

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 906 630**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.06.2015 PCT/EP2015/062742**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.12.2015 WO15185760**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.06.2015 E 15728491 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.12.2021 EP 3151851**

(54) Título: **Inhibidor del complemento ornithodoros moubata para uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por el complemento en pacientes con polimorfismo C5**

(30) Prioridad:

06.06.2014 GB 201410116

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

19.04.2022

(73) Titular/es:

VOLUTION IMMUNO PHARMACEUTICALS SA (100.0%)

**Place Des Eaux Vives 6
3461-1211 Geneve 3, CH**

(72) Inventor/es:

WESTON-DAVIES, WYNNE H

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 906 630 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

Inhibidor del complemento ornithodoros moubata para uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por el complemento en pacientes con polimorfismo C5

5

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La presente invención se refiere a agentes para uso en métodos de tratamiento y prevención de enfermedades y trastornos mediados por el complemento en sujetos con polimorfismos C5 del complemento.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] Los polimorfismos son comunes en todos excepto en los genes más conservados en la mayoría de las especies. La presencia de polimorfismos en genes que están implicados en enfermedades y trastornos de la salud humana ha propiciado el advenimiento de la medicina personalizada. La medicina personalizada permite que la atención médica se adapte al individuo utilizando una variedad de herramientas, incluido el análisis genético molecular. Las decisiones médicas, la elección de medicamentos y/o los regímenes de tratamiento se pueden adaptar al paciente individual. Las pruebas de diagnóstico y el genotipado se pueden usar para seleccionar terapias apropiadas y óptimas basadas en la capacidad de respuesta individual del sujeto a fármacos particulares.

20

[0003] Recientemente ha salido a la luz que ciertas variantes genéticas en C5 humano, o polimorfismos C5, dan lugar a una falta de respuesta a ciertos agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina. En un ensayo clínico de eculizumab en una población japonesa particular de pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) mediada por el complemento, varios pacientes tuvieron una respuesta deficiente. Estos pacientes presentaban los polimorfismos C5 c.2653C>T (p.Arg885Cys) o c.2654G>A (p.Arg885His). En este tipo de situaciones se puede identificar una subpoblación de pacientes que no pueden ser tratados por medios convencionales, o tal vez no se pueda tratar en absoluto si no hay un fármaco alternativo disponible, o si todos los fármacos conocidos actúan por el mismo mecanismo.

30

[0004] En el presente caso, no existe un tratamiento alternativo disponible para las enfermedades y trastornos mediados por el complemento que actualmente se tratan con eculizumab. Por lo tanto, existe la necesidad de identificar un medio para tratar la subpoblación de pacientes con polimorfismos C5 que los hacen actualmente intratables.

35

[0005] El documento WO 2014/047500 divulga un ensayo de cribado para antagonistas C5 del complemento, que se describe como potencialmente útil para identificar posibles fármacos candidatos para pacientes que muestran poca o ninguna respuesta a las terapias existentes para tratar trastornos asociados al complemento.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

40

[0006] Sorprendentemente, los presentes inventores han descubierto que la proteína de garrapata Coversin (también denominada EV576 y OmCl en la técnica y aquí [25]) puede usarse para tratar y prevenir enfermedades y trastornos mediados por el complemento en sujetos con polimorfismos del complemento C5.

45

[0007] Por consiguiente, la invención proporciona un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de la lectina para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento en el residuo Arg885 de C5 de tipo salvaje que disminuye la eficacia de eculizumab, donde dicho método comprende los pasos de:

50

1) identificar un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento en el residuo Arg885 de C5 de tipo salvaje que disminuye la eficacia de eculizumab; y

2) identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto; y

55

3) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de dicho agente identificado en el paso 2, donde el agente es:

(i) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína;

60

(ii) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína; o

65

(iii) una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína como se indica en (i) o (ii);

en el que la enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento se selecciona de pancreatitis aguda, degeneración

macular relacionada con la edad, síndrome urémico hemolítico atípico, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, encefalomielitis alérgica, alotrasplante, asma, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, gripe, lesiones por quemaduras, enfermedad de Crohn, glomerulonefritis, anemia hemolítica, hemodiálisis, angioedema hereditario, lesiones por isquemia-reperfusión, insuficiencia multiorgánica, esclerosis múltiple, miastenia grave, infarto de miocardio, hemoglobinuria paroxística nocturna, psoriasis, artritis reumatoide, shock séptico, lupus eritematoso sistémico, accidente cerebrovascular, púrpura trombocitopénica trombótica, lesión cerebral traumática, síndrome de fuga vascular y rechazo de trasplantes y enfermedad de injerto contra huésped, trastornos de los nervios periféricos y trastornos respiratorios, y donde el equivalente funcional de:

- 10 (a) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2; o
- 15 (b) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; es
- 15 (c) un homólogo que tiene más del 80% de identidad de secuencia con la proteína como se define en (a) o (b); o
- 20 (d) un fragmento de una proteína, donde la proteína tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o un fragmento de un homólogo, donde el homólogo tiene más del 80% de identidad con la secuencia de aminoácidos 19 a 168 o los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2,

donde dicho equivalente funcional retiene la capacidad de unirse al complemento C5 y evitar la escisión del complemento C5 por convertasa C5 en complemento C5a y complemento C5b-9.

- 25 **[0008]** También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo del complemento C5.
- 30 **[0009]** También se describe, pero no según la invención, un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento que comprende las etapas de:

- 35 a) identificar un sujeto con un polimorfismo C5; y
- b) identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto; y
- c) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de dicho agente identificado en el paso (b).

- 40 **[0010]** También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para usar en un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento, en el que dicho método de tratamiento o prevención comprende las etapas de:

- 45 a) identificar un sujeto con un polimorfismo C5; y
- b) identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto; y
- c) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de dicho agente identificado en el paso (b).

- 50 **[0011]** También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un método para seleccionar un sujeto con una enfermedad o trastorno mediado por el complemento para el tratamiento con un primer agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto con un polimorfismo C5, que comprende determinar la eficacia de un segundo agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto, donde se selecciona un sujeto para el tratamiento con el primer agente si el segundo agente muestra disminución de la eficacia en el sujeto con un polimorfismo C5.

- 55 **[0012]** También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para tratar una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, en el que dicho agente se administra a un sujeto sobre la base de que se ha determinado que el sujeto tiene un polimorfismo C5.

Complemento

- 60 **[0013]** El sistema del complemento es una parte esencial del mecanismo de defensa natural del cuerpo contra la invasión extraña y también está implicado en el proceso inflamatorio. Más de 30 proteínas en el suero y en la superficie celular están involucradas en la función y regulación del sistema del complemento. Recientemente se ha hecho evidente que,

además de los ~35 componentes conocidos del sistema del complemento que pueden estar asociados con procesos tanto beneficiosos como patológicos, el propio sistema del complemento interactúa con al menos 85 vías biológicas con funciones tan diversas como la angiogénesis, la activación plaquetaria, metabolismo de la glucosa y espermatogénesis.

- 5 [0014] El sistema del complemento se activa por la presencia de antígenos extraños. Existen tres vías de activación: (1) la vía clásica que es activada por complejos IgM e IgG o por reconocimiento de carbohidratos; (2) la vía alternativa que es activada por superficies ajenas (que carecen de moléculas reguladoras específicas) y por endotoxinas bacterianas; y
 10 (3) la ruta de la lectina que se activa mediante la unión de la lectina de unión a maná (MBL) a los residuos de manosa en la superficie de un patógeno. Las tres vías comprenden cascadas paralelas de eventos que dan como resultado la producción de la activación del complemento a través de la formación de convertasas C3 y C5 similares en las superficies celulares, lo que da como resultado la liberación de mediadores agudos de la inflamación (C3a y C5a) y la formación del complejo de ataque a la membrana (MAC). Las cascadas paralelas involucradas en las vías clásica y alternativa se muestran en la Figura 1.
- 15 [0015] La vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina se denominan colectivamente en el presente documento vías del complemento.

Polimorfismos del C5 del complemento

- 20 [0016] Se han informado varios polimorfismos del C5 humano [1-5]. Las mutaciones en el gen que codifica C5 se han asociado con varias patologías, incluida la deficiencia del componente 5 del complemento, una enfermedad en la que los pacientes muestran una propensión a sufrir infecciones recurrentes graves. Los defectos en este gen también se han relacionado con la susceptibilidad a la fibrosis hepática ya la artritis reumatoide. Los polimorfismos en C5 humano incluyen inserciones, delecciones, sustituciones de un solo aminoácido, cambios de marco, truncamientos y combinaciones de estos cambios.
 25

- [0017] Ciertos polimorfismos alteran la interacción de C5 con inhibidores de la activación de la ruta del complemento. Ciertos otros polimorfismos alteran la actividad de C5 con importancia clínica. Los polimorfismos que afectan a Arg885 de C5 de tipo salvaje son de interés. Dos polimorfismos de particular interés son Arg885Cys (codificado por c.2653C>T) y p.Arg885His (codificado por c.2654G>A), los cuales disminuyen la eficacia del mAb eculizumab [4].
 30

- [0018] El término "polimorfismo C5" se usa aquí para referirse a cualquier variante de C5 que no sea el C5 de tipo salvaje. En un sujeto humano, el C5 de tipo salvaje es la proteína C5 con número de registro NP_001726.2; versión GI:38016947. El término "polimorfismo C5" incluye inserciones, delecciones, sustituciones de aminoácidos simples o múltiples, cambios de marco, truncamientos y combinaciones de estos cambios en la proteína C5.
 35

- [0019] Estos polimorfismos pueden estar presentes como polimorfismos heterocigotos u homocigotos, tales como C5 heterocigotos para un polimorfismo dado, homocigotos para un polimorfismo o heterocigotos para diferentes polimorfismos.
 40

- [0020] Los polimorfismos de interés incluyen cambios en la secuencia de aminoácidos de C5 de tipo salvaje que están cerca o dentro del epítopo de eculizumab (es decir, 879KSSKC883, incluidos K879, S880, S881, K882 y/o C883). Por ejemplo, cualquier cambio puede ser en el epítopo de eculizumab o hasta 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 aminoácidos en el extremo N o C del epítopo de eculizumab.
 45

- [0021] Preferiblemente, el cambio de aminoácido no está dentro o cerca del sitio de unión de Coversin de C5. Se cree que esta es una región conservada encima de C5α en el extremo distal del superdominio CUB-C5d-MG8 altamente conservado de C5.

- 50 [0022] En la presente invención, los polimorfismos C5 disminuyen la eficacia de eculizumab. Por "disminuir la eficacia" se entiende que el agente tiene una Cl₅₀ para la proteína C5 polimórfica que es al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 1000 o más veces mayor que la Cl₅₀ del mismo agente para la proteína C5 de tipo salvaje. En la presente invención, el polimorfismo C5 disminuye la efectividad de eculizumab, pero no disminuye la efectividad de Coversin o equivalentes funcionales del mismo.
 55

- [0024] Por "no disminuye la eficacia" se entiende que la Cl₅₀ de Coversin u otros agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina al unirse a C5 sin bloquear el sitio de unión de la convertasa de C5, para la proteína C5 de tipo salvaje es al menos el 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de la Cl₅₀ de Coversin u otros agentes que inhiben la la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina al unirse a C5 sin bloquear el sitio de unión de la convertasa de C5 para la proteína C5 polimórfica. El término "no disminuye" también abarca un aumento en la eficacia.
 60

- [0025] La eficacia puede medirse alternativamente midiendo la capacidad del agente para inhibir la activación del complemento en el suero tomado del sujeto. Por ejemplo, la actividad del complemento en el suero de dichos sujetos puede medirse por cualquier medio conocido en la técnica o descrito en el presente documento, por ejemplo, los ensayos hemolíticos descritos en la referencia [6]. Se consideraría que un agente inhibe la actividad del complemento en dicho

sujeto si se reduce la actividad del complemento en presencia del agente en comparación con un control. Por "reducida" en este contexto se entiende que la actividad del complemento en la muestra tratada es al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100%, reducida en comparación con un control.

5 [0026] En la presente invención, el polimorfismo C5 disminuye la eficacia del anticuerpo monoclonal eculizumab para inhibir la activación de una o más vías del complemento. El polimorfismo C5 está en la posición Arg885. Los polimorfismos específicos en esta posición incluyen Arg885Cys o Arg885His.

10 [0027] También se describen polimorfismos que alteran la afinidad de unión de C5 a anticuerpos monoclonales anti C5 conocidos, como Pexelizumab y/o N19-8, o la eficacia de los inhibidores del complemento peptídico, como ARC1905.

15 [0028] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento que comprende administrar a un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento y que lo necesita, una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina, en la que el polimorfismo C5 del complemento disminuye la eficacia de los agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina mediante el bloqueo del sitio de unión de la convertasa C5, pero no disminuye la eficacia de los agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina sin bloquear el sitio de unión de la convertasa C5.

20 [0029] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento que comprende administrar a un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento y que lo necesita, una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina, en el que el polimorfismo C5 del complemento disminuye la eficacia de los anticuerpos monoclonales que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina, pero no disminuir la eficacia de Coversin o equivalentes funcionales de este agente.

30 [0030] También se describe, pero no según la invención, una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para tratar o prevenir una enfermedad mediada por el complemento y/ o trastorno en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento, en el que el polimorfismo C5 del complemento disminuye la eficacia de los agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina mediante el bloqueo del sitio de unión de C5, pero no disminuye la eficacia de agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina sin bloquear el sitio de unión a C5.

35 [0031] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para tratar o prevenir una enfermedad mediada por el complemento y/ o trastorno en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento, en el que el polimorfismo C5 del complemento disminuye la eficacia de los anticuerpos monoclonales que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina pero no disminuye la eficacia de Coversin o equivalentes funcionales de este agente.

40 [0032] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento que comprende administrar a un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento y que lo necesita una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de la lectina, en el que el polimorfismo C5 del complemento está en la posición Arg885 y en el que el agente es una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína.

45 [0033] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para tratar o prevenir una enfermedad mediada por el complemento y/ o trastorno en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento en el que el polimorfismo C5 del complemento está en la posición Arg885 y en el que el agente es una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es una proteína funcional equivalente de esta proteína.

Identificación de sujetos para tratamiento

60 [0034] La presente invención se refiere al tratamiento de sujetos que tienen un polimorfismo en el complemento C5. Es posible que ya se sepa que el sujeto tiene un polimorfismo C5 o que se sospeche que tiene un polimorfismo C5. Se puede sospechar que un sujeto tiene un polimorfismo en C5, por ejemplo, debido a signos clínicos de un trastorno mediado por el complemento, debido a su origen étnico o pedigrí con una incidencia de polimorfismos C5, o debido a una respuesta inesperadamente pobre y/o respuesta inesperadamente alta a un agente que inhibe una de las vías del complemento.

