazmente humanas o humanizadas. En otra realización, al menos el 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95 o el 98 % de las regiones estructurales (por ejemplo, FR1, FR2 y FR3, conjuntamente, o FR1, FR2, FR3 y FR4, conjuntamente) o el anticuerpo entero puede ser humano, eficazmente humano o humanizado. Por ejemplo, FR1, FR2 y FR3 pueden ser conjuntamente al menos el 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 98 o el 99 % idénticas, o completamente idénticas, a una secuencia humana codificada por un segmento de la línea germinal humana.

[0077] Una región variable "eficazmente humana" de inmunoglobulina es una región variable de inmunoglobulina que incluye un número suficiente de posiciones de aminoácidos de la región estructural humana de forma que la región variable de inmunoglobulina no provoque una respuesta inmunogénica en un ser humano normal. Un anticuerpo "eficazmente humano" es un anticuerpo que incluye un número suficiente de posiciones de aminoácidos humanas de forma que el anticuerpo no provoque una respuesta inmunogénica en un ser humano normal.

[0078] Una región variable "humanizada" de inmunoglobulina es una región variable de inmunoglobulina que se modifica de forma que la forma modificada provoque menos de una respuesta inmunitaria en un ser humano que la forma no modificada, por ejemplo, se modifica para incluir un número suficiente de posiciones de aminoácidos de la región estructural humana de forma que la región variable de inmunoglobulina no provoque una respuesta inmunogénica en un ser humano normal. Descripciones de inmunoglobulinas "humanizadas" incluyen, por ejemplo, las patentes de EE.UU. nº 6.407.213 y 5.693.762. En algunos casos, las inmunoglobulinas humanizadas pueden incluir un aminoácido no humano en una o más posiciones de aminoácidos de la región estructural.

[0079] Los anticuerpos anti-VLA-1 también pueden ser anticuerpos quiméricos, por ejemplo, generados por manipulación de un anticuerpo relacionado (por ejemplo, murino, rata o conejo). Por ejemplo, un anticuerpo relacionado puede alterarse por tecnología de ADN recombinante de forma que parte o toda la bisagra y/o regiones constantes de las cadenas pesadas y/o ligeras se sustituyan por los componentes correspondientes de un anticuerpo de otra especie (por ejemplo, humano). Generalmente, los dominios variables del anticuerpo manipulado siguen siendo idénticos o sustancialmente en cuanto a los dominios variables del anticuerpo relacionado. Un anticuerpo manipulado tal se llama un anticuerpo quimérico y es menos antigénico que el anticuerpo relacionado cuando se administra a un individuo de la especie de la que se deriva la bisagra y/o región constante (por ejemplo, una humana). Los procedimientos de preparación de anticuerpos quiméricos son muy conocidos en la técnica. Regiones constantes preferidas incluyen, pero no se limitan a, aquellas derivadas de IgG1 e IgG4.

[0080] Anticuerpos anti-VLA-1 a modo de ejemplo útiles en los procedimientos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, anticuerpo monoclonal AJH10 (ATCC PTA-3580; depositado el 2 de agosto de 2001 en la Colección Americana de Cultivos Tipo, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209), hAQC2 (ATCC PTA-3275; depositado el 18 de abril de 2001), haAQC2 (ATCC PTA-3274; depositado el 18 de abril de 2001), hsAQC2 (ATCC PTA-3356; depositado el 4 de mayo de 2001) y mAQC2 (ATCC PTA-3273). Todos estos anticuerpos se depositaron bajo el Tratado de Budapest. Otros anticuerpos anti-VLA-1 incluyen, por ejemplo, el anticuerpo monoclonal 1B3 (ATCC HB-10536) descrito en las patentes de EE.UU. 5.391.481 y 5.788.966, y Ha31/8.

Generación de anticuerpos

[0081] Los anticuerpos que se unen a VLA-1 pueden generarse mediante una variedad de medios, que incluyen inmunización, por ejemplo, usando un animal, o procedimientos *in vitro* tales como expresión en fago. Todos o parte de VLA-1 pueden usarse como inmunógeno o como diana para la selección. Por ejemplo, VLA-1 o un fragmento del mismo, por ejemplo, todo o una parte de una subunidad $\alpha 1$ de VLA-1, por ejemplo, un dominio $\alpha 1$ -I. En una realización, el animal inmunizado contiene células productoras de inmunoglobulina con sitios de inmunoglobulina naturales, humanos o parcialmente humanos. En una realización, el animal no humano incluye al menos una parte de un gen de inmunoglobulina humana. Por ejemplo, es posible manipular cepas de ratón

deficientes en la producción de anticuerpos de ratón con grandes fragmentos de los sitios de Ig humana. Usando la tecnología de hibridomas, pueden producirse y seleccionarse anticuerpos monoclonales específicos de antígeno derivados de los genes con la especificidad deseada. Véanse, por ejemplo, XENOMOUSE™, Green y col. (1994) Nat. Gen. 7:13-21; documento US 2003-0070185; patente de EE.UU. n.º 5.789.650; y documento WO 96/34096.

5

[0082] También pueden producirse anticuerpos no humanos para VLA-1, por ejemplo, en un roedor. El anticuerpo no humano puede humanizarse, por ejemplo, como se describe en el documento EP 239 400; patentes de EE.UU. n.º 6.602.503; 5.693.761; y 6.407.213, desinmunizarse, o modificarse de otro modo para hacerlo eficazmente humano.

10

[0083] El documento EP 239 400 (Winter y col.) describe alterar anticuerpos por sustitución (dentro de una región variable dada) de sus regiones determinantes de la complementariedad (CDR) para una especie con aquellos de otra. Normalmente, las CDR de un anticuerpo no humano (por ejemplo, murino) están sustituidas en las regiones correspondientes en un anticuerpo humano usando tecnología de ácidos nucleicos recombinantes para producir
15 secuencias que codifican el anticuerpo sustituido deseado. Pueden añadirse segmentos de genes de la región constante humana del isotipo deseado (normalmente gamma I para CH y kappa para CL) y los genes de las cadenas pesadas y ligeras humanizadas pueden co-expresarse en células de mamífero para producir anticuerpo humanizado soluble. También pueden usarse otros procedimientos de humanización de anticuerpos. Por ejemplo, otros procedimientos pueden explicar la estructura tridimensional del anticuerpo, posiciones de la región estructural
20 que están en proximidad tridimensional para unirse a determinantes y secuencias de péptidos inmunogénicas. Véanse, por ejemplo, el documento WO 90/07861; patentes de EE.UU. n.º 5.693.762; 5.693.761; 5.585.089; y 5.530.101; Tempest y col. (1991) Biotechnology 9:266-271 y patente de EE.UU. n.º 6.407.213.

[0084] A veces, la transferencia directa de CDR a una región estructural humana conduce a una pérdida de
25 afinidad de unión al antígeno del anticuerpo resultante. Esto es debido a que, en algunos anticuerpos relacionados, ciertos aminoácidos dentro de las regiones estructurales interaccionan con las CDR y así influyen en la afinidad de unión al antígeno global del anticuerpo. En tales casos sería crítico introducir "retromutaciones" en las regiones estructurales del anticuerpo aceptor con el fin de retener la actividad de unión al antígeno del anticuerpo relacionado. El enfoque general de preparación de retromutaciones se conoce en la técnica. Por ejemplo, Queen y col. (arriba),
30 Co y col., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 88 : 2869-2873(1991) y el documento WO 90/07861 (Protein Design Labs Inc.) describen un enfoque que implica dos etapas clave. Primera, las regiones estructurales V humanas se eligen por análisis informático para la homología de secuencias de proteínas óptima con la región estructural V del anticuerpo murino relacionado. Entonces, la estructura terciaria de la región V murina se modela por ordenador con el fin de visualizar residuos de aminoácidos de la región estructural que es probable que interaccionen con las CDR murinas,
35 y estos residuos de aminoácidos murinos se superponen entonces sobre la región estructural humana homóloga. Bajo este enfoque de dos etapas hay varios criterios para diseñar anticuerpos humanizados. El primer criterio es usar como aceptor humano la región estructural de una inmunoglobulina humana particular que es normalmente homóloga a la inmunoglobulina donante no humana, o usar una región estructural consenso de muchos anticuerpos humanos. El segundo criterio es usar el aminoácido donante en vez del aceptor si el residuo aceptor humano es
40 inusual y el residuo donante es típico para secuencias humanas en un residuo específico de la región estructural. El tercer criterio es usar el residuo de aminoácido de la región estructural donante en vez del aceptor en las posiciones inmediatamente adyacentes a las CDR.

[0085] También puede usarse un enfoque diferente como se describe en, por ejemplo, Tempest,
45 Biotechnology 9: 266-271 (1991). Bajo este enfoque, las regiones estructurales V derivadas de cadenas pesadas y ligeras de NEWM y REI, respectivamente, se usan para injertar CDR sin introducción de radicales de residuos de ratón. Una ventaja de uso de este enfoque es que las estructuras tridimensionales de las regiones variables de NEWM y REI son conocidas de la cristalografía de rayos X y así pueden modelarse fácilmente interacciones específicas entre CDR y residuos de la región estructural V.

50

[0086] Pueden producirse anticuerpos monoclonales completamente humanos que se unen a VLA-1, por ejemplo, usando esplenocitos humanos sensibilizados *in vitro*, como se describe por Boerner y col. (1991) J. Immunol. 147:86-95. También pueden prepararse por clonación de repertorios como se describe por Persson y col. (1991) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 88:2432-2436 o por Huang y Stollar (1991) J. Immunol. Methods 141:227-236;
55 también la patente de EE.UU. n.º 5.798.230. También pueden usarse grandes bibliotecas de expresión en fago humano no inmunizado para aislar anticuerpos de alta afinidad que pueden desarrollarse como terapéuticos humanos usando tecnología de fagos estándar (véase, por ejemplo, Hoogenboom y col. (1998) Immunotechnology 4:1-20; Hoogenboom y col. (2000) Immunol Today 2:371-8; y US 2003-0232333). Otros procedimientos para producir anticuerpos completamente humanos implican el uso de animales no humanos que tienen sitios de Ig

endógena inactivada y son transgénicos para genes de la cadena pesada y cadena ligera de anticuerpos humanos no reorganizados. Tales animales transgénicos pueden inmunizarse con α 1-I o un fragmento antigénico deseado de los mismos, y entonces se preparan hibridomas de linfocitos B derivados de los mismos. Estos procedimientos se describen en, por ejemplo, las diversas publicaciones/patentes de GenPharm/Medarex (Palo Alto, CA) referentes a ratones transgénicos que contienen minisitos de Ig humana (por ejemplo, patente de EE.UU. 5.789.650); las diversas publicaciones/patentes de Abgenix (Fremont, CA) con respecto a XENOMICE (por ejemplo, patentes de EE.UU. 6.075.181; 6.150.584 y 6.162.963; Green y col., Nature Genetics 7: 13-21 (1994); y Mendez y col., 15 (2): 146-56 (1997)); y las diversas publicaciones/patentes de Kirin (Japón) referentes a ratones "transómicos" (por ejemplo, documento EP 843 961, y Tomizuka y col., Nature Genetics 16: 133-1443 (1997)).