65 [0035] La invención se refiere a subpoblaciones de sujetos con un polimorfismo C5 que disminuye la eficacia de

eculizumab para inhibir la activación de una o más vías del complemento.

[0036] Por ejemplo, los sujetos con dos polimorfismos C5 en la posición Arg885 (c.2653C>T (p.Arg885Cys) y c.2654G>A (p.Arg885His)) no responden a eculizumab. Sin embargo, se ha demostrado que Coversin puede inhibir la escisión de C5 y la activación de las vías del complemento incluso en estos sujetos. Coversin interactúa con la proteína C5 del complemento de una manera diferente a los mAb anti C5 conocidos y, por lo tanto, se espera que Coversin también sea útil en subpoblaciones de sujetos que no responden a los mAb anti C5 conocidos y en sujetos que tienen otros polimorfismos C5. Coversin se une a C5, lo que da como resultado la estabilización de la conformación global de C5 pero no bloquea el sitio de escisión de la convertasa de C5 [7]. Por el contrario, eculizumab bloquea el sitio de unión de la convertasa C5 [8].

[0037] Los polimorfismos Arg885Cys y Arg885His son particularmente frecuentes en sujetos de origen japonés y chino Han. Coversin es, por lo tanto, una opción particularmente ventajosa de agente en una subpoblación con estos orígenes étnicos.

[0038] Como puede verse a partir de los ejemplos, estos polimorfismos no se limitan a sujetos de origen japonés y chino han. Los sujetos con polimorfismos C5 también pueden identificarse mediante otras técnicas de rutina, incluido el análisis genético molecular del gen que codifica la proteína C5, incluida la secuenciación del gen [4]; probar la capacidad de varios agentes para inhibir la activación del complemento en el sujeto como se describe en el presente documento o mediante otros métodos conocidos en la técnica; y/o análisis bioquímico de la proteína C5 del sujeto, incluido el enfoque isoelectrónico y la detección funcional [9]. En un entorno clínico, un sujeto con un polimorfismo C5 puede ser identificado por una respuesta inesperadamente pobre a un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina.

[0039] También se anticipa que Coversin será útil en subpoblaciones de sujetos que son inesperadamente sensibles a otros agentes que inhiben una de las vías del complemento. Por ejemplo, si un polimorfismo aumenta la afinidad de otro agente, como eculizumab, por la proteína C5, puede resultar difícil dosificar el agente correctamente. La activación del complemento debe controlarse estrictamente para evitar daños en los propios tejidos del cuerpo y, por lo tanto, Coversin sería una alternativa más atractiva en este escenario.

[0040] Una vez identificado un sujeto con un polimorfismo C5, es posible identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto. Para identificar un agente que inhiba las vías del complemento, se evalúa la actividad del complemento en el suero del sujeto en presencia y ausencia de una variedad de agentes que inhiben la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina, como se ha descrito en este documento. El agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto es Coversin o un equivalente funcional del mismo, tal como se define en las reivindicaciones.

[0041] La actividad del complemento en el suero de dichos sujetos se puede medir por cualquier medio conocido en la técnica o descrito en el presente documento, por ejemplo, los ensayos hemolíticos descritos en la referencia [10] y/o usando el método Quidel CH50 como se menciona en los ejemplos. Se consideraría que un agente inhibiera la actividad del complemento en dicho sujeto si se reduce la actividad del complemento en presencia del agente en comparación con un control. Por "reducida" en este contexto se entiende que la actividad del complemento en la muestra tratada es al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100%, reducida en comparación con un control.

[0042] La divulgación proporciona un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento que comprende los pasos de:

- a) identificar un sujeto con un polimorfismo C5; y
- b) identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto; y
- c) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de dicho agente identificado en el paso (b).

[0043] La divulgación también proporciona una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para usar en un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento, en el que dicho método de tratamiento o prevención comprende las etapas de:

- a) identificar un sujeto con un polimorfismo C5; y
- b) identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto; y
- c) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de dicho agente identificado en el paso (b).

[0044] La descripción proporciona, pero no según la invención, un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la

vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto con un polimorfismo C5 para tratar una enfermedad o trastorno mediado por el complemento, en el que dicho agente se administra a un sujeto sobre la base de que se ha determinado que el sujeto tiene un polimorfismo C5.

5 [0045] La descripción proporciona, pero no según la invención, un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto con un polimorfismo C5 para tratar una enfermedad o trastorno mediado por el complemento en un sujeto, en el que

10 se analiza una muestra biológica de dicho sujeto para determinar la presencia o ausencia de un polimorfismo C5, y
se administra selectivamente al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho agente en base a la presencia del polimorfismo C5.

15 [0046] En una forma de realización específica, el sujeto con un polimorfismo C5 se identifica por la falta de respuesta a un anticuerpo monoclonal que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en sujetos de tipo salvaje. Esta subpoblación de sujetos se denomina "no respondedores". Los no respondedores pueden identificarse confirmando que la actividad del complemento sérico es al menos el 60 % de la actividad normal del complemento sérico en presencia del anticuerpo monoclonal que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto con C5 de tipo salvaje.

20 [0047] De particular interés en la presente invención son los sujetos que no responden a eculizumab.

25 [0048] En formas de realización específicas adicionales, el polimorfismo C5 específico puede identificarse o confirmarse secuenciando el gen que codifica C5 o mediante otro análisis genético molecular. La descripción proporciona, pero no de acuerdo con la invención, un método para seleccionar un sujeto con una enfermedad o trastorno mediado por el complemento para el tratamiento con un primer agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto con un polimorfismo C5, que comprende determinar la eficacia en dicho sujeto de un segundo agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto de tipo salvaje, donde se selecciona un sujeto para tratamiento si el segundo agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en un sujeto de tipo salvaje muestra una eficacia reducida en el sujeto con un polimorfismo C5.

30 [0049] La inhibición de la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto puede medirse midiendo la capacidad de un agente para prevenir la activación del complemento en el suero del sujeto, como se describe en este documento.

35 [0050] En una forma de realización específica, la invención, como se define en las reivindicaciones, proporciona un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para su uso en un método para tratar una enfermedad o trastorno mediado por el complemento., en el que dicho agente se administra a un sujeto sobre la base de que se ha determinado que una muestra del sujeto tiene al menos el 60 % de la actividad del complemento sérico normal en presencia de eculizumab que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en sujetos con C5 de tipo salvaje.

40 [0051] En una forma de realización específica adicional, la invención, como se define en las reivindicaciones, proporciona un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina para usar en un método para tratar una enfermedad mediada por el complemento o en un sujeto, en el que

45 a) se analiza una muestra biológica de dicho sujeto para determinar la presencia o ausencia de al menos el 60 % de la actividad del complemento sérico normal en presencia de eculizumab que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la lectina vía del complemento en sujetos con C5 de tipo salvaje, y
50 b) se administra selectivamente al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho agente sobre la base de la presencia de al menos el 60 % de la actividad normal del complemento sérico en presencia de eculizumab que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en sujetos con C5 de tipo salvaje.

55 [0052] Por "al menos el 60 % de la actividad del complemento sérico normal en presencia de eculizumab" se entiende que la actividad del complemento sérico del sujeto es al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95% o más de la actividad del complemento sérico de un sujeto de control normal no tratado. El sujeto de control puede tener C5 de tipo salvaje o puede ser el mismo sujeto antes del tratamiento con eculizumab.

[0053] Estos métodos pueden usarse para identificar sujetos y poblaciones de sujetos que son susceptibles al tratamiento con Coversin y equivalentes funcionales del mismo.

60 65 **Enfermedades y trastornos mediados por el complemento**

5 [0054] La activación del complemento debe controlarse estrictamente para evitar el daño a los propios tejidos del cuerpo. Se ha demostrado que la falta de control de la activación del complemento desempeña un papel en una variedad de enfermedades que incluyen, entre otras, pancreatitis aguda, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), síndrome urémico hemolítico atípico (aHUS), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntingdon, enfermedad de Parkinson, encefalomielitis alérgica, alotrasplante, asma, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, gripe, lesiones por quemaduras, enfermedad de Crohn, glomerulonefritis, anemia hemolítica, hemodiálisis, angioedema hereditario, lesiones por isquemia-reperfusión, insuficiencia multiorgánica, esclerosis múltiple, miastenia grave, infarto de miocardio, hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), psoriasis, artritis reumatoide, shock séptico, lupus eritematoso sistémico, accidente cerebrovascular, púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), lesión cerebral traumática, síndrome de fuga vascular y rechazo de trasplantes y enfermedad de injerto contra huésped (EICH), así como varios otros trastornos nerviosos periféricos y trastornos respiratorios [11- 16].

10 15 [0055] Los trastornos de los nervios periféricos enumerados en la referencia 15 incluyen polirradiculoneuropatía desmielinizante posinfecciosa (síndrome de Guillain Barré), síndrome de Miller Fisher, polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (PDIA), polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC), neuropatía diabética, prurito urémico, neuropatía motora multifocal, neuropatía paraproteinémica, neuropatía anti-Hu, neuropatía desmielinizante posterior a la difteria, esclerosis múltiple, mielopatía por radiación, arteritis de células gigantes (arteritis temporal), mielitis transversa, enfermedad de la neurona motora, dermatomiositis.

20 25 30 35 40 [0056] Los trastornos respiratorios enumerados en la referencia 14 incluyen asma, incluido el asma grave y resistente a los esteroides, la EPOC, la alveolitis por complejos inmunitarios, incluidos los causados por la exposición a polvos orgánicos, mohos, alérgenos transportados por el aire, polvos minerales, productos químicos, etc. Las definiciones de trastornos respiratorios incluyen: pulmón de granjero, pulmón de criador de palomas o pájaros, fiebre de granero, pulmón de molinero, pulmón de trabajador metalúrgico, fiebre de humidificador, silicosis, neumoconiosis, asbestosis, bisirosis, beriliosis, mesotelioma, rinitis, alveolitis o enfermedad pulmonar fibrótica difusa causada por exposición a fármacos y agentes químicos sistémicos o inhalados, incluidos, entre otros: bleomicina, mitomicina, penicilinas, sulfonamidas, cefalosporinas, aspirina, AINE, tartrazina, inhibidores de la ECA, medios de contraste que contienen yodo, fármacos bloqueadores β no selectivos, suxametonio, hexametonio, tiopentona, amiodarona, nitrofurantoína, paraquat, oxígeno, agentes citotóxicos, tetraciclinas, fenitoína, carbamazepina, clorpropamida, hidralazina, procainamida, isoniazida, ácido ρ -aminosalicílico. Además, el término incluye daño pulmonar físico que incluye pero no se limita a: lesión por aplastamiento, inhalación de humo y gas caliente, lesión por explosión, lesión por radiación, neumonitis por aspiración, neumonía lipoidea; daño pulmonar asociado con el trasplante de órganos, incluidos, entre otros: trasplante cardíaco, trasplante de pulmón, trasplante de médula ósea. También se incluyen dentro de la definición de trastorno respiratorio la alveolitis fibrosante criptogénica, la granulomatosis alérgica (síndrome de Churg-Strauss), la granulomatosis de Wegener, la bronqueolitis obliterante, la fibrosis pulmonar intersticial, la fibrosis quística. También se incluyen manifestaciones respiratorias de enfermedades autoinmunes y del tejido conjuntivo que incluyen, entre otras: enfermedad reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, poliarteritis nodosa, polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Sjögren, espondilitis anquilosante, síndrome de caplan, síndrome de goodpasture, proteinosis alveolar pulmonar, hemosiderosis pulmonar idiopática, histiocitosis X, infiltración pulmonar con eosinofilia (IPE) que incluye pero no se limita a: eosinofilia pulmonar simple, eosinofilia pulmonar prolongada, eosinofilia broncopulmonar asmática, aspergilosis broncopulmonar alérgica, aspergiloma, aspergilosis invasiva, eosinofilia pulmonar tropical, síndrome hipereosinofílico, infestación parasitaria y linfangoleiomomatosis (LAM).

45 [0057] Son de particular interés en la presente invención la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), la enfermedad de injerto contra huésped (EICH), la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) y el síndrome urémico hemolítico atípico (SUHa).

Agente a utilizar en la invención

50 55 [0058] En un aspecto de la invención, el agente puede unirse al complemento C5, incluido el complemento C5 de sujetos con polimorfismos del complemento C5. El agente actúa para prevenir la escisión del complemento C5, incluido el complemento C5 de sujetos con polimorfismos del complemento C5, por convertasa C5 en complemento C5a y complemento C5b-9. El agente puede actuar para reducir los niveles de C5a en un sujeto en comparación con un sujeto no tratado.

[0059] En un aspecto de la invención, el agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina se une a C5 de tal manera que estabiliza la conformación global de C5 pero no bloquea el sitio de escisión de convertasa C5. La unión de Coversin a C5 da como resultado la estabilización de la conformación global de C5 pero no bloquea el sitio de escisión de la convertasa.

60 65 [0060] La proteína C5 del complemento, también denominada en este documento C5, es escindida por la enzima convertasa C5, formada a su vez a partir de C3a, un producto anterior de la ruta alternativa (Figura 1). Los productos de esta escisión incluyen una anafilatoxina C5a y un complejo lítico C5b - 9 también conocido como complejo de ataque a la membrana (MAC). C5a es un péptido altamente reactivo implicado en muchos procesos inflamatorios patológicos, incluida la quimiotaxis de neutrófilos y eosinófilos, la activación de neutrófilos, el aumento de la permeabilidad capilar y la inhibición de la apoptosis de neutrófilos [17].

5 [0061] MAC está asociado con otros procesos patológicos importantes que incluyen artritis reumatoide [18;19], glomerulonefritis proliferativa [20], nefropatía membranosa idiopática [21], proteinuria [22], desmielinización después de una lesión axonal aguda [23] y también es responsable para el rechazo agudo del injerto después de un xenotrasplante [24].

10 10 [0062] Se han desarrollado anticuerpos monoclonales y moléculas pequeñas que se unen e inhiben C5 para tratar diversas enfermedades [12], en particular HPN, psoriasis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y rechazo de trasplantes. Sin embargo, estos anticuerpos monoclonales no se unen a ciertas proteínas C5 de sujetos con polimorfismos C5 y, por lo tanto, son ineficaces en estos sujetos [4]. Por el contrario, la Coversin y los equivalentes funcionales de la misma inhiben la escisión de C5 del complemento tanto en sujetos con C5 de tipo salvaje como en sujetos con polimorfismos de C5.

15 15 [0063] La capacidad de un agente para unirse a C5, incluido C5 de sujetos con polimorfismos de C5, puede determinarse mediante ensayos in vitro estándar conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante transferencia Western después de la incubación de la proteína en el gel con C5 marcado. Preferiblemente, el agente según la invención se une a C5, ya sea de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con polimorfismos C5, con una Cl_{50} de menos de 0,2 mg/ml, preferiblemente menos de 0,1 mg/ml, preferiblemente menos de 0,05 mg/ml, preferiblemente menos de 0,04 mg/ml, preferiblemente menos de 0,03 mg/ml, preferiblemente 0,02 mg/ml, preferiblemente menos de 1 mg/ml, preferiblemente menos de 100 ng/ml, preferiblemente menos de 100 ng/ml, más preferiblemente aún, menos de 1 ng/ml. No es necesario que el agente tenga la misma afinidad por C5 de tipo salvaje y C5 de sujetos con polimorfismos de C5. Puede mostrar una afinidad mayor, menor o igual por C5 y C5 de tipo salvaje de sujetos con polimorfismos C5.

20 20 [0065] La capacidad de un agente para inhibir la activación del complemento se puede determinar midiendo la capacidad del agente para inhibir la activación del complemento en suero. Por ejemplo, la actividad del complemento en el suero se puede medir por cualquier medio conocido en la técnica o descrito en el presente documento.

25 25 [0066] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una sustancia terapéutica o cantidad profilácticamente eficaz de un agente que inhibe la actividad de los eicosanoïdes.

30 30 [0067] También se describe, pero no según la invención, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un agente que inhibe la actividad de los eicosanoïdes para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento.

35 35 [0068] El agente para uso de acuerdo con la invención puede inhibir la actividad de la leucotrina B4 (LTB4). En particular, el agente para uso de acuerdo con la invención puede unirse a LTB4. La capacidad de un agente para unirse a LTB4 puede determinarse mediante ensayos in vitro estándar conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante transferencia Western después de la incubación de la proteína en el gel con LTB4 marcado. El agente para uso de acuerdo con la invención puede unirse a LTB4 con una Cl_{50} de menos de 0,2 mg/ml, preferiblemente menos de 0,1 mg/ml, preferiblemente menos de 0,05 mg/ml, preferiblemente menos de 0,04 mg/ml, preferiblemente menos de 0,03 mg/ml, preferiblemente 0,02 mg/ml, preferiblemente menos de 1 µg/ml, preferiblemente menos de 100 ng/ml, preferiblemente menos de 10 ng/ml, aún más preferiblemente menos de 1 ng/ml.

40 40 [0069] También se describe, pero no de acuerdo con la invención, un método para tratar o prevenir una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una sustancia terapéutica o cantidad profilácticamente eficaz de un agente que:

45 a) inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina;
y/o
b) inhibe la actividad de los eicosanoïdes.

50 [0070] La invención, tal como se define en las reivindicaciones, también proporciona un agente que inhibe:

55 a) la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina; y/o
b) actividad de eicosanoide,

60 para uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento.

65 [0071] Según una forma de realización de este aspecto de la invención, el agente se une a todo C5, C5 de sujetos con polimorfismos C5 y LTB4. El agente según esta forma de realización puede actuar así para evitar la escisión del complemento C5 por convertasa C5 en complemento C5a y complemento C5b-9 (MAC), y también para inhibir la actividad de LTB4. El uso de un agente que se une tanto a C5 como a LTB4 es particularmente ventajoso. Se cree que C5 y la ruta

de los eicosanoídes contribuyen a la patología observada en muchas enfermedades y trastornos mediados por el complemento. Por lo tanto, al usar un solo agente que inhibe múltiples vías involucradas en los efectos inflamatorios de las enfermedades y trastornos mediados por el complemento, se puede lograr un efecto mejorado, en comparación con el uso de un agente que inhibe solo una sola vía involucrada en los efectos inflamatorios de las enfermedades y trastornos mediados por el complemento. Hay además ventajas prácticas asociadas con la administración de una sola molécula.

5 [0072] Preferiblemente, el agente de la invención se deriva de un artrópodo hematófago. El término "artrópodo hematófago" incluye todos los artrópodos que se alimentan de sangre de un huésped adecuado, como insectos, garrapatas, piojos, pulgas y ácaros. Preferiblemente, el agente se deriva de una garrapata, preferiblemente de la garrapata *Ornithodoros moubata*.

10 [0073] Según una forma de realización de la invención, el agente es una proteína que comprende los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos de la Figura 2 (SEQ ID NO: 2) o es un equivalente funcional de esta proteína, como se define en el reivindicación. El agente puede ser una proteína que consta de los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia 15 de aminoácidos de la Figura 2 o ser un equivalente funcional de esta proteína, como se define en las reivindicaciones.

20 [0074] Según una forma de realización alternativa, la proteína utilizada según esta forma de realización de la invención puede comprender o consistir en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos de la Figura 2 (SEQ ID NO: 2), o ser un equivalente funcional de la misma, como se define en las reivindicaciones. Los primeros 18 aminoácidos de la secuencia de proteína proporcionada en la Figura 2 forman una secuencia señal que no se requiere para la unión de C5 o para la actividad de unión de LTB4 y, por lo tanto, puede prescindirse opcionalmente, por ejemplo, para la eficiencia de la producción de proteína recombinante.

25 [0075] La proteína que tiene la secuencia de aminoácidos proporcionada en la Figura 2, también denominada en este documento proteína Coversin, se aisló de las glándulas salivales de la garrapata *Ornithodoros moubata*. Coversin es un miembro periférico de la familia de lipocalina y es el primer miembro de la familia de lipocalina que inhibe la activación del complemento. La proteína Coversin inhibe las vías alternativa, clásica y del complemento de la lectina al unirse a C5 y evitar su escisión por la convertasa C5 en Complemento C5a y Complemento C5b - 9, inhibiendo así la acción del péptido C5a y la MAC. La proteína Coversin también se une a LTB4. El término "proteína Coversin", tal como se usa en el presente 30 documento, se refiere a la secuencia proporcionada en la Figura 2 con o sin la secuencia señal.

35 [0076] La proteína Coversin y la capacidad de esta proteína para inhibir la activación del complemento se han descrito en [25], donde la proteína Coversin se denominó "proteína OmCl". La proteína Coversin también ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la miastenia grave [13], los trastornos respiratorios [14] y los trastornos de los nervios periféricos [15]. La capacidad de la proteína Coversin para unirse a eicosanoídes, incluido LTB4, y su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por un leucotrieno o hidroxieicosanoide se ha sugerido en [26]. Ninguna de estas descripciones sugiere que la proteína Coversin podría ser útil en el tratamiento o prevención de trastornos mediados por el complemento en sujetos con un polimorfismo C5.

40 [0077] Ahora se ha descubierto que la proteína Coversin es sorprendentemente eficaz en el tratamiento y prevención de trastornos mediados por el complemento en sujetos con un polimorfismo C5. Los datos presentados aquí demuestran que, en un sujeto con un polimorfismo Arg885His, la inhibición de la actividad del complemento *in vitro* fue resistente a eculizumab (30 % o 30-80 % de inhibición del complemento en el mejor de los casos) pero completamente sensible a Coversin, con una inhibición del 100 % en todas las concentraciones ensayadas.

45 [0078] Por lo tanto, eculizumab no inhibe completamente la actividad del complemento en suero de pacientes con un polimorfismo Arg885His, y estos pacientes no recibieron ningún beneficio clínico del tratamiento terapéutico con eculizumab. Estos datos muestran que la inhibición del complemento en el tratamiento de trastornos relacionados con el complemento (por ejemplo, el tratamiento de la HPN) con eculizumab es inadecuada para ver un beneficio clínico. Por el contrario, se ha demostrado que Coversin conserva la eficacia normal en la reducción de la actividad del complemento en el suero de pacientes con este polimorfismo y muestra eficacia en los estudios de casos (véanse los Ejemplos 2, 3 y 4).

55 [0079] Esto sugiere que la inhibición del complemento como se ve, por ejemplo, con Coversin, da lugar a un beneficio clínico, por ejemplo, puede observarse un beneficio clínico cuando la inhibición del complemento está al nivel que puede lograrse con Coversin.

60 [0080] Segundo otra forma de realización de la invención, el agente puede ser una molécula de ácido nucleico que codifica la proteína Coversin o un equivalente funcional de la misma, como se define en las reivindicaciones. Por ejemplo, la terapia génica se puede emplear para efectuar la producción endógena de la proteína Coversin por las células relevantes en el sujeto, ya sea *in vivo* o *ex vivo*. Otro enfoque es la administración de "ADN desnudo" en el que el gen terapéutico se inyecta directamente en el torrente sanguíneo o en el tejido muscular.

65 [0081] Preferiblemente, dicha molécula de ácido nucleico comprende o consta de las bases 55 a 507 de la secuencia de nucleótidos de la Figura 2 (SEQ ID NO: 1). Esta secuencia de nucleótidos codifica la proteína Coversin de la Figura 2 sin la secuencia señal. Las primeras 54 bases de la secuencia de nucleótidos de la Figura 2 codifican la secuencia señal que

no se requiere para la actividad inhibidora del complemento o la actividad de unión de LTB4. Alternativamente, la molécula de ácido nucleico puede comprender o consistir en las bases 1 a 507 de la secuencia de ácido nucleico de la Figura 2, que codifica la proteína con la secuencia señal.

5 [0082] Se ha demostrado que la proteína Coversin se une a C5 y evita su escisión por la convertasa de C5 en suero de rata, ratón y ser humano con una Cl_{50} de aproximadamente 0,02 mg/ml. Preferiblemente, los equivalentes funcionales de la proteína Coversin que conservan la capacidad de unirse a C5 con una Cl_{50} de menos de 0,2 mg/ml, preferiblemente menos de 0,1 mg/ml, preferiblemente menos de 0,05 mg/ml, preferiblemente menos de 0,02 mg/ml, preferiblemente menos de 1 mg/ml, preferiblemente menos de 100 ng/ml, preferiblemente menos de 100 ng/ml, aún más preferiblemente 10 menos de 1 ng/ml.

[0083] También se ha demostrado que la proteína Coversin se une a LTB4. Los equivalentes funcionales de la proteína Coversin también pueden conservar la capacidad de unirse a LTB4 con una afinidad similar a la de la proteína Coversin.

15 [0084] En un sentido, el término "equivalente funcional" se usa aquí para describir homólogos y fragmentos de la proteína Coversin que: a) conservan su capacidad para unirse a C5, ya sea C5 de tipo salvaje o C5 de un sujeto con un polimorfismo C5, y para evitar la escisión del complemento C5 por convertasa C5 en complemento C5a y complemento C5b-9; y/o b) conservar su capacidad para unirse a LTB4.

20 [0085] El término "equivalente funcional" también se refiere a moléculas que son estructuralmente similares a la proteína Coversin o que contienen una estructura terciaria similar o idéntica, particularmente en el entorno del sitio activo o sitios activos de la proteína Coversin que se une a C5, ya sea C5 de tipo salvaje o C5 de un sujeto con un polimorfismo C5 y/o LTB4, como moléculas sintéticas. Los aminoácidos en Coversin que probablemente se requieran para la unión de LTB4 25 se describen en [26].

25 [0086] El término "homólogo" pretende incluir referencias a parálogos y ortólogos de la secuencia Coversin que se identifica explícitamente en la Figura 2, incluida, por ejemplo, la secuencia de la proteína Coversin de otras especies de garrapatas, incluidas *Rhipicephalus appendiculatus*, *R. sanguineus*, *R. bursa*, *A. americanum*, *A. cajennense*, *A. hebraicum*, *Boophilus microplus*, *B. annulatus*, *B. decoloratus*, *Dermacentor reticulatus*, *D. andersoni*, *D. marginatus*, *D. variabilis*, *Haemaphysalis inermis*, *Ha. leachii*, *Ha. punctata*, *Hyalomma anatomicum anatomicum*, *Hy. dromedarii*, *Hy. marginatum marginatum*, *Ixodes ricinus*, *I. persulcatus*, *I. scapularis*, *I. hexagonus*, *Argas persicus*, *A. reflexus*, *Ornithodoros erraticus*, *O. moubata moubata*, *O. m. porcinus* y *O. savignyi*. El término homólogo también pretende incluir la secuencia equivalente de la proteína Coversin de especies de mosquitos, incluidas las de los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*, particularmente *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* y *Anopheles gambiae*; especies de pulgas, tales como *Ctenocephalides felis* (la pulga del gato); tábanos; flebótomas; moscas negras; moscas tsetse; piojos; ácaros; sanguijuelas; y platelmintos. Se cree que la proteína Coversin nativa existe en *O. moubata* en otras tres formas de alrededor de 18 kDa y el término "homólogo" pretende incluir estas formas alternativas de Coversin.

40 [0087] Los métodos para la identificación de homólogos de la secuencia de Coversin dada en la Figura 2 serán claros para los expertos en la técnica. Por ejemplo, los homólogos pueden identificarse mediante la búsqueda de homología en bases de datos de secuencias, tanto públicas como privadas. Convenientemente, se pueden usar bases de datos disponibles públicamente, aunque las bases de datos privadas o comercialmente disponibles serán igualmente útiles, particularmente si contienen datos que no están representados en las bases de datos públicas. Las bases de datos primarias son los sitios de depósito de datos de secuencias de aminoácidos o nucleótidos primarios y pueden estar 45 disponibles pública o comercialmente. Ejemplos de bases de datos primarias disponibles públicamente incluyen la base de datos GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), la base de datos EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/>), la base de datos DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>), la base de datos de proteínas SWISS-PROT (<http://expasy.hcuge.ch/>), PIR (<http://pir.georgetown.edu/>), TrEMBL (<http://www.ebi.ac.uk/>), las bases de datos TIGR (ver <http://www.tigr.org/tdb/index.html>), la base de datos NRL-3D (<http://www.nbrfa.georgetown.edu>), la base de datos de 50 proteínas (<http://www.rcsb.org/pdb>), la base de datos NRDB (<ftp://ncbi.nlm.nih.gov/pub/nrdb/README>), la base de datos OWL (<http://www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/dbbrowser/OWL/>) y las bases de datos secundarias PROSITE (<http://expasy.hcuge.ch/sprot/prosite.html>), PRINTS (<http://iupab.leeds.ac.uk/bmb5dp/prints.html>), Profiles (http://ulrec3.unil.ch/software/PFSCAN_form.html), Pfam (<http://www.sanger.ac.uk/software/pfam>), Identify (<http://dna.stanford.edu/identify/>) y las bases de datos Blocks (<http://www.blocks.fhcrc.org>). Ejemplos de bases de datos 55 disponibles comercialmente o bases de datos privadas incluyen PathoGenome (Genome Therapeutics Inc.) y PathoSeq (anteriormente de Incyte Pharmaceuticals Inc.).