Producción de anticuerpos y proteínas

[0087] Los anticuerpos y otras proteínas descritas en el presente documento pueden producirse en células procariotas y eucariotas. En una realización, los anticuerpos (por ejemplo, scFv) se expresan en una célula de levadura tal como *Pichia* (véase, por ejemplo, Powers y col. (2001) J. Immunol. Methods 251:123-35), *Hansenula* o *Saccharomyces*.

[0088] Los anticuerpos, particularmente anticuerpos de longitud completa, por ejemplo, IgG, pueden producirse en células de mamífero. Células huésped de mamífero a modo de ejemplo para la expresión recombinante incluyen ovario de hámster chino (células CHO) (incluyendo células CHO dhfr-, descritas en Urlaub y Chasin (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, usadas con un marcador de selección DHFR, por ejemplo, como se describe en Kaufman y Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621), líneas celulares linfocíticas, por ejemplo, células de mieloma NS0 y células SP2, células COS, K562, y una célula de un animal transgénico, por ejemplo, un mamífero transgénico. Por ejemplo, la célula es una célula epitelial mamaria.

[0089] Además de la secuencia de ácidos nucleicos que codifica el dominio de inmunoglobulina, los vectores de expresión recombinantes pueden llevar secuencias de ácidos nucleicos adicionales, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en células huésped (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes marcadores de selección. El gen marcador de selección facilita la selección de células huésped en las que el vector se ha introducido (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 4.399.216; 4.634.665; y 5.179.017). Genes marcadores de selección a modo de ejemplo incluyen el gen dihidrofolato reductasa (DHFR) (para su uso en células huésped dhfr⁻ con selección/amplificación con metotrexato) y el gen neo (para selección con G418).

[0090] En un sistema a modo de ejemplo para la expresión recombinante de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo de longitud completa o una porción de unión al antígeno del mismo), un vector de expresión recombinante que codifica tanto la cadena pesada del anticuerpo como la cadena ligera del anticuerpo se introduce en células CHO dhfr- por transfección mediada por fosfato de calcio. Dentro del vector de expresión recombinante, los genes de cadena pesada y ligera del anticuerpo están cada uno operativamente ligados a elementos reguladores potenciadores/promotores (por ejemplo, derivados de SV40, CMV, adenovirus y similares, tales como un elemento regulador potenciador del CMV/promotor del AdMLP o un elemento regulador potenciador del SV40/promotor del AdMLP) para accionar altos niveles de transcripción de los genes. El vector de expresión recombinante también lleva un gen DHFR, que permite la selección de células CHO que se han transfectado con el vector usando selección/amplificación con metotrexato. Las células huésped transformantes seleccionadas se cultivan para permitir la expresión de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo y se recupera anticuerpo intacto del medio de cultivo. Se usan técnicas de biología molecular convencionales para preparar el vector de expresión recombinante, para transfectar las células huésped, para seleccionar transformantes, para cultivar las células huésped y para recuperar el anticuerpo del medio de cultivo. Por ejemplo, pueden aislarse algunos anticuerpos por cromatografía de afinidad con una proteína A o proteína G.

[0091] Los anticuerpos también pueden incluir modificaciones, por ejemplo, modificaciones que alteran la función de Fc, por ejemplo, para reducir o eliminar la interacción con un receptor de Fc o con C1q, o ambos. Por ejemplo, la región constante de IgG1 humana puede mutarse en uno o más residuos, por ejemplo, uno o más de los residuos 234 y 237, por ejemplo, según la numeración en la patente de EE.UU. n.º 5.648.260. Otras modificaciones a modo de ejemplo incluyen aquellas descritas en la patente de EE.UU. n.º 5.648.260.

[0092] Para algunas proteínas que incluyen un dominio Fc, el sistema de producción de anticuerpo/proteína puede diseñarse para sintetizar anticuerpos u otras proteínas en los que la región Fc está glucosilada. Por ejemplo, el dominio Fc de moléculas IgG está glucosilado en la asparagina 297 en el dominio CH2. El dominio Fc también puede incluir otras modificaciones post-traduccionales eucariotas. En otros casos, la proteína se produce en una

forma que no está glucosilada.

[0093] También pueden producirse anticuerpos por un animal transgénico. Por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.849.992 describe un procedimiento de expresión de un anticuerpo en la glándula mamaria de un mamífero transgénico. Se construye un transgén que incluye un promotor específico de la leche y secuencias de ácidos nucleicos que codifican el anticuerpo de interés, por ejemplo, un anticuerpo descrito en el presente documento, y una secuencia señal para la secreción. La leche producida por las hembras de tales mamíferos transgénicos incluye, secretada en ella, la proteína de interés, por ejemplo, un anticuerpo. La proteína puede purificarse de la leche, o para algunas aplicaciones, usarse directamente.

Otros restos

[0094] Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden comprender además otros restos para efectuar las funciones deseadas. Por ejemplo, los anticuerpos pueden incluir un de resto toxina (por ejemplo, toxoide tetánico o ricina) o un radionúclido (por ejemplo, ¹¹¹In o ⁹⁰Y) para destruir las células elegidas como diana por los anticuerpos (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. 6.307.026). Los anticuerpos pueden comprender un resto (por ejemplo, biotina, restos fluorescentes, restos radiactivos, marcas de histidina, etc.) para el fácil aislamiento o detección. Los anticuerpos también pueden comprender un resto que puede prolongar su semivida en suero, por ejemplo, un resto de polietilenglicol (PEG).

Lesiones isquémicas

[0095] Isquemia se refiere a una reducción o abolición del riego sanguíneo a un tejido. Los procedimientos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar lesiones asociadas a isquemia, o "lesiones isquémicas". Las lesiones isquémicas pueden incluir lesiones a, por ejemplo, el riñón, hígado, pulmones, páncreas, músculo esquelético, intestinos, corazón y cerebro. Las lesiones isquémicas pueden asociarse a o producirse por, por ejemplo, infarto agudo de miocardio, angioplastia electiva, injerto de derivación de las arterias coronarias, cirugía que implica derivación cardíaca o trasplante de órgano o tejido (por ejemplo, trasplante cardíaco), rechazo de tejido después del trasplante, enfermedad de injerto contra huésped, accidente cerebrovascular, traumatismo craneoencefálico, ahogamiento, septicemia, paro cardíaco, choque, aterosclerosis, hipertensión, enfermedad cardíaca inducida por la cocaína, enfermedad cardíaca inducida por el tabaquismo, insuficiencia cardíaca, hipertensión pulmonar, hemorragia, síndrome de fuga capilar (tal como síndrome disneico del niño y del adulto), insuficiencia multiorgánica, un estado de presión oncótica de bajo coloide (tal como inanición, anorexia nerviosa o insuficiencia hepática con disminución de la producción de proteínas del suero), anafilaxia, hipotermia, criolesión (por ejemplo, debido a perfusión hipotérmica o congelación), síndrome hepatorenal, delirio alcohólico, una lesión por aplastamiento, insuficiencia mesentérica, enfermedad vascular periférica, claudicación, quemadura, electrocución, excesiva vasodilatación inducida por fármacos, excesiva vasoconstricción inducida por fármacos, exposición a la radiación (por ejemplo, durante fluoroscopia u obtención de imágenes radiográficas), o exposición a alta energía, por ejemplo, exposición a luz láser. La excesiva vasodilatación inducida por fármacos puede producirse por, por ejemplo, nitroprusiato, hidralazina, diazóxido, un bloqueante de los canales de calcio o un anestésico general. La excesiva vasoconstricción inducida por fármacos puede producirse por, por ejemplo, neosinefrina, isoproterenol, dopamina, dobutamina o cocaína.

Lesión por isquemia-reperfusión

[0096] "Lesión por isquemia-reperfusión" se refiere a una lesión que resulta del restablecimiento (reperfusión) del flujo de sangre a una región del cuerpo tras una parada temporal en el flujo. Por ejemplo, la lesión por isquemia-reperfusión puede producirse durante ciertos procedimientos quirúrgicos, tales como reparación de aneurismas aórticos y trasplante de órganos. Clínicamente, la lesión por isquemia-reperfusión puede manifestarse por complicaciones tales como, por ejemplo, disfunción pulmonar, que incluye síndrome disneico del adulto, disfunción renal, coagulopatías de consumo que incluyen trombocitopenia, deposición de fibrina en la microvasculatura y coagulopatía intravascular diseminada, lesión transitoria y permanente de la médula espinal, arritmias cardíacas y acontecimientos isquémicos agudos, disfunción hepática que incluye lesión hepatocelular aguda y necrosis, disfunción gastrointestinal que incluye hemorragia y/o infarto e insuficiencia multiorgánica (IMO) o síndromes disneicos inflamatorios sistémicos agudos (SIRS). La lesión puede producirse en las partes del cuerpo a las que se interrumpió el riego sanguíneo, o puede producirse en partes completamente suministradas con sangre durante el periodo de isquemia.

Accidente cerebrovascular

[0097] El accidente cerebrovascular es un término general para lesión cerebral aguda resultante de enfermedad o lesión de los vasos sanguíneos. El accidente cerebrovascular puede clasificarse en al menos dos categorías principales: accidente cerebrovascular hemorrágico (resultante de la fuga de sangre fuera de los vasos sanguíneos normales) y accidente cerebrovascular isquémico (isquemia cerebral debida a la falta de riego sanguíneo). Algunos acontecimientos que pueden producir accidente cerebrovascular isquémico incluyen trombosis, embolia e hipoperfusión sistémica (con isquemia e hipoxia resultantes).

[0098] El accidente cerebrovascular generalmente produce muerte y lesión neuronal en el cerebro por la privación de oxígeno y acontecimientos secundarios. El área del cerebro que muere como resultado de la falta de riego sanguíneo u otra lesión se llama un infarto. En algunos casos, los tratamientos descritos en el presente documento pueden usarse para reducir o minimizar el tamaño de un infarto, por ejemplo, reduciendo los acontecimientos secundarios que producen muerte o lesión neuronal.

[0099] La obstrucción de una arteria cerebral resultante de un trombo que se ha formado sobre la pared de una arteria del cerebro se llama generalmente trombosis cerebral. En la embolia cerebral, el material oclusivo que bloquea la arteria cerebral se produce aguas abajo en la circulación (por ejemplo, un émbolo es llevado a la arteria cerebral del corazón). Debido a que es difícil de percibir si un accidente cerebrovascular se produce por trombosis o embolia, el término tromboembolia se usa para cubrir estos dos tipos de accidente cerebrovascular. La hipoperfusión sistémica puede producirse como consecuencia de la disminución de los niveles de sangre, reducción de hematocrito, hipotensión arterial o incapacidad del corazón para bombear sangre adecuadamente.

[0100] Se han usado agentes trombolíticos, tales como el activador tisular del plasminógeno (t-PA), en el tratamiento de accidente cerebrovascular tromboembólico. Estas moléculas funcionan lisando el trombo que causa la isquemia. Se cree que tales fármacos son los más útiles si se administran tan pronto como sea posible después del accidente cerebrovascular agudo (preferentemente en el plazo de 3 horas) con el fin de restaurar al menos parcialmente la circulación sanguínea cerebral en la región isquémica y para sostener la viabilidad neuronal. Puede usarse un antagonista de VLA-1, en lugar de o en combinación, con tales agentes trombolíticos, para lograr un beneficio terapéutico en un sujeto que ha sufrido un accidente cerebrovascular tromboembólico.

[0101] Debido a que los agentes trombolíticos agravan la hemorragia, su uso en accidente cerebrovascular hemorrágico está contraindicado. Sin embargo, puede usarse un antagonista de VLA-1 para proporcionar beneficio terapéutico en casos de accidente cerebrovascular hemorrágico.

[0102] Además, puede administrarse un antagonista de VLA-1 como terapia profiláctica para accidente cerebrovascular, o como un componente de la misma, por ejemplo, a un sujeto que ha sufrido un AIT o que está presentando síntomas de AIT. Si los síntomas de accidente cerebrovascular duran menos de 24 horas y el sujeto se recupera completamente, se dice que el sujeto ha sufrido un ataque isquémico transitorio (AIT). Los síntomas de AIT incluyen una alteración temporal del habla, visión, sensación, o movimiento. Debido a que frecuentemente se cree que un AIT es un preludio de un accidente cerebrovascular a gran escala, los sujetos que han sufrido un AIT son candidatos para terapia profiláctica de accidente cerebrovascular, por ejemplo, con un antagonista de VLA-1 solo o en combinación con otro agente, por ejemplo, un agente anticoagulante (por ejemplo, cumarina y heparina) o un agente antiplaquetario (tal como aspirina y ticlopidina).

45 Otros tratamientos para accidente cerebrovascular

[0103] Un tratamiento para accidente cerebrovascular puede implicar el uso de uno o más antagonistas de VLA-1 que pueden usarse en combinación con uno o más tratamientos para accidente cerebrovascular. Los tratamientos pueden administrarse al mismo tiempo, pero también en momentos separados, por ejemplo, en momentos separados que están en el plazo de un intervalo especificado, por ejemplo, en el plazo de las mismas 48, 24, 12, 6, 2 ó 1 hora. Además, los tratamientos pueden estar usando distintos modos de administración.

[0104] Los tratamientos que pueden administrarse en combinación con un antagonista de VLA-1 incluyen: un agente trombolítico (por ejemplo, estreptocinasa, complejo activador de plasminógeno-estreptocinasa acilado (APSAC), urocinasa, activador de urocinasa-plasminógeno monocatenario (scu-PA), agentes antiinflamatorios, enzimas similares a trombina de venenos de serpiente tales como ancrod, inhibidores de la trombina, activador tisular del plasminógeno (t-PA) y variantes biológicamente activas de cada uno de los anteriores); un anticoagulante (por ejemplo, warfarina o heparina); fármaco antiplaquetario (por ejemplo, aspirina); un inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa; un glicosaminoglicano; cumarina; GCSF; melatonina; un inhibidor de caspasa; un antioxidante (por ejemplo,

NXY-059, véase Lees y col., (2006) N. Engl. J. Med 354, 588-600), un neuroprotector (por ejemplo, un antagonista de receptores de NMDA y un antagonista de cannabinoides), un anticuerpo anti-CD18; un anticuerpo anti-CD11a; un anticuerpo anti-ICAM-1; un anticuerpo anti-VLA-4, un anticuerpo anti-TWEAK, un anticuerpo anti-TWEAK-R, endarterectomía carotídea; angioplastia; inserción de una prótesis endovascular; y una medicina alternativa (por ejemplo, acupuntura, medicina tradicional china, meditación, masaje, tratamiento con oxígeno hiperbárico o pedagogía conductual).

[0105] Ejemplos particulares de tratamientos de combinación incluyen administrar un antagonista de VLA-1 a un sujeto que ha sufrido un accidente cerebrovascular poco después de la aparición de los síntomas del accidente cerebrovascular y al mismo tiempo que otro tratamiento, tal como t-PA. Al día siguiente, el sujeto puede comenzar adicionalmente tratamientos diarios con un fármaco antiplaquetario para proteger contra un futuro accidente cerebrovascular y después recibir dosis adicionales del antagonista de VLA-1, para mantener la biodisponibilidad del antagonista de VLA-1. Como otro ejemplo, un sujeto que ha sufrido un AIT puede empezar el tratamiento con antagonista de VLA-1 inmediatamente después del diagnóstico de AIT a una dosis que proporciona un efecto biológico durante al menos una semana, y luego empezar la terapia antiplaquetaria al día siguiente.

Factores de riesgo para accidente cerebrovascular

[0106] Los factores de riesgo para accidente cerebrovascular pueden usarse para identificar un sujeto que puede proveerse de una dosis profiláctica de un antagonista de VLA-1 o que debe monitorizarse para signos adicionales que requieren el tratamiento con un antagonista de VLA-1. En algunos casos, el sujeto se trata si el sujeto tiene dos, tres o cuatro o más de los factores de riesgo, por ejemplo, los factores enumerados a continuación.

[0107] *Hipertensión arterial:* La hipertensión arterial (140/90 mm de Hg o mayor) es un factor de riesgo altamente significativo para accidente cerebrovascular.

[0108] *Consumo de tabaco:* El fumar tabaco es un factor de riesgo evitable importante para accidente cerebrovascular. La nicotina y el monóxido de carbono en el humo del tabaco reducen la cantidad de oxígeno en la sangre. También dañan las paredes de los vasos sanguíneos, siendo más probable el que se formen coágulos. El usar algunos tipos de anticonceptivos en combinación con fumar tabaco aumenta enormemente el riesgo de accidente cerebrovascular.

[0109] *Diabetes mellitus:* La diabetes se define como una glucosa en plasma en ayunas (azúcar en sangre) de 126 mg/dl o más medida en dos ocasiones. Aunque la diabetes es tratable, el tenerla todavía aumenta el riesgo de una persona de accidente cerebrovascular. Muchas personas con diabetes también tienen hipertensión arterial, colesterolemia alta y sobrepeso. Estos factores adicionales aumentan adicionalmente el riesgo de accidente cerebrovascular.

[0110] *Enfermedad de las arterias carótidas u otras arterias:* Las arterias carótidas en el cuello suministran sangre al cerebro. Una arteria carótida estrechada por depósitos adiposos de aterosclerosis (formaciones de placa en las paredes de las arterias) puede llegar a bloquearse por un coágulo de sangre. La enfermedad de las arterias carótidas también se llama estenosis de las arterias carótidas.

[0111] *Enfermedad de las arterias periféricas:* Los sujetos con enfermedad de las arterias periféricas tienen un mayor riesgo de enfermedad de las arterias carótidas, que eleva su riesgo de accidente cerebrovascular. La enfermedad de las arterias periféricas es el estrechamiento de los vasos sanguíneos que llevan sangre a los músculos de las piernas y los brazos. Se produce por formaciones adiposas de placa en las paredes de las arterias.

[0112] La *fibrilación auricular* eleva el riesgo de accidente cerebrovascular. Las cavidades superiores del corazón tiemblan en lugar de bombear eficazmente, que puede conducir a que la sangre se reúna y coagule. Si se rompe un coágulo, entra en la circulación sanguínea y se aloja en una arteria que conduce al cerebro, resulta un accidente cerebrovascular.

[0113] *Otra enfermedad cardíaca:* Los sujetos con enfermedad cardíaca coronaria o insuficiencia cardíaca tienen un mayor riesgo de accidente cerebrovascular que aquellos con corazones que funcionan normalmente. La cardiomiopatía dilatada (un corazón agrandado), enfermedad de las válvulas del corazón y algunos tipos de defectos congénitos del corazón también elevan el riesgo de accidente cerebrovascular.

[0114] *Ataques isquémicos transitorios (AIT):* Los AIT son "accidentes cerebrovasculares de aviso" que

producen síntomas similares a los accidentes cerebrovasculares, pero no lesión permanente. El reconocer y tratar AIT puede reducir el riesgo de un accidente cerebrovascular mayor.

[0115] *Ciertos trastornos de la sangre:* Un alto número de eritrocitos espesa la sangre y forma más probablemente coágulos. Esto eleva el riesgo de accidente cerebrovascular. La drepanocitosis (también llamada anemia de células falciformes) es un trastorno genético que afecta principalmente a los afroamericanos. Los glóbulos rojos “drepanocitados” son menos capaces de llevar oxígeno a los tejidos y órganos del cuerpo y tienden a pegarse a las paredes de los vasos sanguíneos, que pueden bloquear las arterias al cerebro y producir un accidente cerebrovascular.

[0116] *Colesterolemia alta:* Un alto nivel de colesterol total en la sangre (240 mg/dl o superior) es un factor de riesgo importante para enfermedad cardíaca, que eleva el riesgo de accidente cerebrovascular. Altos niveles de colesterol LDL (superiores a 100 mg/dl) y triglicéridos (grasas en sangre, 150 mg/dl o superior) aumentan el riesgo de accidente cerebrovascular en personas con enfermedad cardíaca coronaria previa, accidente cerebrovascular isquémico o ataque isquémico transitorio (AIT). Bajos niveles (inferiores a 40 mg/dl) de colesterol HDL también puede elevar el riesgo de accidente cerebrovascular.

[0117] *Inactividad física y obesidad:* El ser inactivo, obeso, o ambos, puede aumentar el riesgo de hipertensión arterial, colesterolemia alta, diabetes, enfermedad cardíaca y accidente cerebrovascular.

[0118] *Excesivo abuso de sustancias:* El beber excesivas cantidades de alcohol y el uso de drogas intravenosas también puede aumentar el riesgo de accidente cerebrovascular.