60 [0088] Normalmente, más del 30 % de identidad entre dos polipéptidos (preferiblemente, sobre una región específica como el sitio activo) se considera una indicación de equivalencia funcional y, por lo tanto, una indicación de que dos proteínas son homólogas. Preferiblemente, las proteínas que son homólogas tienen un grado de identidad de secuencia 65 con la secuencia de la proteína Coversin identificada en la Figura 2 (SEQ ID NO: 2) superior al 60%. Los homólogos más preferidos tienen grados de identidad superiores al 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 %, respectivamente, con la secuencia de la proteína Coversin proporcionada en la Figura 2 (SEQ ID NO:2). El porcentaje de identidad, como se menciona en este documento, se determina usando BLAST versión 2.1.3 usando los parámetros predeterminados especificados por el NCBI (el Centro Nacional de Información Biotecnológica; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) [Blosum 62 matriz; penalización por apertura de brecha=11 y penalización por extensión de brecha=1].

5 [0089] Los equivalentes funcionales de la secuencia de la proteína Coversin proporcionada en la Figura 2 incluyen mutantes que contienen sustituciones, inserciones o delecciones de aminoácidos de la secuencia de tipo salvaje, por ejemplo, de 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 o más aminoácidos ácidos, siempre que dichos mutantes conserven la capacidad de unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5. Por tanto, los mutantes incluyen proteínas que contienen sustituciones conservativas de aminoácidos que no afectan a la función o actividad de la proteína de manera adversa. Este término también pretende incluir variantes biológicas naturales (por ejemplo, variantes alélicas o variaciones geográficas dentro de las especies de las que se derivan las proteínas Coversin). Los mutantes con capacidad mejorada para unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5 y/o LTB4 también pueden diseñarse mediante la mutación sistemática o dirigida de residuos específicos en la secuencia de la proteína.

10 15 [0090] Los fragmentos de la proteína Coversin y de los homólogos de la proteína Coversin también están incluidos en el término "equivalentes funcionales" siempre que dichos fragmentos conserven la capacidad de unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5 y/o LTB4. Los fragmentos pueden incluir, por ejemplo, polipéptidos derivados de la secuencia de la proteína Coversin que tienen menos de 150 aminoácidos, menos de 125 aminoácidos, menos de 100 aminoácidos, menos de 75 aminoácidos, menos de 50 aminoácidos o incluso 25 aminoácidos. 20 25 siempre que estos fragmentos conserven la capacidad de unirse para complementar C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5 y/o LTB4. Los fragmentos pueden incluir, por ejemplo, polipéptidos derivados de la secuencia de la proteína Coversin que tienen al menos 150 aminoácidos, al menos 125 aminoácidos, al menos 100 aminoácidos, al menos 75 aminoácidos, al menos 50 aminoácidos o al menos 25 aminoácidos, siempre que estos fragmentos conserven la capacidad de unirse para complementar C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5 y/o LTB4.

30 [0091] Cualquier equivalente funcional o fragmento del mismo preferiblemente retiene el patrón de residuos de cisteína que se encuentra en Coversin. Por ejemplo, dicho equivalente funcional comprende seis residuos de cisteína que están separados entre sí a una distancia de 32 aminoácidos, 62 aminoácidos, 28 aminoácidos, 1 aminoácido y 21 aminoácidos según la disposición del extremo amino al extremo carboxilo de la secuencia según los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos de la Figura 2 (SEQ ID NO:2). Los ejemplos de fragmentos de la proteína Coversin se describen en SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14. El ADN que codifica los fragmentos correspondientes se describe en SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13.

35 40 [0092] Incluidos como tales fragmentos no son solo fragmentos de la proteína Coversin *O. moubata* que se identifica explícitamente aquí en la Figura 2, pero también fragmentos de homólogos de esta proteína, como se describe anteriormente. Dichos fragmentos de homólogos normalmente tendrán más del 60 % de identidad con los fragmentos de la secuencia de la proteína Coversin de la Figura 2, aunque los fragmentos de homólogos más preferidos mostrarán grados de identidad superiores al 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99%, respectivamente, con fragmentos de la secuencia de la proteína Coversin en la Figura 2. Los fragmentos mejorados pueden, por supuesto, diseñarse razonablemente mediante la mutación o fragmentación sistemática de la secuencia de tipo salvaje seguida de los ensayos de actividad apropiados. Los fragmentos pueden exhibir una afinidad similar o mayor por C5, ya sea la variante de tipo salvaje o polimórfica de C5 o ambas, y/o LTB4 como Coversin.

45 50 [0093] Un equivalente funcional utilizado según la invención puede ser una proteína de fusión obtenida, por ejemplo, mediante la clonación de un polinucleótido que codifica la proteína Coversin en el marco de las secuencias codificantes de una secuencia de proteína heteróloga. El término "heterólogo", cuando se usa aquí, pretende designar cualquier polipéptido que no sea la proteína Coversin o su equivalente funcional. Ejemplos de secuencias heterólogas, que pueden estar comprendidas en las proteínas de fusión solubles en el extremo N o C, son los siguientes: dominios extracelulares de proteínas unidas a membrana, regiones constantes de inmunoglobulina (región Fc), dominios de multimerización, dominios de proteínas extracelulares, secuencias señal, secuencias de exportación o secuencias que permiten la purificación por cromatografía de afinidad. Muchas de estas secuencias heterólogas están disponibles comercialmente en plásmidos de expresión, ya que estas secuencias se incluyen comúnmente en las proteínas de fusión para proporcionar propiedades adicionales sin afectar significativamente la actividad biológica específica de la proteína fusionada con ellas [27]. Ejemplos de tales propiedades adicionales son una vida media más duradera en los fluidos corporales, la localización extracelular o un procedimiento de purificación más fácil como lo permite una etiqueta como histidina, GST, FLAG, avidina o HA.

55 60 [0094] La proteína Coversin y los equivalentes funcionales de la misma pueden prepararse en forma recombinante mediante expresión en una célula huésped. Dichos métodos de expresión son bien conocidos por los expertos en la técnica y se describen en detalle en [28] y [29]. Las formas recombinantes de la proteína Coversin y los equivalentes funcionales de la misma están preferiblemente sin glicosilar.

[0095] Las proteínas y los fragmentos de la presente invención también se pueden preparar usando técnicas convencionales de química de proteínas. Por ejemplo, los fragmentos de proteínas pueden prepararse mediante síntesis química. Los métodos para la generación de proteínas de fusión son estándar en la técnica y serán conocidos por el lector experto. Por ejemplo, la biología molecular más general, la tecnología del ADN recombinante en microbiología y las técnicas inmunológicas se pueden encontrar en [28] o [30].

Modos de administración

- [0096] La Coversin y sus equivalentes funcionales no requieren de un profesional médico para su administración, y estas moléculas se absorben rápidamente. Muchos anticuerpos recombinantes se absorben muy lentamente y, como resultado, deben infundirse durante períodos prolongados (p. ej., por vía intravenosa). Por lo tanto, la administración de tales moléculas también requiere un profesional médico. Así, además de tener la ventaja de ser más eficaz para inhibir la activación de las vías del complemento en sujetos con polimorfismo C5, Coversin también posee la ventaja de ser más fácil de administrar que otros agentes como anticuerpos como el eculizumab.
- 5 [0097] El sujeto al que se administra el agente de la invención es preferentemente un mamífero, preferentemente un ser humano. El sujeto puede ser un adulto, un niño o un bebé. El sujeto al que se administra el agente también puede padecer una enfermedad o trastorno mediado por el complemento. En particular, se puede saber que el sujeto tiene, o se sospecha que tiene, un polimorfismo C5 del complemento.
- 10 [0098] El agente se administra en una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de agente necesaria para tratar la enfermedad o trastorno mediado por el complemento, como se define en otra parte del presente documento. El término "cantidad profilácticamente eficaz" que se usa en el presente documento se refiere a la cantidad de agente necesaria para prevenir la enfermedad o el trastorno mediado por el complemento como se define en otro lugar del presente documento. Preferiblemente, la dosis del agente es suficiente para unir tanto C5 disponible como sea posible en el sujeto, más preferiblemente, todo el C5 disponible.
- 15 Como alternativa, la dosis del agente puede ser suficiente para unir tanto LTB4 disponible como sea posible en el sujeto, más preferiblemente, todo el LTB4 disponible. En algunos aspectos, la dosis del agente es suficiente para unir la mayor cantidad posible de C5 y LTB4 disponibles, por ejemplo, todos los C5 y LTB4 disponibles. La dosis del agente suministrado es al menos el doble de la dosis molar necesaria para unir todo el C5 y/o LTB4 disponible en el sujeto. La dosis del agente suministrado puede ser 2,5 veces, 3 veces o 4 veces la dosis molar necesaria para unir todo el C5 y/o LTB4 disponible en el sujeto. Preferiblemente, la dosis es de 0,0001 mg/kg (masa de fármaco en comparación con la masa del paciente) a 20 mg/kg, preferiblemente de 0,001 mg/kg a 10 mg/kg, preferiblemente de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg, preferiblemente 0,1 mg/kg a 1 mg/kg; alternativamente de 0,2 mg/kg a 0,8 mg/kg; alternativamente de 0,3 mg/kg a 0,7 mg/kg; alternativamente de 0,4 mg/kg a 0,6 mg/kg; por ejemplo 0,14 mg/kg o 0,57 mg/kg. La cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva puede definirse adicionalmente en términos de la inhibición del complemento terminal, por ejemplo, una cantidad que significa que la actividad del complemento terminal se reduce en al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 %, en comparación con la actividad terminal del complemento en ausencia de tratamiento. La dosis y la frecuencia se pueden ajustar para mantener la actividad del complemento terminal en el nivel deseado, que puede ser, por ejemplo, del 10 % o menos, por ejemplo del 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 % o menos en comparación con la actividad del complemento terminal en ausencia de tratamiento.
- 20 [0099] La frecuencia con la que se necesita administrar la dosis dependerá de la vida media del agente involucrado. Cuando el agente sea la proteína Coversin o un equivalente funcional de la misma, la dosis puede administrarse como una infusión continua, en bolos o diariamente, dos veces al día, o cada dos, tres, cuatro días, cinco, seis, siete, 10, 15 o 20 días o más. Como se indicó en otra parte, una ventaja particular de la proteína Coversin y sus equivalentes funcionales es la relativa facilidad y rapidez con la que se puede administrar, y el hecho de que no se requieren profesionales médicos para la administración.
- 25 [0100] Se pueden administrar dosis únicas o múltiples. Por ejemplo, se pueden administrar al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 dosis. Las dosis únicas son una forma de realización. La dosificación exacta y la frecuencia de las dosis también pueden depender del estado del paciente en el momento de la administración. Los factores que pueden tenerse en cuenta al determinar la dosis incluyen la necesidad de tratamiento o profilaxis, la gravedad del estado de la enfermedad del paciente, el estado de salud general del paciente, la edad, el peso, el sexo, la dieta, el momento y la frecuencia de administración, combinaciones de fármacos, sensibilidades de reacción y la tolerancia o respuesta del paciente a la terapia. La cantidad precisa se puede determinar mediante experimentación de rutina, pero en última instancia puede depender del juicio del médico.
- 30 [0101] El régimen de dosificación también puede adoptar la forma de una "dosis de carga" inicial seguida de una o más "dosis de mantenimiento" subsiguientes. En general, la dosis de carga será mayor que la dosis de mantenimiento. La dosis de carga puede ser 2, 5, 10 o más veces mayor que la dosis de mantenimiento. La dosis de carga se puede administrar como una dosis única o como una o más dosis en un marco de tiempo particular. Por lo general, la dosis de carga será de 1, 2, 3, 4 o 5 dosis administradas en un solo período de 24 horas. La dosis de mantenimiento normalmente será una dosis más baja que se repite a intervalos regulares, como cada 3, 4, 6, 8, 12, 24 o 48 horas. El régimen preciso se puede determinar mediante experimentación de rutina, pero en última instancia puede depender del juicio del médico.
- 35 [0102] La dosis de carga puede ser de 0,0001 mg/kg (masa del fármaco en comparación con la masa del paciente) a 20 mg/kg, y la dosis de mantenimiento puede estar entre 0,0001 mg/kg y 20 mg/kg; alternativamente, la dosis de carga es de 0,001 mg/kg a 10 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,001 mg/kg a 10 mg/kg, alternativamente la dosis de carga es de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg; alternativamente, la dosis de carga es de 0,1 mg/kg a 1 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,1 mg/kg a 1 mg/kg; alternativamente, la dosis de carga es de 0,1 mg/kg a 1 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,05 mg/kg a 0,5 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga es

de 0,2 mg/kg a 0,8 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,1 mg/kg a 0,4 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga es de 0,3 mg/kg a 0,7 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,1 mg/kg a 0,3 mg/kg; alternativamente, la dosis de carga es de 0,4 mg/kg a 0,6 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,1 mg/kg a 0,2 mg/kg, por ejemplo, donde la dosis de carga es de 0,57 mg/kg y la dosis de mantenimiento es de 0,14 mg/kg.

5

[0103] La dosis de carga puede ser de 0,0001 mg/kg (masa del fármaco en comparación con la masa del paciente) a 20 mg/kg, y la dosis de mantenimiento puede estar entre 0,0001 mg/kg y 20 mg/kg; como alternativa, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,001 mg/kg a 10 mg/kg, como alternativa, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg; como alternativa, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,1 mg/kg a 1 mg/kg; como alternativa, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,1 mg/kg a 0,8 mg/kg; como alternativa, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,1 mg/kg a 0,6 mg/kg; como alternativa, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,1 mg/kg a 0,4 mg/kg; alternativamente, la dosis de mantenimiento puede ser de 0,1 mg/kg a 0,2 mg/kg.