[0119] *Edad en aumento:* Aunque sujetos de todas las edades, que incluyen niños, tienen accidentes cerebrovasculares, cuanto mayor sea el sujeto, mayor es el riesgo de accidente cerebrovascular. Por ejemplo, el riesgo puede ser mucho mayor por encima de la edad de 55, 60, 70, 80 u 85.

[0120] *Sexo:* El accidente cerebrovascular es más común en hombres que en mujeres. En la mayoría de los grupos de edad, más hombres que mujeres tendrán un accidente cerebrovascular en un año dado. Sin embargo, las mujeres explican más de la mitad de todas las muertes de accidente cerebrovascular. Las mujeres que están embarazadas tienen un mayor riesgo de accidente cerebrovascular.

[0121] *Herencia (antecedentes familiares):* El riesgo de accidente cerebrovascular es mayor si un padre, abuelo, hermana o hermano ha tenido un accidente cerebrovascular. Similarmente, ciertos orígenes étnicos pueden conducir a un elevado riesgo de accidente cerebrovascular.

[0122] *Accidente cerebrovascular o infarto de miocardio previo:* Un sujeto que ha tenido un accidente cerebrovascular o un infarto de miocardio tiene mucho mayor riesgo de tener posteriormente un accidente cerebrovascular.

Criterios de evaluación del accidente cerebrovascular

[0123] La capacidad de un antagonista de VLA-1 para tratar un sujeto que tiene o está en riesgo de accidente cerebrovascular puede evaluarse, subjetivamente u objetivamente, por ejemplo, usando una variedad de criterios. Están disponibles varias herramientas de evaluación para proporcionar la evaluación.

[0124] Herramientas de evaluación prehospitalarias de accidente cerebrovascular a modo de ejemplo incluyen la escala de accidente cerebrovascular de Cincinnati y el cribado prehospitalario de accidente cerebrovascular de Los Ángeles (LAPSS). Las escalas de evaluación agudas incluyen, por ejemplo, la escala neurológica canadiense (CNS), la escala de coma de Glasgow (GCS), la escala de accidente cerebrovascular hemisférico, la escala de Hunt y Hess, la escala de accidente cerebrovascular de Mathew, el miniexamen del estado mental (MMSE), la escala de accidente cerebrovascular de NIH (NIHSS), la escala de accidente cerebrovascular de Orgogozo, la clasificación del proyecto de accidente cerebrovascular de la comunidad de Oxfordshire (Bamford) y la escala de accidente cerebrovascular escandinava. Las escalas de evaluación funcional incluyen la escala de equilibrio de Berg, la escala de Rankin modificada, la escala de impacto del accidente cerebrovascular (SIS) y la medida de la calidad de vida específica del accidente cerebrovascular (SS-QOL). Las herramientas de evaluación de resultados incluyen la clasificación de resultados del accidente cerebrovascular de la Asociación Americana del Corazón (AHA SOC), el índice de Barthel, la medición de independencia funcional (FIM™), la escala de resultados de Glasgow (GOS) y la encuesta de salud SF-36™ y SF-12™. Otras pruebas de diagnóstico y de selección incluyen la prueba de

investigación de la acción del brazo, la escala de demencia de Blessed, la prueba de información-memoria-concentración de demencia de Blessed, los criterios del DSM-IV para el diagnóstico de demencia vascular, la puntuación de isquemia de Hachinski, la escala de valoración de Hamilton para depresión, los criterios de NINDS - AIREN para el diagnóstico de demencia vascular, la puntuación de pronóstico de Orpington, la prueba corta de orientación-memoria-concentración, la trombosis en el esquema de clasificación de infarto de miocardio, imagen por resonancia magnética IRM (por ejemplo, técnicas de obtención de imágenes por difusión y perfusión (Henninger y col., Stroke 37:1283-1287, 2006), técnicas de IRM ponderadas por difusión (DWI) y obtención de imágenes sensibles al flujo, por ejemplo, recuperación de la inversión atenuada de fluido (FLAIR)), obtención de imágenes funcionales y espectroscópicas (Koroshetz, Ann. Neurol. 39:283-284, 1996) y PET (Heiss y col., Cerebrovasc. Brain Metab. Rev. 5:235-263, 1993), y.

[0125] Puede realizarse una evaluación antes y/o después de la administración de un antagonista de VLA-1.

Lesión cerebral traumática

[0126] Puede usarse un antagonista de VLA-1 descrito en el presente documento para tratar lesión cerebral traumática. La lesión al cerebro por una fuerza física se llama ampliamente lesión cerebral traumática (LCT). El efecto resultante de la LCT produce alteración de los procesos cerebrales normales atribuible a cambios en la estructura y/o función del cerebro. Hay dos tipos básicos de lesión cerebral, traumatismo craneal abierto y traumatismo craneal cerrado. En un traumatismo craneal abierto, un objeto, tal como una bala, penetra en el cráneo y lesiona el tejido cerebral. El traumatismo craneal cerrado se produce normalmente por un rápido movimiento de la cabeza durante el cual el cerebro es sacudido de un lado a otro, rebotando el interior del cráneo. Los traumatismos craneales cerrados son los más comunes de los dos, que frecuentemente resultan de accidentes que implican vehículos a motor o caídas. En un traumatismo craneal cerrado, fuerza bruta o agitación enérgica daña el cerebro. La tensión de este rápido movimiento aparta y estira las fibras o axones nerviosos, rompiendo las conexiones entre diferentes partes del cerebro. En la mayoría de los casos, un coágulo de sangre resultante, o hematoma, puede presionar el cerebro o a su alrededor, elevando la presión dentro de la cabeza. Tanto los traumatismos craneales abiertos como cerrados pueden producir lesión grave al cerebro, produciendo la necesidad de atención médica inmediata.

[0127] Dependiendo del tipo de fuerza que golpee la cabeza, pueden resultar lesiones variables tales como cualquiera de las siguientes: sacudida del cerebro dentro del cráneo, concusión, fractura craneal, contusión, hematoma subdural o daño axonal difuso. Aunque la experiencia de cada persona es diferente, hay problemas comunes a lo que se enfrentan muchas personas con LCT. Las posibilidades documentadas incluyen dificultad en la concentración, resolución ineficaz de problemas, problemas de memoria a corto y largo plazo y alteración de las habilidades motoras o sensoriales; hasta el punto de una incapacidad para realizar habilidades de la vida cotidiana independientemente tales como comer, vestirse o bañarse. El concepto más ampliamente aceptado de lesión cerebral divide el proceso en acontecimientos primarios y secundarios. La lesión cerebral primaria se considera que es más o menos completa en el momento del impacto, mientras que la lesión secundaria evoluciona durante un periodo de horas a días tras el traumatismo.

[0128] Las lesiones primarias son aquellas comúnmente asociadas a situaciones de emergencia tales como accidentes de automóvil, o cualquier cosa que provoque la pérdida temporal de consciencia o fractura del cráneo. Las contusiones, o lesiones similares a magulladuras, se producen frecuentemente debajo de la localización de un impacto particular. La desviación y giro del cerebro dentro del cráneo después de una lesión cerebral cerrada produce daño por cizallamiento a las largas fibras o axones nerviosos que conectan el cerebro, que se denomina un daño axonal difuso. Las laceraciones se definen como el rasgado de los lóbulos frontal y temporal o vasos sanguíneos producido por el giro del cerebro a través de los pliegues dentro del cráneo. Resultan hematomas, o coágulos de sangre, cuando se rompen vasos pequeños por la lesión. Pueden producirse entre el cráneo y el cerebro (hematoma epidural o subdural), o dentro de la propia sustancia del cerebro (hematoma intracerebral). En cualquier caso, si son suficientemente grandes, comprimirán o desviarán el cerebro, dañando estructuras sensibles dentro del tronco encefálico. También pueden elevar la presión dentro del cráneo y con el tiempo cortar el riego sanguíneo al cerebro.

[0129] La lesión secundaria retardada al nivel celular ha llegado a reconocerse como un importante colaborador a la pérdida de tejido definitiva que se produce después de la lesión cerebral. Se pone en movimiento una cascada de acontecimientos fisiológicos, vasculares y bioquímicos en el tejido lesionado. Este procedimiento implica una multitud de sistemas, que incluyen posibles cambios en neuropéptidos, electrolitos tales como el calcio y el magnesio, aminoácidos excitadores, metabolitos de ácido araquidónico tales como las prostaglandinas y

leucotrienos, y formación de radicales libres de oxígeno. Esta lesión de tejido secundaria está en la raíz de la mayoría de los efectos adversos graves a largo plazo que puede experimentar una persona con lesión cerebral. Los procedimientos que minimizan esta lesión pueden ser la diferencia entre la recuperación a un condición normal o casi normal, o la discapacidad permanente.

5

[0130] La lesión de vasos sanguíneos difusos se ha implicado cada vez más como componente importante de la lesión cerebral. La respuesta vascular parece ser bifásica. Dependiendo de la gravedad del traumatismo, cambios tempranos incluyen un aumento inicial en la tensión arterial, una pérdida temprana de la regulación automática de los vasos sanguíneos cerebrales y una rotura transitoria de la barrera hematoencefálica (BHE). Los cambios vasculares alcanzan el pico en aproximadamente seis horas después de la lesión, pero pueden persistir durante nada menos que seis días. La significancia clínica de estos cambios en los vasos sanguíneos no está todavía clara, pero puede referirse a hinchazón del cerebro retardada que se observa frecuentemente, especialmente en las personas más jóvenes.

10

[0131] El procedimiento por el que las contusiones cerebrales producen necrosis cerebral es igualmente complejo y también se prolonga durante un periodo de horas. Los procesos tóxicos incluyen la liberación de radicales libres de oxígeno, lesión a membranas celulares, abertura de canales de iones a una entrada de calcio, liberación de citocinas y metabolismo de ácidos grasos libres en sustancias altamente reactivas que pueden producir espasmo e isquemia vascular. Los radicales libres se forman en algún momento en casi cada mecanismo de lesión secundaria. El objetivo primario de los radicales libres son los ácidos grasos de la membrana celular. Un proceso conocido como peroxidación lipídica daña las membranas de células neuronales, de la glía y vasculares en un modo geométricamente progresivo. Si no se comprueba, la peroxidación lipídica se extiende sobre la superficie de la membrana celular y con el tiempo conduce a muerte celular. Así, los radicales libres dañan las células endoteliales, rompen la barrera hematoencefálica (BHE) y directamente lesionan las células del cerebro, causando edema y cambios estructurales en las neuronas y la glía. La rotura de la BHE es responsable de edema cerebral y exposición de las células del cerebro a productos dañinos de transmisión hemática.

20

25

[0132] Las lesiones sistémicas secundarias (fuera del cerebro) pueden, por consiguiente, conducir a otra lesión al cerebro. Esto es extremadamente común después de las lesiones cerebrales de todos los grados de gravedad, particularmente si están asociadas a lesiones múltiples. Así, personas con lesión cerebral pueden sufrir combinaciones de bajo oxígeno en sangre, tensión arterial, cambios en el corazón y los pulmones, fiebre, trastornos de la coagulación de la sangre, y otros cambios adversos a intervalos repetidos en los días siguientes a la lesión cerebral. Esto se produce en un momento en el que el mecanismo regulador normal, por el que los vasos cerebrovasculares pueden relajarse para mantener un suministro adecuado de oxígeno y sangre durante tales acontecimientos adversos, está alterado como resultado del traumatismo original.

30

35

[0133] Los protocolos para la evaluación inmediata están limitados en su eficiencia y fiabilidad y son frecuentemente invasivos. La tomografía axial computerizada (TAC) se acepta actualmente como el procedimiento de diagnóstico estándar para evaluar LCT, ya que puede identificar muchas anomalías asociadas a lesión cerebral primaria, está ampliamente disponible y puede realizarse a un coste relativamente bajo (Marik y col., Chest 122:688-711 2002; McAllister y col., Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology 23:775-791 2001). Sin embargo, el uso de TAC en el diagnóstico y tratamiento de pacientes que acuden a los servicios de urgencia con LCT puede variar entre instituciones, y los propios resultados de la TAC pueden ser malos factores pronósticos del desenlace neuropsiquiátrico en sujetos con LCT, especialmente en el caso de lesión LCT leve (McCullagh y col., Brain Injury 15:489-497 2001).

40

45

[0134] El tratamiento inmediato para LCT normalmente implica cirugía para controlar la hemorragia en y alrededor del cerebro, monitorización y control de la presión intracraneal, aseguramiento de la adecuada circulación sanguínea al cerebro y tratamiento del cuerpo para otras lesiones e infección. Aquellos con lesiones cerebrales leves frecuentemente experimentan síntomas imperceptibles y pueden aplazar el tratamiento durante días o incluso semanas. Una vez un paciente elige buscar atención médica, pueden usarse observación, pruebas neurológicas, imágenes de resonancia magnética (IRM), tomografía de emisión de positrones (TEM), tomografía de emisión monofotónica (SPECT), monitorización del nivel de un neurotransmisor en líquido cefalorraquídeo, tomografía axial computerizada (TAC) y radiografías para determinar el grado de lesión del paciente. El tipo y gravedad de la lesión determinan el posterior cuidado.

50

55

[0135] Puede usarse un antagonista de VLA-1, solo o en combinación con otro tratamiento, para lograr un beneficio terapéutico en un sujeto que ha sufrido una LCT. Además, puede administrarse un antagonista de VLA-1 como terapia para LCT profiláctica, o como componente de la misma, por ejemplo, a un sujeto que ha sufrido una LCT o que está presentando síntomas de una LCT. Por ejemplo, puede usarse un antagonista de VLA-1 para tratar

una lesión primaria, una lesión secundaria, o ambas. Alternativamente, puede usarse un antagonista de VLA-1 para tratar una lesión primaria y como terapia profiláctica para una lesión secundaria. Puede realizarse una evaluación antes y/o después de la administración de un antagonista de VLA-1.

5 Lesión de la médula espinal

[0136] Puede usarse un antagonista de VLA-1 descrito en el presente documento para tratar lesión de la médula espinal. La lesión de la médula espinal (LME) es una lesión a la médula espinal que produce un cambio, tanto temporal como permanente, en su función motora, sensorial o autónoma normal. Tanto los estudios clínicos como experimentales demuestran que la médula espinal sufre lesión primaria y secundaria después de LME aguda. La LME primaria se produce a partir de rotura mecánica, transección, patología extradural o distracción de elementos neurales. Esta lesión normalmente se producen con fractura y/o dislocación de la columna vertebral. Sin embargo, la LME primaria puede producirse en ausencia de fractura o dislocación espinal. Las lesiones penetrantes debidas a balas o armas también pueden producir LME primaria (Burney y col., Arch Surg 128(5): 596-9 (1993)). Más comúnmente, los fragmentos de hueso desplazados producen lesiones penetrantes de la médula espinal o nervios espinales segmentarios. La patología extradural también puede producir LME primaria. Hematomas o abscesos epidurales espinales producen compresión y lesión aguda de la médula espinal. La compresión de la médula espinal de enfermedad metastásica es una urgencia oncológica común. La distensión longitudinal con o sin flexión y/o extensión de la columna vertebral puede producir LME primaria sin fractura o dislocación espinal. Puede usarse un antagonista de VLA-1 para tratar una lesión espinal primaria.

[0137] La patofisiología de la LME secundaria implica una multitud de acontecimientos celulares y moleculares que progresan durante los primeros días después de la lesión (Tator, Brain Pathology 5:407-413 (1995)). La causa más importante de la LME secundaria es la lesión vascular a la médula espinal producida por rotura arterial, trombosis arterial e hipoperfusión debida a choque. La LME puede sufrirse mediante isquemia de lesión o efecto sobre las arterias espinales. La LME debida a isquemia puede producirse durante cirugía en la que la circulación sanguínea aórtica se detiene temporalmente. Puede usarse un antagonista de VLA-1 descrito en el presente documento para tratar o prevenir lesión LME secundaria.

[0138] También puede producirse la lesión de la médula espinal por toxicidad (Tator, Brain Pathology 5:407-413 (1995)). Una de las toxicidades más exigentes en la lesión de la médula espinal es la acumulación y posterior lesión ejercida por el neurotransmisor de aminoácidos excitadores. La excitotoxicidad producida por glutamato produce una elevación del calcio intracelular. El elevado calcio intracelular puede a su vez producir activación de proteasas o lipasas dependientes del calcio que producen adicionalmente lesión debido a la rotura de componentes citoesqueléticos que incluyen neurofilamentos y disolución de membranas celulares. La producción en exceso de ácido araquidónico y eicosanoides tales como prostaglandinas puede relacionarse con peroxidación lipídica y radicales libres de oxígeno. La liberación de eicosanoides vasoactivos de membranas neuronales lesionadas puede a su vez producir isquemia postraumática progresiva que induce vasoespasmo. También pueden participar opioides endógenos en el proceso de lesión secundaria tanto por sus efectos sobre la circulación local o sistémica como por efectos directos sobre la médula espinal lesionada. Puede usarse un antagonista de VLA-1 descrito en el presente documento para tratar o prevenir lesión de la médula espinal resultante de toxicidad.

[0139] Edema significativo y progresivo pueden seguir a la lesión de la médula espinal. No se sabe si el edema es perjudicial en sí mismo o si es un epifenómeno de otro mecanismo de lesión tal como isquemia o toxicidad al glutamato. El edema puede extenderse en la médula espinal desde el sitio de lesión durante una distancia considerable rostralmente y caudalmente en tanto casos de modelos experimentales como clínicos.

[0140] Las LME se clasifican como completas o incompletas, basándose en el grado de lesión, según la escala de discapacidad de la Asociación Americana de Lesión Espinal (ASIA). En LME completa no hay función sensorial y motora preservada en los segmentos sacros más bajos (Waters y col., Paraplegia 29(9): 573-81(1991)). En LME incompleta, la función sensorial o motora se preserva por debajo del nivel de lesión que incluye los segmentos sacros más bajos (Waters y col., Archives of Physical Medicine and Rehabilitation 75(3): 306-11 (1994)). Las lesiones incompletas de la médula espinal pueden desarrollarse en lesiones más completas. Más comúnmente, el nivel de lesión sube uno o dos niveles espinales durante las horas a días después del acontecimiento inicial.

[0141] Otras clasificaciones de LME incluyen síndrome central de la médula espinal, síndrome de Brown-Sequard, síndrome anterior de la médula espinal, síndrome del cono medular y síndrome de la cola de caballo. El síndrome central de la médula espinal está frecuentemente asociado a una lesión de la región cervical que conduce a mayor debilidad en las extremidades superiores que en las extremidades inferiores con preservación sensorial

sacra. El síndrome de Brown-Sequard implica una lesión en hemisección de la médula espinal, causando una pérdida propioceptiva y motora ipsilateral relativamente mayor con pérdida contralateral de la sensibilidad al dolor y temperatura. El síndrome anterior de la médula espinal está frecuentemente asociado a una lesión que causa pérdida variable de la función motora y sensibilidad al dolor y temperatura, mientras que se preserva la propiocepción. El síndrome del cono medular está asociado a lesión a la médula espinal sacra y raíces de los nervios lumbares. Este síndrome se caracteriza por arreflexia en la vejiga, intestino y extremidades inferiores, mientras que los segmentos sacros pueden mostrar ocasionalmente reflejos preservados (por ejemplo, reflejos bulbocavernosos y miccionales). El síndrome de la cola de caballo es debido a lesión a las raíces de los nervios lumbosacros en el canal espinal, conduciendo a vejiga, intestino y extremidades inferiores arrefléxicos.

[0142] El choque neurogénico puede resultar de LME (Tator, Brain Pathology 5:407-413 (1995)). El choque neurogénico se refiere a la tríada hemodinámica de hipotensión, bradicardia y vasodilatación periférica resultante de disfunción autónoma y la interrupción del control del sistema nervioso simpático en LME aguda, y se diferencia del choque espinal e hipovolémico. El choque hipovolémico tiende a asociarse a taquicardia. El choque espinal se define como la pérdida completa de toda la función neurológica, que incluye reflejos y tono rectal, por debajo de un nivel específico que está asociado a disfunción autónoma. Se observa un aumento inicial en la tensión arterial debido a la liberación de catecolaminas, seguido de hipotensión. Se observa parálisis flácida, que incluye del intestino y vejiga, y algunas veces se desarrolla priapismo sostenido. Estos síntomas tienden a durar varias horas a días hasta que los arcos reflejos por debajo del nivel de la lesión empiezan a funcionar de nuevo.

[0143] La terapia actual para LME tiene como objetivo mejorar la función y sensación motora en pacientes con el trastorno. Los corticosteroides son el pilar de la terapia. Se cree que glucocorticoides tales como la metilprednisolona reducen los efectos secundarios de LME aguda, y el uso de metilprednisolona de altas dosis en LME aguda no penetrante se ha convertido en el tratamiento de referencia en América del Norte.

[0144] Puede usarse un antagonista de VLA-1 descrito en el presente documento para tratar cualquier clasificación de LME, o un síntoma de la misma, como se describe en el presente documento. Un antagonista de VLA-1 puede usarse solo o en combinación con otra terapia conocida para LME.