10

[0104] La dosis de carga puede ser de 0,0001 mg/kg (masa del fármaco en comparación con la masa del paciente) a 20 mg/kg, y la dosis de mantenimiento puede estar entre 0,0001 mg/kg y 20 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga puede ser de 0,001 mg/kg a 10 mg/kg, como alternativa, la dosis de carga puede ser de 0,01 mg/kg a 2 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga puede ser de 0,1 mg/kg a 1 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga puede ser de 0,2 mg/kg a 0,8 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga puede ser de 0,3 mg/kg a 0,6 mg/kg; como alternativa, la dosis de carga puede ser de 0,4 mg/kg a 0,6 mg/kg. El agente generalmente se administrará junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El término "vehículo farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, incluye genes, polipéptidos, anticuerpos, liposomas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos y partículas virales inactivas o, de hecho, cualquier otro agente, siempre que el vehículo no induzca por sí mismo efectos de toxicidad o provoque la producción de anticuerpos que son perjudiciales para el individuo que recibe la composición farmacéutica. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden contener adicionalmente líquidos como agua, solución salina, glicerol, etanol o sustancias auxiliares como agentes humectantes o emulsionantes, sustancias reguladoras del pH y similares. El vehículo farmacéutico empleado variará por tanto dependiendo de la vía de administración. Los vehículos pueden permitir que las composiciones farmacéuticas se formulen en tabletas, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lodos, suspensiones para ayudar a la ingesta por parte del paciente. En [31] se encuentra disponible un análisis exhaustivo de los vehículos farmacéuticamente aceptables.

20

[0105] El agente puede administrarse por cualquier vía de administración conocida. El agente puede administrarse localmente o sistémicamente. El agente puede administrarse por vía parenteral (por ejemplo, mediante inyección, ya sea por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o intramuscular o administrado en el espacio intersticial de un tejido). Las composiciones también se pueden administrar en una lesión. Otros modos de administración incluyen administración oral y pulmonar, supositorios y aplicaciones transdérmicas o transcutáneas, agujas e hipopulverizaciones.

25

[0106] Preferiblemente, el agente se administra mediante inyección subcutánea. En algunas formas de realización, esto se realiza a través de una inyección subcutánea una vez al día, por ejemplo, a una dosis de carga inicial de entre 0,0001 mg/kg (masa del fármaco en comparación con la masa del paciente) a 20 mg/kg, seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de entre 0,0001 mg/kg a 20 mg/kg, u otras dosis descritas en otra parte del presente documento. Alternativamente, el agente puede administrarse mediante inyección subcutánea cada dos días.

30

[0107] En una forma de realización preferida, el agente se administra a través de una inyección subcutánea una vez al día a una dosis de carga inicial de 0,4 mg/kg-0,6 mg/kg (por ejemplo, 0,57 mg/kg) seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,1 mg/kg-0,2 mg/kg (por ejemplo, 0,14 mg/kg).

35

[0108] El agente puede administrarse solo o como parte de un régimen de tratamiento que también implica la administración de otros fármacos utilizados actualmente en el tratamiento de pacientes con una enfermedad o trastorno mediado por el complemento.

40

[0109] El agente se puede administrar simultáneamente, secuencialmente o por separado con los otros fármacos. Por ejemplo, el agente puede administrarse antes o después de la administración de los otros fármacos. En particular, el agente puede administrarse después de que un fármaco anterior haya fallado en amenazar la enfermedad o el trastorno mediado por el complemento. En una forma de realización específica, el agente puede administrarse después de un anticuerpo monoclonal anti C5.

45

[0110] En formas de realización particulares:

50

- (i) la enfermedad mediada por complemento es hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN);
- (ii) el polimorfismo C5 del complemento está en el residuo Arg885;
- (iii) el agente para el tratamiento es la proteína Coversin o fragmentos u homólogos de la proteína Coversin siempre que dichos fragmentos conserven la capacidad de unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5;

55

(iv) el agente se administra por vía subcutánea.

5 [0111] En ciertas formas de realización, la inyección subcutánea es una vez al día a una dosis de carga inicial de 0,4 mg/kg-0,6 mg/kg (masa de fármaco en comparación con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,1 mg/kg-0,2 mg/kg; más preferiblemente a una dosis de carga inicial de 0,57 mg/kg (masa del fármaco comparada con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,14 mg/kg.

10 [0112] En formas de realización particulares:

(i) la enfermedad mediada por el complemento es la enfermedad de injerto contra huésped (EICH);

(ii) el polimorfismo C5 del complemento está en el residuo Arg885;

15 (iii) el agente para el tratamiento es la proteína Coversin o fragmentos u homólogos de la proteína Coversin siempre que dichos fragmentos conserven la capacidad de unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5;

20 (iv) el agente se administra por vía subcutánea.

[0113] En ciertas formas de realización, la inyección subcutánea es una vez al día a una dosis de carga inicial de 0,4 mg/kg-0,6 mg/kg (masa del fármaco en comparación con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,1 mg/kg-0,2 mg/kg; más preferiblemente con una dosis de carga inicial de 0,57 mg/kg (masa de fármaco en comparación con la masa del paciente), seguido de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,14 mg/kg.

25 [0114] En formas de realización particulares:

(i) la enfermedad mediada por el complemento es púrpura trombocitopénica trombótica (PTT);

30 (ii) el polimorfismo C5 del complemento está en el residuo Arg885;

(iii) el agente para el tratamiento es proteína Coversin o fragmentos u homólogos de la proteína Coversin siempre que dichos fragmentos conserven la capacidad de unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5;

35 (iv) el agente se administra por vía subcutánea.

[0115] En ciertas formas de realización, la inyección subcutánea es una vez al día a una dosis de carga inicial de 0,4 mg/kg-0,6 mg/kg (masa de fármaco en comparación con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,1 mg/kg-0,2 mg/kg; más preferiblemente a una dosis de carga inicial de 0,57 mg/kg (masa del fármaco comparada con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,14 mg/kg.

[0116] En formas de realización particulares:

45 (i) la enfermedad mediada por el complemento es el síndrome urémico hemolítico atípico (SUHa);

(ii) el polimorfismo C5 del complemento está en el residuo Arg885;

50 (iii) el agente para el tratamiento es la proteína Coversin o fragmentos u homólogos de la proteína Coversin siempre que dichos fragmentos conserven la capacidad de unirse a C5 de tipo salvaje y/o C5 de sujetos con un polimorfismo C5;

(iv) el agente se administra por vía subcutánea.

55 [0117] En ciertas formas de realización, la inyección subcutánea es una vez al día a una dosis de carga inicial de 0,4 mg/kg-0,6 mg/kg (masa de fármaco en comparación con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,1 mg/kg-0,2 mg/kg; más preferiblemente a una dosis de carga inicial de 0,57 mg/kg (masa del fármaco comparada con la masa del paciente), seguida de dosis de mantenimiento una vez al día de 0,14 mg/kg.

60 [0118] A continuación se describirán con más detalle a modo de ejemplo diversos aspectos y formas de realización de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS:

65 [0119]

Figura 1: Diagrama esquemático de las vías clásica y alternativa de activación del complemento. Componentes enzimáticos, gris oscuro. Anafilatoxinas encerradas en destellos estelares.

5 **Figura 2:** Secuencia primaria de Coversin. Secuencia de señal subrayada. Residuos de cisteína en negrita. Número de nucleótidos y aminoácidos indicado a la derecha.

Figura 3: Recuentos máximo y mínimo de plaquetas del paciente tratado en el Ejemplo 2.

10 **Figura 4:** Análisis *in vitro* del suero del paciente en el Ejemplo 4 mediante el ensayo CH50 después de añadir dosis variables de Coversin y eculizumab (expresadas como porcentaje del control). Muestra el porcentaje de actividad del complemento en el suero del paciente del Ejemplo 4 en comparación con el suero de control en presencia de Eculizumab o Coversin. CLAVE: Ecu, enriquecido con Eculizumab; Cov, enriquecido con Coversin. NC3, suero control normal; R2, suero del paciente.

15 **Figura 5:** Prueba *in vitro* del suero del paciente del Ejemplo 4 mediante el ensayo CH50 después de añadir dosis variables de Coversin y eculizumab. Muestra la actividad del complemento en unidades CH50 Eq/ml en el suero del paciente del Ejemplo 4 en comparación con el suero de control en presencia de Eculizumab o Coversin. CLAVE: Ecu, enriquecido con Eculizumab; Cov, enriquecido con Coversin. NC3, suero control normal; R2, suero del paciente.

20 **Figura 6:** Prueba *in vitro* del suero del paciente del Ejemplo 3 mediante el ensayo CH50 después de añadir dosis variables de Coversin y eculizumab (expresado como porcentaje del control) muestra el porcentaje de actividad del complemento del paciente del Ejemplo 3 en comparación con el suero de control en presencia de Eculizumab o Coversin. CLAVE: Ecu, enriquecido con Eculizumab; Cov, enriquecido con Coversin. NC, suero control normal; BJ1, réplica 1 usando suero del paciente; BJ2 réplica 2 usando suero del paciente.

25 **Figura 7:** Prueba *in vitro* del suero del paciente del Ejemplo 3 mediante el ensayo CH50 después de añadir dosis variables de Coversin y eculizumab. Muestra la actividad del complemento en unidades CH50 Eq/ml del paciente del Ejemplo 3 en presencia de Eculizumab o Coversin. CLAVE: Ecu, enriquecido con Eculizumab; Cov, enriquecido con Coversin. BJ1 y BJ2 denominados Pat 1a y Pat 1b.

30 **Figura 8:** Modelo molecular que muestra la posición del epítopo de eculizumab y el probable sitio de unión de Coversin

35 EJEMPLOS

Ejemplo 1: inhibición *in vitro* de la actividad de C5

40 [0120] Se midió la actividad del complemento terminal en el suero de un paciente caucásico de sexo masculino de 4 años que se encontró tener un polimorfismo genético raro en el gen que codifica el complemento C5 (c.2654G>A (p.Arg885His)) mediante el ensayo de hemólisis Quidel CH₅₀.

45 [0121] Se usó el inmunoensayo enzimático Quidel MicroVue CH50 Eq (cat #A018) para la medición *in vitro* de la actividad total de la ruta clásica en suero humano. http://www.quidel.com/sites/quidel.com/files/product/documents/a018_microvue_ch50_eq_english_1.pdf

[0122] El kit proporciona una medida directa de la formación del complejo del complemento terminal (CCT) en condiciones estándar. La medición de CH50 con el kit consta de 3 pasos:

- 50 1. Activación de la vía clásica del complemento en suero sin diluir que da como resultado la formación de CCT.
2. Dilución del suero y adición a pocillos de microensayo recubiertos con un anticuerpo que captura CCT.
3. Cuantificación de CCT capturado con un anticuerpo conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) anti-CCT.

55 [0123] La intensidad del color al agregar el sustrato es proporcional a la concentración de CCT presente en cada reacción. Utilizando la curva estándar del kit (determinada durante cada ensayo), los resultados del ensayo se expresan en unidades equivalentes de CH50 por mililitro (CH50 U Eq/ml).

60 [0124] El rango lineal para el kit es 30-310 U Eq/ml.

[0125] Según los fabricantes, el límite para la normalidad determinado a partir de 234 muestras humanas individuales es de 70 CH50 U Eq/ml.

65 [0126] Después de los tratamientos con eculizumab, el paciente retuvo un 70 % de actividad del complemento en

comparación con la actividad del complemento en el suero de un control normal con C5 de tipo salvaje.

[0127] La adición de 30, 60 y 120 µg/ml de Coversin al suero tomado después de la administración de eculizumab dio como resultado niveles indetectables de actividad del complemento.

5

[0128] Por lo tanto, en un no respondedor a eculizumab, Coversin retuvo la eficacia normal.

Ejemplo 2:estudio de caso

10 **[0129]** Un paciente caucásico de 4 años, masculino, que pesaba 13,6 kg, recibió un diagnóstico primario de enfermedad granulomatosa crónica y se sometió a un trasplante de células madre hematopoyéticas en octubre de 2013. Posteriormente, el paciente desarrolló una hemorragia gastrointestinal importante debido a trombocitopenia y ahora recibe transfusiones diarias de plaquetas. El diagnóstico es enfermedad de injerto contra huésped (EICH) o púrpura trombocitopénica trombótica (PTT).

15

[0130] El tratamiento con eculizumab, infliximab y rituximab no ha tenido éxito.

20 **[0131]** Se ha encontrado que el paciente tiene un polimorfismo genético raro en el gen que codifica el complemento C5 (c.2654G>A (p.Arg885His)), descrito anteriormente solo en personas de origen japonés o chino Han.

25

[0132] Los ensayos *in vitro* de la actividad del complemento en suero, como se describe anteriormente, mostraron que el resultado de la actividad del complemento fue -70% de actividad hemolítica en comparación con el control normal después del tratamiento con eculizumab. Por el contrario, añadir al suero Coversin a 30, 60 y 120 µg/ml redujo la actividad hemolítica a niveles indetectables.

25

[0133] Tras la identificación de la susceptibilidad a la inhibición de las vías del complemento por parte de Coversin, se inició el siguiente tratamiento:

Coversin, mediante inyección subcutánea según el siguiente programa:

30

Dosis de carga inicial: 0,57 mg/kg = 7,8 mg (0,7 ml)

Dosis de mantenimiento: 0,14 mg/kg = 1,9 mg (0,2 ml) cada 24 horas a partir de entonces.

35

[0134] El suero se tomará diariamente para la actividad del complemento y la dosis y/o la frecuencia se ajustarán para mantener la actividad del complemento terminal al 10 % o menos en comparación con suero de control normal.

[0135] También se controlarán los siguientes resultados:

40

a) Cambio en los recuentos mínimos de plaquetas

b) Cambio en la LDH sérica

c) Actividad terminal del complemento medida mediante el ensayo de hemólisis Quidel CH50

45

Ejemplo 3: resultados del estudio de caso

50

[0136] El paciente del Ejemplo 2 fue tratado con Coversin durante unas 6 semanas. El primer día de tratamiento recibió una dosis calculada para ablaconar el C5 circulante (0,57 mg/kg) y posteriormente el 50% de esta dosis hasta el final de la segunda semana. A partir de entonces, el paciente recibió la misma dosis cada dos días durante dos semanas y luego la mitad de esa dosis durante otras dos semanas. Cabe señalar que la dosis a partir de la tercera semana probablemente no haya sido adecuada para controlar por completo la actividad terminal del complemento.

55

[0137] Clínicamente, el paciente se estabilizó durante el período en que recibió la dosis completa. La principal consecuencia de su enfermedad, que se suponía que era una púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), era un recuento de plaquetas gravemente reducido, por lo que había estado recibiendo dos unidades de plaquetas al día durante varios meses. Después de 7 días de tratamiento con Coversin, los recuentos mínimos de plaquetas (aproximadamente 12 horas después de la transfusión de plaquetas) comenzaron a aumentar hasta llegar a 98.000 el día 14, el valor más alto que se había registrado durante su enfermedad.

60

[0138] Su requerimiento de transfusión de plaquetas se redujo a una unidad por día en ese punto (ver Figura 3).