30 Composiciones farmacéuticas

[0145] Un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede formularse como una composición farmacéutica, por ejemplo, para administración a un sujeto para tratar accidente cerebrovascular, LCT o LME. Normalmente, una composición farmacéutica incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y que retrasan la absorción, y similares, que son fisiológicamente compatibles. La composición puede incluir una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, una sal de adición de ácido o una sal de adición de base (véase, por ejemplo, Berge, S.M. y col. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19).

[0146] El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede formularse según procedimientos convencionales. La formulación farmacéutica es una técnica bien establecida y se describe adicionalmente, por ejemplo, en Gennaro (ed.), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2000) (ISBN: 0683306472); Ansel y col., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª ed., Lippincott Williams & Wilkins Publishers (1999) (ISBN: 0683305727); y Kibbe (ed.), Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association, 3ª ed. (2000) (ISBN: 091733096X).

[0147] En una realización, un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede formularse con materiales de excipiente, tales como cloruro sódico, fosfato de sodio dibásico heptahidratado, fosfato de sodio monobásico y un estabilizador. Puede proporcionarse, por ejemplo, en una disolución tamponada a una concentración adecuada y puede almacenarse a 2-8 °C.

[0148] Las composiciones farmacéuticas pueden estar en una variedad de formas. Éstas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semi-sólidas y sólidas, tales como disoluciones líquidas (por ejemplo, disoluciones inyectables e infusibles), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida puede depender del modo previsto de administración y aplicación terapéutica. Normalmente, las composiciones para los agentes en el presente documento se describen en forma de disoluciones inyectables o infusibles.

[0149] Tales composiciones pueden administrarse por un modo parenteral (por ejemplo, inyección intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular). Los términos “administración parenteral” y “administrado parenteralmente” como se usan en el presente documento significan modos de administración distintos de administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural, intracerebral, intracraneal, intracarotídea e intraesternal.

[0150] La composición puede formularse como una disolución, microemulsión, dispersión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para el almacenamiento estable a alta concentración. Pueden prepararse disoluciones inyectables estériles incorporando un agente descrito en el presente documento en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de componentes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, se preparan dispersiones incorporando un agente descrito en el presente documento en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros componentes requeridos de aquellos enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los procedimientos preferidos de preparación son secado a vacío y liofilización que dan un polvo de un agente descrito en el presente documento más cualquier componente deseado adicional de una disolución previamente esterilizada por filtración del mismo. La fluidez apropiada de una disolución puede mantenerse, por ejemplo, por el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y por el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede provocarse incluyendo en la composición un agente que retarda la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

[0151] En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede prepararse con un vehículo que protegerá al compuesto de la rápida liberación, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes, y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biocompatibles biodegradables, tales como etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos procedimientos para la preparación de tales formulaciones están patentados o se conocen generalmente. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

[0152] Un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede modificarse, por ejemplo, con un resto que mejora su estabilización y/o retención en la circulación, por ejemplo, en sangre, suero u otros tejidos, por ejemplo, al menos 1,5, 2, 5, 10 ó 50 veces. El anticuerpo modificado o fragmento de unión al antígeno puede evaluarse para valorar si puede llegar a sitios de lesión después de un accidente cerebrovascular, LCT o LME (por ejemplo, usando una forma marcada del antagonista).

[0153] Por ejemplo, el antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede asociarse a un polímero, por ejemplo, un polímero sustancialmente no antigénico, tal como un poli(óxido de alquileo) o un poli(óxido de etileno). Polímeros adecuados variarán sustancialmente en peso. Pueden usarse polímeros que tienen pesos moleculares promedio en número que oscilan de aproximadamente 200 a aproximadamente 35.000 Dalton (o aproximadamente 1 000 a aproximadamente 15 000, y 2 000 a aproximadamente 12 500).

[0154] Por ejemplo, un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede conjugarse con un polímero soluble en agua, por ejemplo, un polímero de polivinilo hidrófilo, por ejemplo, poli(alcohol vinílico) o polivinilpirrolidona. Una lista no limitante de tales polímeros incluye homopolímeros de poli(óxido de alquileo) tales como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicoles, polioles polioxietilenados, copolímeros de los mismos y copolímeros de bloques de los mismos, a condición de que se mantenga la solubilidad en agua de los copolímeros de bloques. Polímeros útiles adicionales incluyen polioxialquilenos tales como polioxietileno, polioxipropileno, y copolímeros de bloques de polioxietileno y polioxipropileno (Pluronic); polimetacrilatos; carbómeros; y polisacáridos ramificados o no ramificados.

[0155] Si el antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, se usa en combinación con un segundo agente, los dos agentes pueden formularse por separado o juntos. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas respectivas pueden mezclarse, por ejemplo, justo antes de la administración, y administrarse juntas, o pueden administrarse por separado, por ejemplo, al mismo tiempo o en momentos diferentes.

Administración

- [0156]** Un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse a un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, mediante una variedad de procedimientos. Para muchas aplicaciones, la vía de administración es una de: inyección intravenosa o infusión (IV), inyección subcutánea (SC), intraperitonealmente (IP) o inyección intramuscular. En algunos casos, la administración puede ser directamente en el SNC, por ejemplo, intratecal, intracerebroventricular (ICV), intracerebral o intracraneal. El antagonista puede administrarse como una dosis fija, o en una dosis de mg/kg.
- 10 **[0157]** La dosis también puede elegirse para reducir o evitar la producción de anticuerpos contra el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.
- [0158]** La vía y/o modo de administración del agente de bloqueo también puede adaptarse al caso individual, por ejemplo, monitorizando el sujeto, por ejemplo, usando obtención de imágenes tomográficas, examen neurológico y parámetros estándar asociados a accidente cerebrovascular, LCT o LME, por ejemplo, los criterios de evaluación descritos en el presente documento.
- 15 **[0159]** Las pautas de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta deseada, por ejemplo, una respuesta terapéutica o un efecto terapéutico combinado. Generalmente, cualquier combinación de dosis (tanto separadas como co-formuladas) del anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo (y opcionalmente un segundo agente) puede usarse con el fin de proporcionar un sujeto con el agente en cantidades biodisponibles. Por ejemplo, pueden administrarse dosis en el intervalo de 0,025 mg/kg -100 mg/kg, 0,05 - 50 mg/kg, 0,1 - 30 mg/kg, 0,1 - 5 mg/kg o 0,3 - 3 mg/kg.
- 25 **[0160]** Forma unitaria de dosificación o “dosis fija” como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos que van a tratarse; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido y opcionalmente en asociación con el otro agente.
- 30 **[0161]** El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede administrarse al menos una vez entre aproximadamente 10 minutos y aproximadamente 48 horas, más preferentemente entre aproximadamente 10 minutos y 24 horas, más preferentemente en el plazo de 3 horas, después de la aparición de los síntomas o manifestación del accidente cerebrovascular, síntomas de LCT o síntomas de LME. Pueden administrarse dosificaciones individuales o múltiples. Alternativamente, o además, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede administrarse mediante infusión continua. El tratamiento puede continuar durante días, semanas, meses o incluso años de manera que se minimice la lesión isquémica del accidente cerebrovascular, para minimizar la lesión de los acontecimientos inflamatorios después del accidente cerebrovascular, para prevenir otro accidente cerebrovascular o para minimizar la lesión que podría resultar de un accidente cerebrovascular posterior, para tratar LCT primaria o secundaria o síntomas, o para tratar LME primaria o secundaria o síntomas.
- 35 **[0162]** Por ejemplo, si un sujeto está en riesgo de accidente cerebrovascular o ha sufrido un AIT, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede administrarse antes de la aparición de un accidente cerebrovascular como medida preventiva. La duración de tal tratamiento preventivo puede ser una única dosificación del antagonista o el tratamiento puede continuar (por ejemplo, múltiples dosificaciones), por ejemplo, un sujeto en riesgo de accidente cerebrovascular puede tratarse con el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno durante días, semanas, meses o incluso años de manera que se prevenga que se produzca un accidente cerebrovascular.
- 40 **[0163]** Una composición farmacéutica puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento. Tales cantidades eficaces pueden determinarse basándose en el efecto del anticuerpo anti-VLA-1 administrado o fragmento de unión al antígeno del mismo; o el efecto combinado de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y agente secundario si se usa más de un agente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede también variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad del compuesto para provocar una respuesta deseada en el individuo, por ejemplo, mejora de al menos un parámetro del trastorno, por ejemplo, un parámetro del accidente cerebrovascular, LCT o LME, o mejora de al menos un síntoma del trastorno, por ejemplo, accidente cerebrovascular, LCT o LME. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la composición se sopesa por los efectos terapéuticamente beneficiosos.
- 50 **[0163]** Una composición farmacéutica puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento. Tales cantidades eficaces pueden determinarse basándose en el efecto del anticuerpo anti-VLA-1 administrado o fragmento de unión al antígeno del mismo; o el efecto combinado de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y agente secundario si se usa más de un agente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede también variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad del compuesto para provocar una respuesta deseada en el individuo, por ejemplo, mejora de al menos un parámetro del trastorno, por ejemplo, un parámetro del accidente cerebrovascular, LCT o LME, o mejora de al menos un síntoma del trastorno, por ejemplo, accidente cerebrovascular, LCT o LME. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la composición se sopesa por los efectos terapéuticamente beneficiosos.
- 55 **[0163]** Una composición farmacéutica puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, descrito en el presente documento. Tales cantidades eficaces pueden determinarse basándose en el efecto del anticuerpo anti-VLA-1 administrado o fragmento de unión al antígeno del mismo; o el efecto combinado de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y agente secundario si se usa más de un agente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, puede también variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad del compuesto para provocar una respuesta deseada en el individuo, por ejemplo, mejora de al menos un parámetro del trastorno, por ejemplo, un parámetro del accidente cerebrovascular, LCT o LME, o mejora de al menos un síntoma del trastorno, por ejemplo, accidente cerebrovascular, LCT o LME. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la composición se sopesa por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

Dispositivos y kits

[0164] Las composiciones farmacéuticas que incluyen el antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo, pueden administrarse con un dispositivo médico. El dispositivo
 5 puede diseñarse con características tales como portabilidad, almacenamiento a temperatura ambiente y facilidad de uso de manera que pueda usarse en situaciones de emergencia, por ejemplo, por un sujeto sin preparación o por personal de urgencias en el campo, alejado de centros médicos y otro equipo médico. El dispositivo puede incluir, por ejemplo, una o más cajas para guardar preparaciones farmacéuticas que incluyen un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y puede configurarse para administrar una o más dosis unitarias del
 10 anticuerpo o fragmento de unión al antígeno.

[0165] Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse con un dispositivo de inyección hipodérmica sin aguja, tal como los dispositivos desvelados en los documentos US 5.399.163; 5.383.851; 5.312.335; 5.064.413; 4.941.880; 4.790.824; o 4.596.556. Ejemplos de implantes y módulos muy conocidos incluyen:
 15 documento US 4.487.603, que desvela una bomba de micro-infusión implantable para dispensar medicación a una velocidad controlada; documento US 4.486.194, que desvela un dispositivo terapéutico para administrar medicamentos a través de la piel; documento US 4.447.233, que desvela una bomba de infusión de medicación para administrar medicación a una velocidad de infusión precisa; documento US 4.447.224, que desvela un aparato de infusión implantable de flujo variable para la administración continua de fármaco; documento US 4.439.196, que
 20 desvela un sistema de administración de fármacos osmótico que tiene compartimentos multi-cámara; y documento US 4.475.196, que desvela un sistema de administración de fármacos osmótico. También se conocen muchos otros dispositivos, implantes, sistemas de administración y módulos.

[0166] Un antagonista de VLA-1, es decir, un anticuerpo anti-VLA-1 o fragmento de unión al antígeno del
 25 mismo, puede proporcionarse en un kit. En una realización, el kit incluye (a) un recipiente que contiene una composición que incluye un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y opcionalmente (b) material informativo. El material informativo puede ser material descriptivo, instructivo, de publicidad u otro que se refiera a los procedimientos descritos en el presente documento y/o el uso de los agentes para el beneficio terapéutico. En una realización, el kit incluye también un segundo agente para tratar accidente cerebrovascular, LCT
 30 o LME. Por ejemplo, el kit incluye un primer recipiente que contiene una composición que incluye el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, y un segundo recipiente que incluye el segundo agente.

[0167] El material informativo de los kits no está limitado en su forma. En una realización, el material informativo puede incluir información sobre la producción del compuesto, peso molecular del compuesto, concentración, fecha de caducidad, información del lote o sitio de producción, etc. En una realización, el material
 35 informativo se refiere a procedimientos de administración del anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, por ejemplo, en una dosis adecuada, forma de dosificación o modo de administración (por ejemplo, una dosis, forma de dosificación o modo de administración descrito en el presente documento), para tratar un sujeto que ha tenido un accidente cerebrovascular, LCT o LME o que está en riesgo de accidente
 40 cerebrovascular, LCT o LME. La información puede proporcionarse en una variedad de formatos, incluyen texto impreso, material legible por ordenador, grabación de vídeo o grabación de audio, o una información que proporciona un enlace o dirección a material sustantivo.

[0168] Además del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno, la composición en el kit puede incluir otros
 45 componentes, tales como un disolvente o tampón, un estabilizador o un conservante. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede proporcionarse en cualquier forma, por ejemplo, forma líquida, seca o liofilizada, preferentemente sustancialmente pura y/o estéril. Si los agentes se proporcionan en una disolución líquida, la disolución líquida es preferentemente una disolución acuosa. Si los agentes se proporcionan como forma seca, la reconstitución es generalmente mediante la adición de un disolvente adecuado. El disolvente, por ejemplo, agua
 50 estéril o tampón, puede opcionalmente proporcionarse en el kit.

[0169] El kit puede incluir uno o más recipientes para la composición o composiciones que contienen los agentes. En algunas realizaciones, el kit contiene recipientes separados, separadores o compartimentos para la
 55 composición y el material informativo. Por ejemplo, la composición puede estar contenida en un frasco, vial o jeringuilla, y el material informativo puede estar contenido en una funda de plástico o envase. En otras realizaciones, los elementos separados del kit están contenidos dentro de un único recipiente no dividido. Por ejemplo, la composición está contenida en un frasco, vial o jeringuilla que tiene unido al mismo el material informativo en forma de una etiqueta. En algunas realizaciones, el kit incluye una pluralidad (por ejemplo, un paquete) de recipientes individuales, conteniendo cada uno una o más formas de dosificación unitaria (por ejemplo, una forma de

dosificación descrita en el presente documento) de los agentes. Los recipientes pueden incluir una dosificación unitaria de combinación, por ejemplo, una unidad que incluye tanto el anticuerpo anti-VLA-1 como el fragmento de unión al antígeno del mismo, y el segundo agente, por ejemplo, en una relación deseada. Por ejemplo, el kit incluye una pluralidad de jeringuillas, ampollas, sobres de aluminio, envases alveolados o dispositivos médicos, por ejemplo, 5 conteniendo cada uno una única dosis unitaria de combinación. Los recipientes de los kits pueden ser herméticos al aire, resistentes al agua (por ejemplo, impermeables a cambios en la humedad o evaporación) y/o impenetrables a la luz.

[0170] El kit incluye opcionalmente un dispositivo adecuado para la administración de la composición, por ejemplo, una jeringuilla u otro dispositivo de administración adecuado. El dispositivo puede proporcionarse precargado con uno o ambos de los agentes o puede estar vacío, pero adecuado para la carga.

EJEMPLOS

15 Ejemplo 1 - Efectos del anticuerpo anti-VLA-1 sobre isquemia cerebral focal *Protocolo*

[0171] Se usaron ratones C57B6 hembra que pesaban 18-20 g de Charles River Lab para este estudio. Los animales se agruparon en 2 grupos experimentales expuestos brevemente por las siguientes condiciones.

Grupo	Tratamiento	Dosis	Vía	N	Cirugía
A	Vehículo (P1.17)	30 mg/kg	IP	18 (inicial) 12 (final)	OACC + perfusión
B	Anti-VLA-mAB (muHa31/8)	30 mg/kg	IP	18 (inicial) 12 (final)	OACC + perfusión

20 [0172] Tras la inyección intraperitoneal de Ha31/8 o P1.17 murinas, los ratones se anestesiaron inicialmente con 2 % de isoflurano y a partir de aquí se mantuvieron en 1,0 % de isoflurano en O₂, administrado a través de una mascarilla. La temperatura rectal se mantuvo entre 36,8 y 37,2 °C usando una almohadilla calefactora regulada por retroalimentación (Harvard Apparatus, Inc. Holliston, MA). La circulación sanguínea cerebral regional (CSCr) se 25 monitorizó usando un sistema PeriFlux (Perimed Inc., Suecia) antes y durante la oclusión de la arteria cerebral central (OACC), y después de la reperusión.

[0173] Para inducir isquemia cerebral focal con oclusión reversible de la arteria cerebral central (ACC), se insertó una sutura de monofilamento de nailon de 7,0 recubierta con una mezcla de silicona/endurecedor (Heraeus 30 Kulzer, Alemania) en la luz de la arteria carótida común derecha. La sutura se avanzó $9 \pm 1,0$ mm desde el sitio de inserción a través de la arteria carótida interna hasta la porción proximal de la arteria cerebral anterior, ocluyendo completamente la ACC en su origen. La velocimetría por Doppler láser de CSCr indicó que la oclusión de ACC era satisfactoria en ambos grupos debido a que la CSCr disminuyó al 20 % del nivel base. La OACC duró dos horas; mientras tanto, la herida se cerró y se retiró la anestesia. Después de 2 horas de la oclusión de la ACC, el filamento 35 se sacó y los ratones se reperfundieron durante 24 horas. Se determinó si la CSCr permaneció o no al nivel previo. Se excluyeron cuatro animales de este estudio debido a que se encontró que la CSCr aumentó de nuevo a más del 50 % del nivel previo 2 horas después de la OACC y antes de la reperusión. Todos los parámetros fisiológicos antes, durante y después de la isquemia estuvieron dentro del intervalo normal y no se diferenciaron entre grupos.

40 [0174] Se evaluaron las deficiencias neurológicas y se puntuaron 30 minutos después de la OACC y 24 horas después de la reperusión, respectivamente, en el campo abierto. La prueba se describió por Hara y col. (1997):

- 45 0, deficiencia neurológica no observable (normal),
1, fallo al estirar la pata delantera derecha (leve);
2, hacer círculos al lado contralateral (moderado);
3, pérdida de la capacidad para caminar o reflejo derecho (grave).

[0175] Se midió el volumen de lesión isquémica después de la oclusión de la ACC en ambos grupos. Los ratones se sacrificaron por decapitación después de 24 horas de reperusión tras 2 horas de la OACC, y los cerebros 50 se extrajeron rápidamente y se hicieron rebanadas en 6 secciones coronales de 1 mm de espesor usando una matriz de cerebro de ratón. Las secciones de cerebro se tiñeron entonces en 2 % de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC, Sigma) a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 min, luego se sembraron en 10 % de formalina tamponada neutra durante la noche. Las rebanadas de cerebro se escanearon directamente en un escáner de imágenes. La lesión se midió sobre la superficie posterior de cada sección (NIH Imagen 1.61, US National Institutes

of Health). Se llevó a cabo una medición directa del área de infarto en la corteza y el núcleo estriado, que luego se corrigió para eliminar el efecto del edema usando la siguiente fórmula:

% del área de infarto indirecto de la corteza contralateral = [(área contralateral – área no traumática ipsilateral) / área contralateral] x 100

[0176] El volumen de infarto total se calculó por integración numérica de las áreas de infarto secuenciales que incluyen tanto la corteza como el núcleo estriado. Las mediciones se hicieron después de que las secciones se codificaran de manera que el observador se cegó con respecto al tratamiento previo. Se cuantificó el edema como el % de aumento en el tamaño del hemisferio isquémico en comparación con el hemisferio no lesionado contralateral.

Resultados

[0177] Ratones tratados con anticuerpo de control que se sometieron a OACC sufrieron amplias lesiones a través de las regiones corticales y subcorticales del cerebro. El hemisferio isquémico estaba notablemente hinchado y se observaron significativas deficiencias conductuales (por ejemplo, hemiparesia que produce rotación y debilidad de las extremidades; véase la figura 1A).