65

[0139] La dosis se redujo al comienzo de la tercera semana y el recuento mínimo de plaquetas cayó por debajo de 50.000 y no se recuperará por el resto de su enfermedad. El personal médico consideró que el aumento en el recuento mínimo de plaquetas y la reducción de la necesidad de transfusiones de plaquetas eran una clara indicación de una respuesta positiva a Coversin. El deterioro tras la reducción de la dosis parece confirmarlo.

[0140] La dosis final de Coversin se administró después de 6 semanas y el paciente se deterioró rápidamente y murió por perforación del yeyuno después de otras 2 semanas.

Ejemplo 4 - estudio de caso

[0141] Un paciente masculino de cuarenta y tantos años fue diagnosticado con HPN y ha sido tratado con eculizumab durante aproximadamente un año con una respuesta clínica inadecuada. El análisis genético ha confirmado un polimorfismo C5 heterocigoto en la posición c.2654 pero no se sabe a qué cambio de aminoácido da lugar aunque se sabe que no es pArg885His.

Ejemplo 5 - Actividad del complemento terminal en suero de pacientes

Reactivos y muestras

[0142] Preparación de la muestra: el suero se preparó recolectando sangre en tubos de vidrio simple o SST Vacutainer (o equivalente) y permitiéndole coagular durante 1 hora, antes de la centrifugación a 1500 g durante 10 minutos. El suero se separó inmediatamente (evitando la contaminación con células sanguíneas) y se almacenó en criotubos con tapón de rosca (alícuotas de aproximadamente 0,5 ml) a -70°C.

[0143] Coversin: solución congelada de 10,9 mg/ml a -70 °C. Diluya 10uL en 90uL de control normal o suero del paciente para obtener una concentración final de 1,09 mg/ml. Diluir 10uL en 90uL de suero autólogo para dar una concentración final de 109ug/ml. Diluya dos veces en suero autólogo para lograr un rango de concentración final de: 0,4 - 54,5 ug/ml.

[0144] Eculizumab: solución congelada de 10 mg/ml. Diluir 10uL en 90uL de control normal o suero del paciente para obtener una concentración final de 1mg/ml. Diluir 10uL en 90uL de suero autólogo para dar una concentración final de 100ug/ml. Diluya dos veces en suero autólogo para lograr un rango de concentración final de: 0,4 - 50 ug/ml.

[0145] Tampón: solución salina tamponada con fosfato (tampón de fosfato 0,01 M, cloruro de potasio 0,0027 M, cloruro de sodio 0,137 M, pH 7,4).

Métodos

[0146] Coversin, Eculizumab o tampón (control) se añaden al suero de acuerdo con el procedimiento anterior para lograr un rango de concentraciones finales. A continuación, se analiza la actividad equivalente de CH50 utilizando el kit Quidel CH50, utilizando pocillos duplicados.

Resultados

[0147] Calcular los valores de CH50 a partir de la curva de calibración proporcionada con el kit. Representar gráficamente los resultados como valores de CH50 sin procesar frente a la concentración de inhibidor de C5.

[0148] Calcular el resultado de CH50 en cada concentración de inhibidor de C5 como un porcentaje de la concentración de CH50 del control de tampón relevante. Representar gráficamente los resultados del porcentaje de CH50 frente a la concentración de inhibidor.

[0149] Repetir el experimento en días separados para obtener 3 mediciones en cada paciente y en un solo control normal. Esto proporciona una estimación de la variabilidad entre experimentos.

[0150] Repetir el experimento en días separados en experimentos individuales en 6 controles normales diferentes. Esto proporciona una estimación de la capacidad de respuesta entre sujetos (y evita el riesgo de utilizar un solo sujeto que puede tener una mutación o polimorfismo C5 desconocido).

[0151] Se añadió la dosis más alta de cada fármaco al suero completo y luego se realizaron diluciones en serie de dos veces en el suero completo. Se usó una réplica para cada dosis de fármaco.

[0152] La dosis más alta de Eculizumab fue de 50 µg/ml, luego 25, 12,5, 6,3, 3,2, 1,6, 0,8, 0,4 y 0 µg/ml. La dosis más alta de Coversin fue de 545 µg/ml. A continuación, 27,3, 13,1, 6,6, 3,3, 1,7, 0,9 y 0 µg /ml.

[0153] Despues de la dilución en serie, el suero se activó y analizó de acuerdo con las instrucciones del kit Quidel CH50.

[0154] Se calcularon CH50 U Eq/ml en comparación con los estándares del kit y se representaron frente a la concentración de fármaco para cada una de las tres muestras de suero y dos tratamientos con fármaco. También se representaron gráficamente como un porcentaje del valor de CH50 del control relevante solo de tampón.

[0155] Se analizó el suero humano normal y el suero de los pacientes en los estudios de casos para determinar la actividad del complemento terminal en presencia de Eculizumab y Coversin como se describió anteriormente.

5 [0156] Como se muestra en las Figuras 6 y 7, en ausencia de cualquier fármaco, los valores de referencia de CH50 del suero humano normal (promedio 78,1 CH50 U Eq/ml) y las dos muestras de suero del paciente descrito en el estudio de caso de los ejemplos 2 y 3 (promedio 82,4 y 60,6 CH50 U Eq/ml) estaban dentro de (control normal y BJ 2) o ligeramente por debajo (BJ 1) del rango humano normal de >70 CH50 U Eq/ml.

10 [0157] La Coversin inhibió tanto el suero humano normal como el suero del paciente con el polimorfismo p.Arg885His igualmente bien. Se observó menos del 5 % de la CH50 inicial (U Eq/ml) en concentraciones de Coversin de aproximadamente 15 ug/ml.

15 [0158] Eculizumab inhibió el suero humano normal a la dosis esperada, observándose menos del 5 % de la CH50 inicial (U Eq/ml) a concentraciones de aproximadamente 45 ug/ml. A dosis superiores a 25 ug/ml, eculizumab inhibía la actividad del complemento medida con el kit Quidel CH50 de manera similar en suero humano normal y suero del paciente con el polimorfismo p.Arg885His. Sin embargo, no inhibió completamente el suero del paciente, quedando aproximadamente el 20 % de la CH50 inicial con la dosis más alta de eculizumab probada (60 ug/ml).

20 [0159] El suero del paciente descrito en el Ejemplo 4 también se analizó en paralelo con el suero humano normal. Como se muestra en las Figuras 4 y 5, en ausencia de cualquier fármaco, los valores de referencia de CH50 del suero humano normal y el suero de las muestras de suero del paciente estaban dentro del rango humano normal de >70 CH50 U Eq/ml.

25 [0160] La Coversin inhibía igualmente bien tanto el suero humano normal como el suero del paciente con una sustitución de aminoácido en Arg885. Se observó menos del 5 % de la CH50 inicial (U Eq/ml) en concentraciones de Coversin de aproximadamente 15 ug/ml.

30 [0161] Eculizumab inhibió el suero humano normal a la dosis esperada, alcanzándose menos del 5 % de la CH50 inicial (U Eq/ml). Similar al suero del paciente del Ejemplo 2, a dosis superiores a 25 ug/ml, eculizumab inhibió la actividad del complemento de manera similar en el suero humano normal y en el suero del paciente del Ejemplo 4, pero no inhibió completamente el suero del paciente del Ejemplo 4, con aproximadamente un 10 % de CH50 inicial restante con la dosis más alta de eculizumab probada (50 ug/ml).

35 [0162] Eculizumab no inhibe completamente la actividad del complemento en el suero de ambos pacientes (Ejemplo 2 y Ejemplo 4) que no recibieron ningún beneficio del tratamiento terapéutico con eculizumab. Esto respalda la hipótesis de que la inhibición del complemento en el tratamiento de la HPN debe ser mayor que esto para ver el beneficio terapéutico.

40 [0163] Utilizando la expresión recombinante, *Nishimura et al.* (2014) demostraron que el polimorfismo p.Arg885His de C5 observado en el paciente del Ejemplo 2 anula por completo la unión de eculizumab a C5. La inhibición parcial del suero del complemento del paciente del Ejemplo 2 por eculizumab que se muestra en el estudio actual (Figuras 6 y 7) es comprensible ya que el paciente del Ejemplo 2 y todos los demás individuos con el polimorfismo identificado hasta la fecha son heterocigotos con una copia normal de C5 y una copia de p.Arg885His C5. Si ambas copias se expresan completamente, eculizumab inhibirá completamente el 50 % de la proteína C5 presente en estos individuos. El hecho de que solo se observara un 20 % de actividad de CH50 residual puede reflejar el hecho de que el paciente del Ejemplo 2 estaba recibiendo productos de sangre fresca todos los días, lo que probablemente aumentó la proporción de C5 normal a p.Arg885His C5, reduciendo así la cantidad relativa de P. Arg885His C5 no inhibido por eculizumab.

45 [0164] Eculizumab parece inhibir el suero del paciente del Ejemplo 4 en mayor medida que el suero del paciente del Ejemplo 2, aunque queda algo de actividad del complemento residual incluso con la dosis más alta de eculizumab. Una posible explicación es que el cambio de aminoácido en Arg885 es conservador y tiene un efecto menos profundo sobre la unión de eculizumab que p.Arg885His.

50 [0165] Por el contrario, Coversin es un inhibidor igualmente eficaz del suero humano normal y el suero de los dos pacientes que no están completamente inhibidos por eculizumab. La inhibición completa de Coversin es comprensible, ya que probablemente se une a un sitio diferente en C5 que eculizumab. Además, se ha demostrado que Coversin es un inhibidor igualmente eficaz de C5 en una amplia gama de especies de mamíferos, incluidos el hombre, el mono cynomologus, el cerdo, la rata, el ratón, el conejo y el conejillo de indias. Esto indica que la unión de Coversin a C5 es mucho más tolerante a las diferencias en la secuencia de aminoácidos de C5 que eculizumab, que solo puede inhibir C5 humano. Coversin debe considerarse para el tratamiento de pacientes que se beneficiarían de la inhibición de C5 pero que obtienen poco o ningún tratamiento terapéutico con la administración de eculizumab debido a polimorfismos en C5 que previenen o reducen la afinidad de la interacción de unión entre eculizumab y C5.

60 REFERENCIAS:

[0166]

- [1] Pfarr N, et al. J Immunol. 174(7):4172-7. (2005) Erratum in: J Immunol.;182(8):5152
- [2] Delgado-Cerviño E, Fontán G, Lopez-Trascasa M. Mol Immunol. 42(1):105-11. (2005)
- [3] Halangk J, et al., J Hepatol. 49(3):339-45 (2008)

- [4] Nishimura, J et al., New Engl J. Med., 30;7: 632-639 (2014)
- [5] Wang X, Fleischer DT, Whitehead WT, Havily DL, Rosenfeld SI, Leddy JP, Snyderman R, Wetsel RA. J Immunol. 154(10):5464-71. (1995)
- 5 [6] Jakowski et al., Clin Diagn Lab Immunol. 6(1): 137-139 (1999)
- [7] Freslund et al., Nature Immunology 9, 753 - 760 (2008)
- [8] Zuber et al. Nature Reviews Nephrology 8, 643-657
- [9] Hobart, M. J., et al., Annals of Human Genetics 45.1 (1981): 1-4.
- [10] Jakowski et al., Clin Diagn Lab Immunol. 6(1): 137-139 (1999)
- 10 [11] Sahu et al., Immunopharmacology, 49:133-148 (2000).
- [12] Ricklin D y Lambris J, Nature Biotechnology, 25: 1265-1275 (2007)
- [13] WO 2007/028968
- [14] WO 2008/029169
- [15] WO 2008/029167
- [16] WO 2011/083317
- 15 [17] Guo, R.F. y P.A. Ward, Annu Rev Immunol, 2005, 23: p. 821-52
- [18] Neumann, E., et al., Arthritis Rheum, 2002. 46(4): p. 934-45
- [19] Williams, A.S., et al., Arthritis Rheum, 2004, 50(9): p. 3035-44
- [20] Quigg, R.J., Curr Dir Autoimmun, 2004. 7: p. 165-80
- 20 [21] Papagianni, A.A., et al., Nephrol Dial Transplant, 2002, 17(1): p. 57-63
- [22] He, C., et al., J Immunol, 2005. 174(9): p. 5750-7
- [23] Mead, R.J., et al., J Immunol, 2002. 168(1): p. 458-65
- [24] Nakashima, S., et al., J Immunol, 2002. 169(8): p. 4620-7
- [25] WO 2004/106369
- 25 [26] WO 2009/098454
- [27] Terpe K, Appl Microbiol Biotechnol, 60: 523-33, 2003
- [28] Sambrook et al. (2000)
- [29] Fernyez y Hoeffler (1998)
- [30] Ausubel et al. (1991)
- 30 [31] Remington's Pharmaceutical Sciences; Mack Pub. Co., N.J. 1991

LISTA DE SECUENCIAS

[0167]

- 35 <110> VOLUTION IMMUNO PHARMACEUTICALS SA
- <120> MÉTODO DE TRATAMIENTO
- <130> P064032WO
- 40 <141> 2015-05-28
- <160> 14
- 45 <170> SeqWin2010, versión 1.0
- <210> 1
- <211> 507
- <212> ADN
- 50 <213> Ornithodoros moubata
- <400> 1
- | | | |
|----|--|-----|
| 55 | atgctggttt tggtgaccct gattttctcc ttttctgcga acatcgata tgctgacagc | 60 |
| | gaaagcgact gcactggaaag cgaacctgtt gacgccttcc aagcttttag tgagggcaaa | 120 |
| | gaggcatatg tcctggtag gtcacacggat cccaaagcga gggactgctt gaaaggagaa | 180 |
| | ccagccggag aaaagcagga caacacgttg ccggtgatga tgacgttaaa gaatggcaca | 240 |
| | gactgggctt caaccgattt gacgttact ttggacggcg caaaggtaac ggcaaccctt | 300 |
| | ggtaacctaa cccaaaatag ggaagtggtc tacgactcgc aaagtcatca ctgccacgtt | 360 |
| 60 | gacaaggctcg agaaggaagt tccagattat gagatgtgaa tgctcgatgc gggaggcgtt | 420 |
| | gaagtggaaag tcgagtgcgt ccgtaaaag cttgaagagt tggcgtctgg caggaaccaa | 480 |
| | atgtatcccc atctcaagga ctgctag | 507 |
- 65 <210> 2
- <211> 168