[0178] Los ratones tratados con anticuerpo de control (P1.17) sufrieron infartos que abarcaron el $47,1 \pm 3,8$ % del hemisferio isquémico. Los ratones tratados con anticuerpo anti-VLA-1 sufrieron infartos significativamente más pequeños que abarcaron solo el $34,3 \pm 4,2$ % del hemisferio isquémico ($P < 0,02$, prueba de la t de Student para datos independientes, $n=12$ por grupo) que representa una reducción del 24 % en el tamaño del infarto (figura 1B). En términos volumétricos absolutos, esto fue equivalente a un volumen de infarto de control medio de $80,8 \pm 6,8$ mm³ frente a un volumen de infarto tratado con anti-VLA-1 medio de $55,63 \pm 6,3$ mm³ (figura 1C). La hinchazón del cerebro o edema se calculó como el porcentaje de aumento en el tamaño del hemisferio del hemisferio infartado en comparación con el hemisferio contra-lateral no lesionado. Los ratones tratados con control (P1.17) sufrieron un aumento medio en el tamaño del hemisferio del $18,1 \pm$ % en comparación con los ratones tratados con anti-VLA-1 (Ha/31/8) que sufrieron un aumento en el tamaño del hemisferio del $8,2 \pm 1,9$ % ($P < 0,05$, prueba de la t de Student para datos independientes, $n=12$ por grupo. figura 1D). La figura 2 demuestra una respuesta a la dosis usando tres concentraciones del anticuerpo anti-VLA-1 (Ha31/8), y muestra que 3 mg/kg del anticuerpo fueron tan eficaces como 30 mg/kg en reducir tanto el volumen de infarto (fig. 2A) como el edema (fig. 2B).

[0179] Estos datos demuestran el efecto neuroprotector y antiinflamatorio de la inhibición de VLA-1 en un modelo de oclusión de la arteria cerebral media reversible en el ratón. La patología de este modelo es clínicamente representativa de la afección humana de accidente cerebrovascular y otras lesiones isquémicas del SNC tales como LCT y LME, y los presentes datos sugieren que los inhibidores de VLA-1 puede ser de beneficio significativo en el tratamiento de estos y otros trastornos relacionados con la isquemia.

[0180] Se han descrito varias realizaciones de la invención. Sin embargo, se entenderá que pueden hacerse diversas modificaciones sin apartarse del alcance de la invención. Por consiguiente, otras realizaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-VLA-1, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular isquémico o accidente cerebrovascular hemorrágico en un sujeto.
- 5 2. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo anti-VLA-1 humano, quimérico o humanizado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo.
- 10 3. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo AQC2 humanizado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo.
4. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la
15 reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se produce por un hibridoma que tiene el nº de depósito ATCC PTA 3274.
5. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es un mamífero.
- 20 6. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 5, en el que el sujeto es un ser humano.
7. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la
25 reivindicación 1, en el que el sujeto ha sufrido un accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico.
8. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 7, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en el plazo de 48 horas o en el plazo de 72 horas desde el accidente cerebrovascular.
- 30 9. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse intravenosamente o parenteralmente.
- 35 10. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una dosificación de 0,1 mg/kg por día a 5 mg/kg por día.
11. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la
40 reivindicación 7, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse al menos dos veces en el plazo de 7 días después del accidente cerebrovascular.
12. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la
45 reivindicación 1, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en combinación con otro agente terapéutico.
13. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 12, en el que el otro agente terapéutico está seleccionado del grupo que consiste en un agente antiplaquetario, una enzima trombolítica, un inhibidor de la agregación, un inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa, un
50 glicosaminoglicano, un inhibidor de trombina, un anticoagulante, heparina, cumarina, tPA, GCSF, estreptocinasa, urocinasa, Ancrod, ácido acetilsalicílico, melatonina y un inhibidor de caspasa.
14. Un anticuerpo anti-VLA-1 de bloqueo humanizado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular, en el que el tratamiento va a administrarse en el plazo
55 de 48 horas o en el plazo de 72 horas desde el accidente cerebrovascular.
15. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 14, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse intravenosamente o parenteralmente.

16. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 14, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en una dosificación de 0,1 mg/kg por día a 5 mg/kg por día.
- 5 17. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 14, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse al menos dos veces en el plazo de 7 días después del accidente cerebrovascular.
18. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la
10 reivindicación 14, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, va a administrarse en combinación con otro agente terapéutico.
19. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la
15 reivindicación 18, en el que el otro agente terapéutico está seleccionado del grupo que consiste en un agente antiplaquetario, una enzima trombolítica, un inhibidor de la agregación, un inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa, un glicosaminoglicano, un inhibidor de trombina, un anticoagulante, heparina, cumarina, tPA, GCSF, estreptocinasa, urocinasa, Ancrod, ácido acetilsalicílico, melatonina y un inhibidor de caspasa.
20. Un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento
20 de lesión cerebral traumática (LCT) en un sujeto.
21. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 20, en el que la LCT es una contusión, magulladura, laceración o hematoma.
- 25 22. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 21, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo anti-VLA-1 humano, quimérico o humanizado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo.
23. Un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento
30 de lesión de la médula espinal (LME).
24. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 23, en el que la LME está seleccionada del grupo que consiste en LME incompleta, síndrome central de la médula espinal, síndrome de Brown-Sequard, síndrome anterior de la médula espinal, síndrome del cono
35 medular y síndrome de la cola de caballo.
25. El anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso según la reivindicación 23, en el que el anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo anti-VLA-1 humano, quimérico o humanizado, o un fragmento de unión al antígeno del mismo.
40
26. Un anticuerpo anti-VLA-1, o fragmento de unión al antígeno del mismo, para su uso en el tratamiento de lesión por isquemia-reperusión.

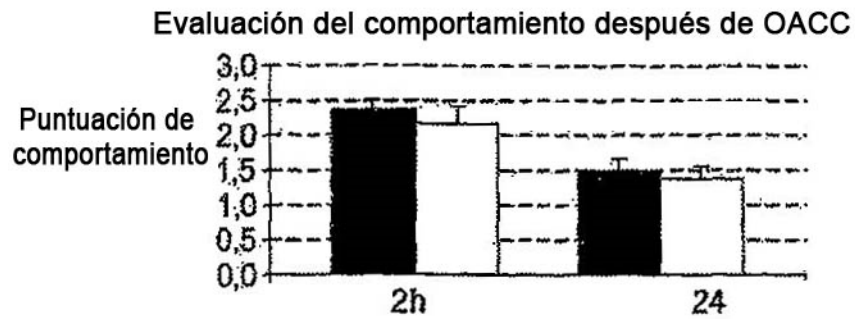


FIG. 1A

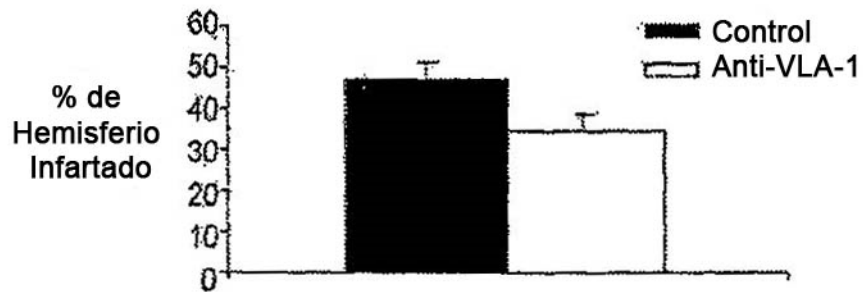


FIG. 1B

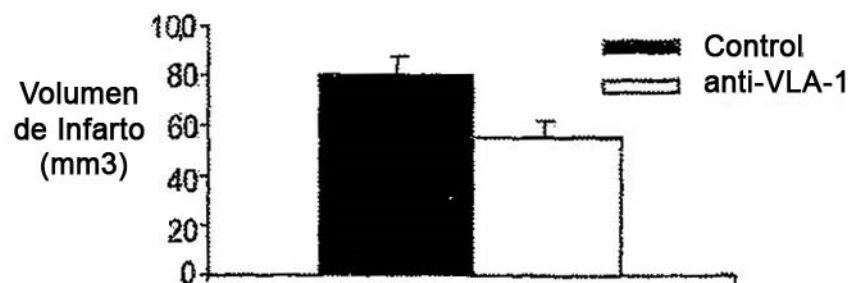


FIG. 1C

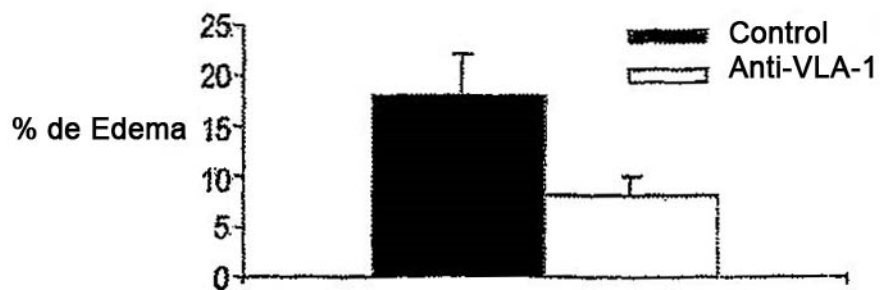


FIG. 1D

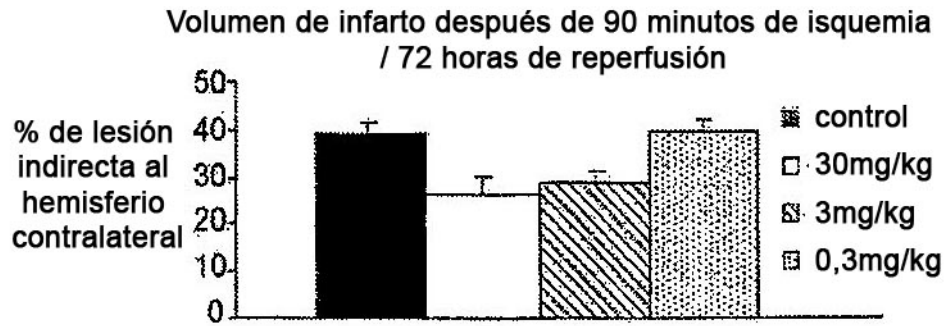


FIG. 2A

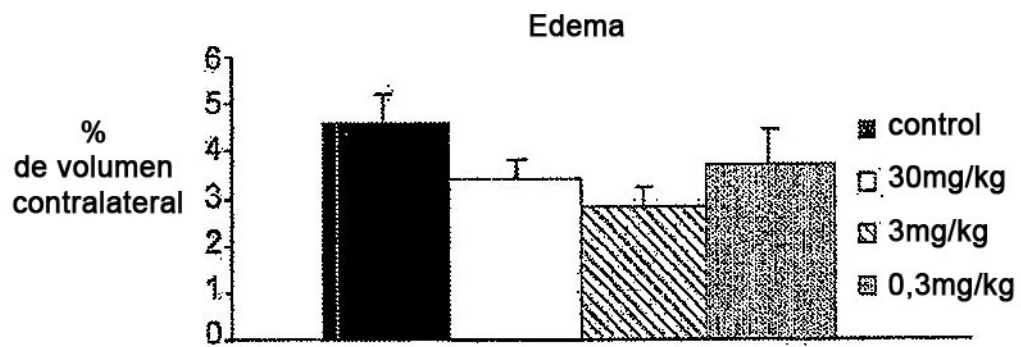


FIG. 2B