ES 2 906 630 T3

<212> PRT

<213> Ornithodoros moubata

<400> 2

5

1	Met	Leu	Val	Leu	Val	Thr	Leu	Ile	Phe	Ser	Phe	Ser	Ala	Asn	Ile	Ala
15																

10

20	Tyr	Ala	Asp	Ser	Glu	Ser	Asp	Cys	Thr	Gly	Ser	Glu	Pro	Val	Asp	Ala
25																

35	Phe	Gln	Ala	Phe	Ser	Glu	Gly	Lys	Glu	Ala	Tyr	Val	Leu	Val	Arg	Ser
40																

15

50	Thr	Asp	Pro	Lys	Ala	Arg	Asp	Cys	Leu	Lys	Gly	Glu	Pro	Ala	Gly	Glu
60																

20

65	Lys	Gln	Asp	Asn	Thr	Leu	Pro	Val	Met	Met	Thr	Phe	Lys	Asn	Gly	Thr
80																

85	Asp	Trp	Ala	Ser	Thr	Asp	Trp	Thr	Phe	Thr	Leu	Asp	Gly	Ala	Lys	Val
95																

25

100	Thr	Ala	Thr	Leu	Gly	Asn	Leu	Thr	Gln	Asn	Arg	Glu	Val	Val	Tyr	Asp
110																

115	Ser	Gln	Ser	His	His	Cys	His	Val	Asp	Lys	Val	Glu	Lys	Glu	Val	Pro
125																

30

130	Asp	Tyr	Glu	Met	Trp	Met	Leu	Asp	Ala	Gly	Gly	Leu	Glu	Val	Glu	Val
140																

35

145	Glu	Cys	Cys	Arg	Gln	Lys	Leu	Glu	Glu	Leu	Ala	Ser	Gly	Arg	Asn	Gln
160																

165	Met	Tyr	Pro	His	Leu	Lys	Asp	Cys								
175																

40

<210> 3

<211> 453

<212> ADN

<213> Ornithodoros moubata

45

<400> 3

180	gacagcgaaa	gcgactgcac	tggaaagcga	cctgttgacg	ccttccaagg	tttcagttag	60
190	ggcaaaggagg	catatgtcc	ggtgagggtcc	acggatcccc	aagcgaggga	ctgcttgaaa	120
200	ggagaaccag	ccggagaaaa	gcaggacaac	acgttgccgg	tgatgtatgc	gtttaagaat	180
210	ggcacagact	gggcttcaac	cgattggacg	tttactttgg	acggcgaaa	ggttaacggca	240
220	acccttggta	acctaacc	aaatagggaa	gtgggtctacg	actcgcaaa	tcatcactgc	300
230	cacgttgaca	aggctcgagaa	ggaaggttcca	gattatgaga	tgtggatgct	cgatgcggga	360
240	gggcttgaag	tggaaagtcga	gtgctgccgt	caaaagcttg	aagagttggc	gtctggcagg	420
250	aaccaaatgt	atccccatct	caaggactgc	tag			453

55

<210> 4

<211> 150

<212> PRT

<213> Ornithodoros moubata

60

<400> 4

ES 2 906 630 T3

	Asp Ser Glu Ser Asp Cys Thr Gly Ser Glu Pro Val Asp Ala Phe Gln	
1	5	10
5	Ala Phe Ser Glu Gly Lys Glu Ala Tyr Val Leu Val Arg Ser Thr Asp	
	20	25
	30	
10	Pro Lys Ala Arg Asp Cys Leu Lys Gly Glu Pro Ala Gly Glu Lys Gln	
	35	40
	45	
15	Asp Asn Thr Leu Pro Val Met Met Thr Phe Lys Asn Gly Thr Asp Trp	
	50	55
	60	
20	Ala Ser Thr Asp Trp Thr Phe Thr Leu Asp Gly Ala Lys Val Thr Ala	
	65	70
	75	80
25	Thr Leu Gly Asn Leu Thr Gln Asn Arg Glu Val Val Tyr Asp Ser Gln	
	85	90
	95	
30	Ser His His Cys His Val Asp Lys Val Glu Lys Glu Val Pro Asp Tyr	
	100	105
	110	
35	Glu Met Trp Met Leu Asp Ala Gly Gly Leu Glu Val Glu Val Glu Cys	
	115	120
	125	
40	Cys Arg Gln Lys Leu Glu Leu Ala Ser Gly Arg Asn Gln Met Tyr	
	130	135
	140	
45	Pro His Leu Lys Asp Cys	
	145	150
50	<210> 5	
	<211> 450	
	<212> ADN	
	<213> Ornithodoros moubata	
	<400> 5	
40	agcggaaagcg actgcactgg aagcgaacct gttgacgcct tccaaagctt cagtggggc 60	
	aaagaggcat atgtcctggg gaggtccacg gatcccaaag cgagggactg ctggaaagga 120	
	gaaccagccg gagaaaaagca ggacaacacg ttgccgtgt tgatgacgtt taagaatggc 180	
	acagactggg cttcaaccga ttggacgtt actttgacg gcgcaaagggt aacggcaacc 240	
	cttggtaacc taacccaaaa taggaaagtg gtctacgact cgcaaagtca tcactgccac 300	
	gttgacaagg tcgagaagga agttccagat tatgagatgt ggatgctcga tgcgggaggg 360	
	cttgaagtgg aagtgcgatg ctgcgtcaa aagtttgaag agttggcgtc tggcaggaac 420	
	caaatgtatc cccatctcaa ggactgctag 450	
50	<210> 6	
	<211> 149	
	<212> PRT	
	<213> Ornithodoros moubata	
	<400> 6	

ES 2 906 630 T3

Ser Glu Ser Asp Cys Thr Gly Ser Glu Pro Val Asp Ala Phe Gln Ala
 1 5 10 15

5 Phe Ser Glu Gly Lys Glu Ala Tyr Val Leu Val Arg Ser Thr Asp Pro
 20 25 30

Lys Ala Arg Asp Cys Leu Lys Gly Glu Pro Ala Gly Glu Lys Gln Asp
 35 40 45

10 Asn Thr Leu Pro Val Met Met Thr Phe Lys Asn Gly Thr Asp Trp Ala
 50 55 60

Ser Thr Asp Trp Thr Phe Thr Leu Asp Gly Ala Lys Val Thr Ala Thr
 65 70 75 80

15 Leu Gly Asn Leu Thr Gln Asn Arg Glu Val Val Tyr Asp Ser Gln Ser
 85 90 95

His His Cys His Val Asp Lys Val Glu Lys Glu Val Pro Asp Tyr Glu
 20 100 105 110

Met Trp Met Leu Asp Ala Gly Gly Leu Glu Val Glu Val Cys Cys
 115 120 125

25 Arg Gln Lys Leu Glu Glu Leu Ala Ser Gly Arg Asn Gln Met Tyr Pro
 130 135 140

His Leu Lys Asp Cys
 145

30 <210> 7
 <211> 447
 <212> ADN
 <213> Ornithodoros moubata

35 <400> 7

gaaaagcgact gcactggaag cgaacctgtt gacgccttcc aagctttcag tgagggcaaa 60
 gaggcatatg tcctggtag gtccacggat cccaaagcga gggactgctt gaaaggagaa 120
 ccagccggag aaaagcagga caacacgtt ccggtgatga tgacgtttaa gaatggcaca 180
 gactgggctt caaccgattt gacgtttact ttggacggcg caaaggttaac ggcaaccctt 240
 ggtaacctaa cccaaaatag ggaagtggtc tacgactcgc aaagtcatca ctgccacgtt 300
 gacaaggctcg agaaggaagt tccagattat gagatgtgga tgctcgatgc gggaggcctt 360
 gaagtggaaag tcgagtgtcg ccgtaaaaag cttgaagagt tggcgtctgg caggaaccaa 420
 45 atgtatcccc atctcaagga ctgctag 447

<210> 8
 <211> 148
 <212> PRT
 <213> Ornithodoros moubata

50 <400> 8

ES 2 906 630 T3

	Glu Ser Asp Cys Thr Gly Ser Glu Pro Val Asp Ala Phe Gln Ala Phe			
1	5	10	15	
5	Ser Glu Gly Lys Glu Ala Tyr Val Leu Val Arg Ser Thr Asp Pro Lys			
	20	25	30	
	Ala Arg Asp Cys Leu Lys Gly Glu Pro Ala Gly Glu Lys Gln Asp Asn			
	35	40	45	
10	Thr Leu Pro Val Met Met Thr Phe Lys Asn Gly Thr Asp Trp Ala Ser			
	50	55	60	
	Thr Asp Trp Thr Phe Thr Leu Asp Gly Ala Lys Val Thr Ala Thr Leu			
15	65	70	75	80
	Gly Asn Leu Thr Gln Asn Arg Glu Val Val Tyr Asp Ser Gln Ser His			
	85	90	95	
20	His Cys His Val Asp Lys Val Glu Lys Glu Val Pro Asp Tyr Glu Met			
	100	105	110	
	Trp Met Leu Asp Ala Gly Gly Leu Glu Val Glu Val Glu Cys Cys Arg			
	115	120	125	
25	Gln Lys Leu Glu Leu Ala Ser Gly Arg Asn Gln Met Tyr Pro His			
	130	135	140	
	Leu Lys Asp Cys			
30	145			
	<210> 9			
	<211> 444			
	<212> ADN			
35	<213> Ornithodoros moubata			
	<400> 9			
	agcgactgca ctggaagcga acctgttgac gccttccaag ctttcagtga gggcaaagag	60		
40	gcatatgtcc tggtaggtc cacggatccc aaagcgagg actgcttgaa aggagaacca	120		
	gccggagaaa agcaggacaa cacgttgccg gtgatgtga cguttaagaa tggcacagac	180		
	tgggcttcaa ccgattggac gttactttg gacggcgcaa aggtAACGGC aacccttgg	240		
	aacctaaccc aaaatagggg agtggctcac gactcgcaaa gtcatcactg ccacgttgc	300		
	aaggtcgaga aggaagttcc agattatgag atgtggatgc tcgatgcggg agggcttggaa	360		
45	gtggaagtgc agtgctgccc tcaaaagctt gaagagttgg cgtctggcag gaaccaaatt	420		
	tatccccatc tcaaggactg ctag	444		
	<210> 10			
	<211> 147			
50	<212> PRT			
	<213> Ornithodoros moubata			
	<400> 10			
55				
60				
65				

ES 2 906 630 T3

Ser Asp Cys Thr Gly Ser Glu Pro Val Asp Ala Phe Gln Ala Phe Ser
 1 5 10 15

5 Glu Gly Lys Glu Ala Tyr Val Leu Val Arg Ser Thr Asp Pro Lys Ala
 20 25 30

Arg Asp Cys Leu Lys Gly Glu Pro Ala Gly Glu Lys Gln Asp Asn Thr
 35 40 45

10 Leu Pro Val Met Met Thr Phe Lys Asn Gly Thr Asp Trp Ala Ser Thr
 50 55 60

15 Asp Trp Thr Phe Thr Leu Asp Gly Ala Lys Val Thr Ala Thr Leu Gly
 65 70 75 80

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

20 Cys His Val Asp Lys Val Glu Lys Glu Val Pro Asp Tyr Glu Met Trp
 100 105 110

Met Leu Asp Ala Gly Gly Leu Glu Val Glu Val Glu Cys Cys Arg Gln
 115 120 125

25 Lys Leu Glu Glu Leu Ala Ser Gly Arg Asn Gln Met Tyr Pro His Leu
 130 135 140

30 Lys Asp Cys
 145

<210> 11
 <211> 441
 <212> ADN
 35 <213> Ornithodoros moubata

<400> 11

40 gactgcactg gaagcgaacc tggtgacgcc ttccaaagctt tcagtggagg caaagaggca 60
 tatgtcctgg tgaggtccac ggatccaaa gcgaggact gcttggaaagg agaaccagcc 120
 ggagaaaagc aggacaacac gttggccggtg atgatgacgt ttaagaatgg cacagactgg 180
 gcttcaaccg attggacgtt tacattggac ggcgcaaagg taacggcaac ccttggtaac 240
 ctaacccaaa atagggaaat ggtctacgac tcgcaaagtc atcactgcca cggtgacaag 300
 gtcgagaagg aagtccaga ttatgagatg tggatgctcg atgcgggagg gcttgaagtg 360
 45 gaagtgcagt gctgccgtca aaagcttcaa gagttggcgt ctggcaggaa ccaaatgtat 420
 ccccatctca aggactgcta g 441

<210> 12
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Ornithodoros moubata

<400> 12

ES 2 906 630 T3

	Asp Cys Thr Gly Ser Glu Pro Val Asp Ala Phe Gln Ala Phe Ser Glu	
1	5	10
5	Gly Lys Glu Ala Tyr Val Leu Val Arg Ser Thr Asp Pro Lys Ala Arg	
	20	25
10	Asp Cys Leu Lys Gly Glu Pro Ala Gly Glu Lys Gln Asp Asn Thr Leu	
	35	40
15	Pro Val Met Met Thr Phe Lys Asn Gly Thr Asp Trp Ala Ser Thr Asp	
	50	55
20	Trp Thr Phe Thr Leu Asp Gly Ala Lys Val Thr Ala Thr Leu Gly Asn	
	65	70
25	Leu Thr Gln Asn Arg Glu Val Val Tyr Asp Ser Gln Ser His His Cys	
	85	90
30	His Val Asp Lys Val Glu Lys Glu Val Pro Asp Tyr Glu Met Trp Met	
	100	105
35	Leu Asp Ala Gly Gly Leu Glu Val Glu Val Glu Cys Cys Arg Gln Lys	
	115	120
40	Leu Glu Glu Leu Ala Ser Gly Arg Asn Gln Met Tyr Pro His Leu Lys	
	130	135
45	Asp Cys	
	145	
50	<210> 13	
	<211> 438	
	<212> ADN	
	<213> Ornithodoros moubata	
	<400> 13	
40	tgcaactggaa gcgaacctgt tgacgccttc caagctttca gtgaggccaa agaggcatat	60
	gtcctggta ggtccacgga tcccaaagcg agggactgct tgaaaggaga accagccgga	120
	gaaaagcagg acaacacgtt gccggtgatg atgacgttta agaatggcac agactggct	180
	tcaaccgatt ggacgtttac tttggacggc gcaaaggtaa cggcaaccct tggtaaccta	240
	acccaaaata gggaaagtgtt ctacgactcg caaagtcatc actgccacgt tgacaaggtc	300
	gagaaggaag ttccagatta tgagatgtgg atgctcgatg cgggaggcgt tgaagtggaa	360
	gtcgagtgtct gccgtcaaaa gcttgaagag ttggcgtctg gcaggaacca aatgtatccc	420
	catctcaagg actgcttag	438
50	<210> 14	
	<211> 145	
	<212> PRT	
	<213> Ornithodoros moubata	
	<400> 14	

ES 2 906 630 T3

Cys Thr Gly Ser Glu Pro Val Asp Ala Phe Gln Ala Phe Ser Glu Gly
1 5 10 15

5 Lys Glu Ala Tyr Val Leu Val Arg Ser Thr Asp Pro Lys Ala Arg Asp
20 25 30

Cys Leu Lys Gly Glu Pro Ala Gly Glu Lys Gln Asp Asn Thr Leu Pro
35 40 45

10 Val Met Met Thr Phe Lys Asn Gly Thr Asp Trp Ala Ser Thr Asp Trp
50 55 60

15 Thr Phe Thr Leu Asp Gly Ala Lys Val Thr Ala Thr Leu Gly Asn Leu
65 70 75 80

Thr Gln Asn Arg Glu Val Val Tyr Asp Ser Gln Ser His His Cys His
85 90 95

20 Val Asp Lys Val Glu Lys Glu Val Pro Asp Tyr Glu Met Trp Met Leu
100 105 110

Asp Ala Gly Gly Leu Glu Val Glu Val Glu Cys Cys Arg Gln Lys Leu
115 120 125

25 Glu Glu Leu Ala Ser Gly Arg Asn Gln Met Tyr Pro His Leu Lys Asp
130 135 140

30 Cys
145

REIVINDICACIONES

1. Un agente que inhibe la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de la lectina para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento en un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento en el residuo Arg885 de C5 de tipo salvaje que disminuye la eficacia de eculizumab, en el que dicho método comprende las etapas de:
- 5 1) identificar un sujeto con un polimorfismo C5 del complemento en el residuo Arg885 de C5 de tipo salvaje que disminuye la eficacia de eculizumab; y
 - 10 2) identificar un agente que inhiba la vía clásica del complemento, la vía alternativa del complemento y la vía del complemento de lectina en dicho sujeto; y
 - 15 3) administrar a dicho sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de dicho agente identificado en el paso 2, donde el agente es:
 - (i) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína;
 - (ii) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína; o
 - (iii) una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína como se indica en (i) o (ii);
 - 20 en el que la enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento se selecciona de pancreatitis aguda, degeneración macular relacionada con la edad, síndrome urémico hemolítico atípico, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, encefalomielitis alérgica, alotrasplante, asma, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, gripe, lesiones por quemaduras, enfermedad de Crohn, glomerulonefritis, anemia hemolítica, hemodiálisis, angioedema hereditario, lesiones por isquemia-reperfusión, insuficiencia multiorgánica, esclerosis múltiple, miastenia grave, infarto de miocardio, hemoglobinuria paroxística nocturna, psoriasis, artritis reumatoide, shock séptico, lupus eritematoso sistémico, ictus, púrpura trombocitopénica trombótica, lesión cerebral traumática, síndrome de fuga vascular y rechazo de trasplantes y enfermedad de injerto contra huésped, trastornos de los nervios periféricos y trastornos respiratorios, y en los que el equivalente funcional de
 - 30 (a) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2; o
 - (b) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2; es
 - 35 (c) un homólogo que tiene más del 80% de identidad de secuencia con la proteína como se define en (a) o (b); o
 - (d) un fragmento de una proteína, donde la proteína tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, o un fragmento de un homólogo, donde el homólogo tiene más del 80% de identidad con la secuencia de aminoácidos 19 a 168 o los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 2,
 - 40 donde dicho equivalente funcional retiene la capacidad de unirse al complemento C5 y prevenir la escisión del complemento C5 por convertasa C5 en complemento C5a y complemento C5b-9.
2. Un agente para su uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es un mamífero, preferiblemente un ser humano.
- 45 3. Un agente para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el polimorfismo C5 del complemento no disminuye la eficacia de un agente que es:
 - (i) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína; o
 - (ii) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2 o es un equivalente funcional de esta proteína.
 - 55 4. Un agente para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el sujeto con el polimorfismo C5 del complemento se identifica por una respuesta clínica inesperadamente pobre a eculizumab.
 5. Un agente para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el sujeto con el polimorfismo C5 del complemento se identifica probando la capacidad de eculizumab para inhibir la activación del complemento en el sujeto.
 - 60 6. Un agente para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el sujeto con el polimorfismo C5 del complemento se identifica mediante análisis genético molecular.
 7. Un agente para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el polimorfismo C5 del complemento es Arg885Cys o Arg885His.
 - 65 8. Un agente para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el polimorfismo C5 del complemento se identifica o confirma secuenciando el gen que codifica C5 u otro análisis genético molecular.

9. Un agente para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el homólogo tiene una identidad de secuencia superior al 90%, 95%, 98% o 99% con la proteína como se define en (a) o (b).
- 5 10. Un agente para usar según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el agente es:
- (i) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 19 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2;
- (ii) una proteína que comprende o consiste en los aminoácidos 1 a 168 de la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO: 2; o
- 10 (iii) una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína como se indica en (i) o (ii).
11. Un agente para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la enfermedad y/o trastorno mediado por el complemento se selecciona de hemoglobinuria paroxística nocturna, enfermedad de injerto contra huésped, púrpura trombocitopénica trombótica y síndrome urémico hemolítico atípico.
- 15

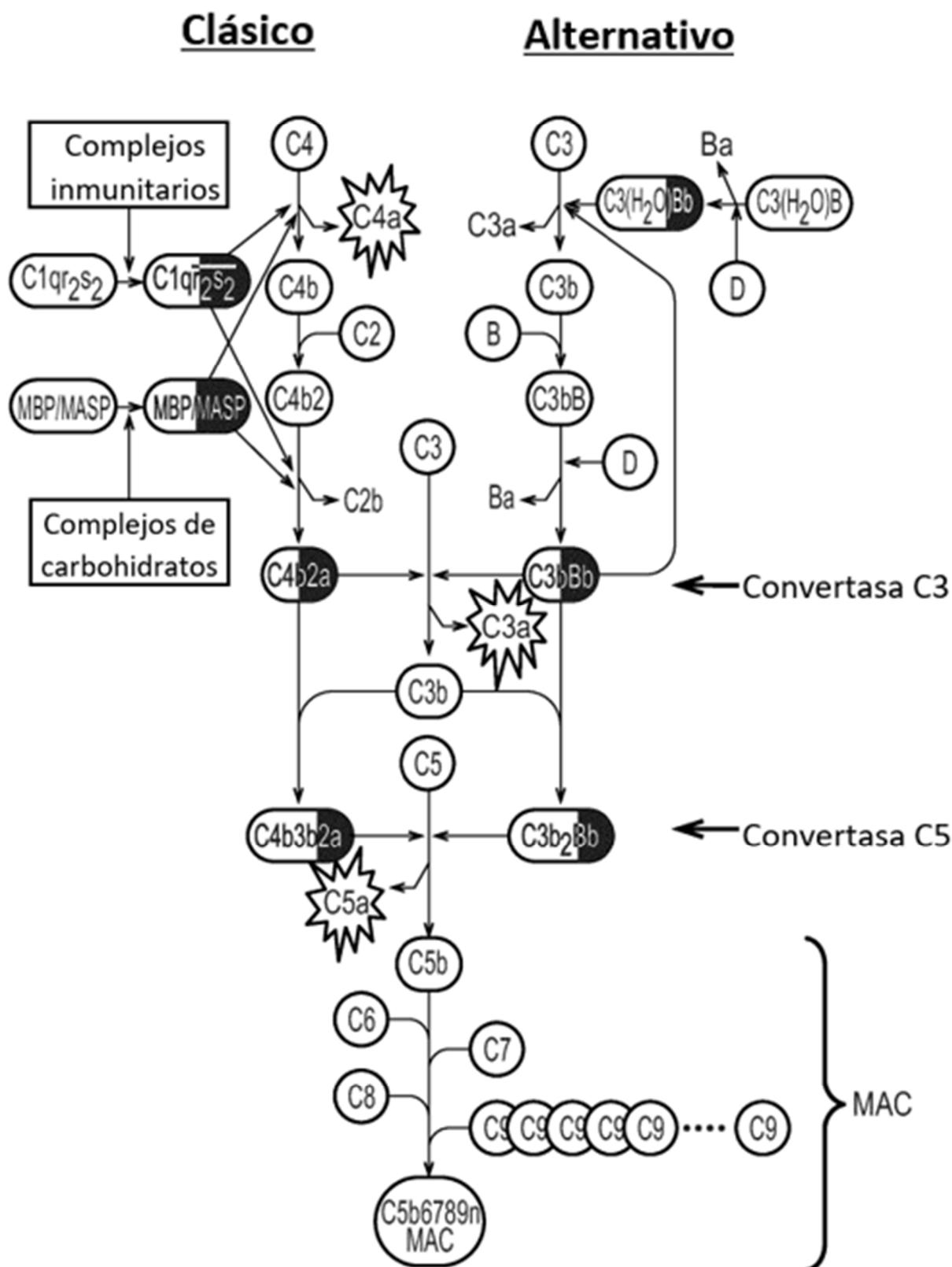
FIG. 1

FIG. 2

M	L	V	L	V	T	L	I	F	S	F	S	A	N	I	A	Y	A	D	S	20
E	S	D	C	T	G	S	E	P	V	D	A	F	Q	A	F	S	E	G	K	40
E	A	Y	V	L	V	R	S	T	D	P	K	A	R	D	C	L	K	G	E	60
P	A	G	E	K	Q	D	N	T	L	P	V	M	M	T	F	K	N	G	T	80
D	W	A	S	T	D	W	T	F	T	L	D	G	A	K	V	T	A	T	L	100
G	N	L	T	Q	N	R	E	V	V	Y	D	S	Q	S	H	H	C	H	V	120
G	C	A	G	C	T	A	C	G	T	T	G	A	G	T	C	A	T	G	C	360
D	K	V	E	K	E	V	P	D	Y	E	M	W	M	L	D	A	G	G	L	140
E	V	E	V	E	C	C	R	Q	K	L	E	E	L	A	S	G	R	N	Q	160
M	Y	P	H	L	K	D	C	*											507	
																			168	

ATGCTGGTTGGTGACCCCTGATTTCCTCGGAACATCGCATATGCTGACAGC 60
 GAAAGCGGACTGCACCTGGAACCGGAACTGTTGACGCCCTTCCAAGGCTTCAAGCTTCAAGCTGGGCAA 120
 GAGGCATATGTCCCTGGTCCACGGATCCCAGGAAAGCGGAGCTGCTTGAAAGGAGAA 180
 CCAGCCGGAGAAAGCAGGACAACACCGTGTGCCGGTGAATGATGACGTTAAGAATGCCACA 240
 GACTGGGCTTAACCGATTGGACGCTTACCTTGGACGGCAAAAGGTAACGGCAACCCCT 300
 GGTAACCTAACCCAAAATAGGAAGTGGTCTACGGACTCGCAAAGTCATCACTGCCACCGTT 360
 GACAAGGGTCGAGGAAGGTTCCAGATTATGAGATGTGGATGCTCGATGCCGGGGCTT 420
 GAAGTGGAAAGTCGAGGTGCCGTCAAAAGCTTGAAGAGCTCTGGCAGGAAACCAA 480
 ATGTATCCCCATCTCAAGGAACTGCTAG

FIG 3

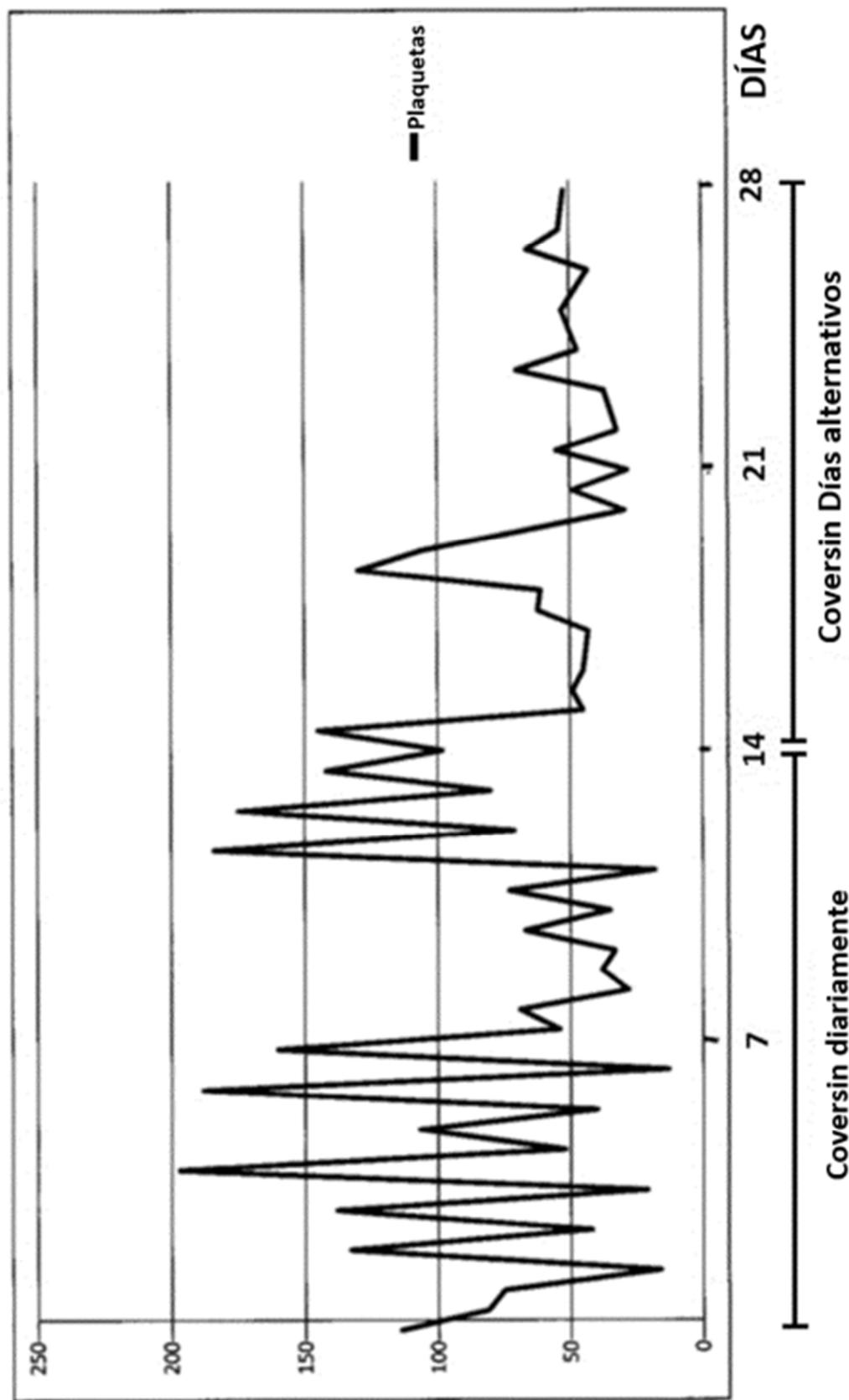


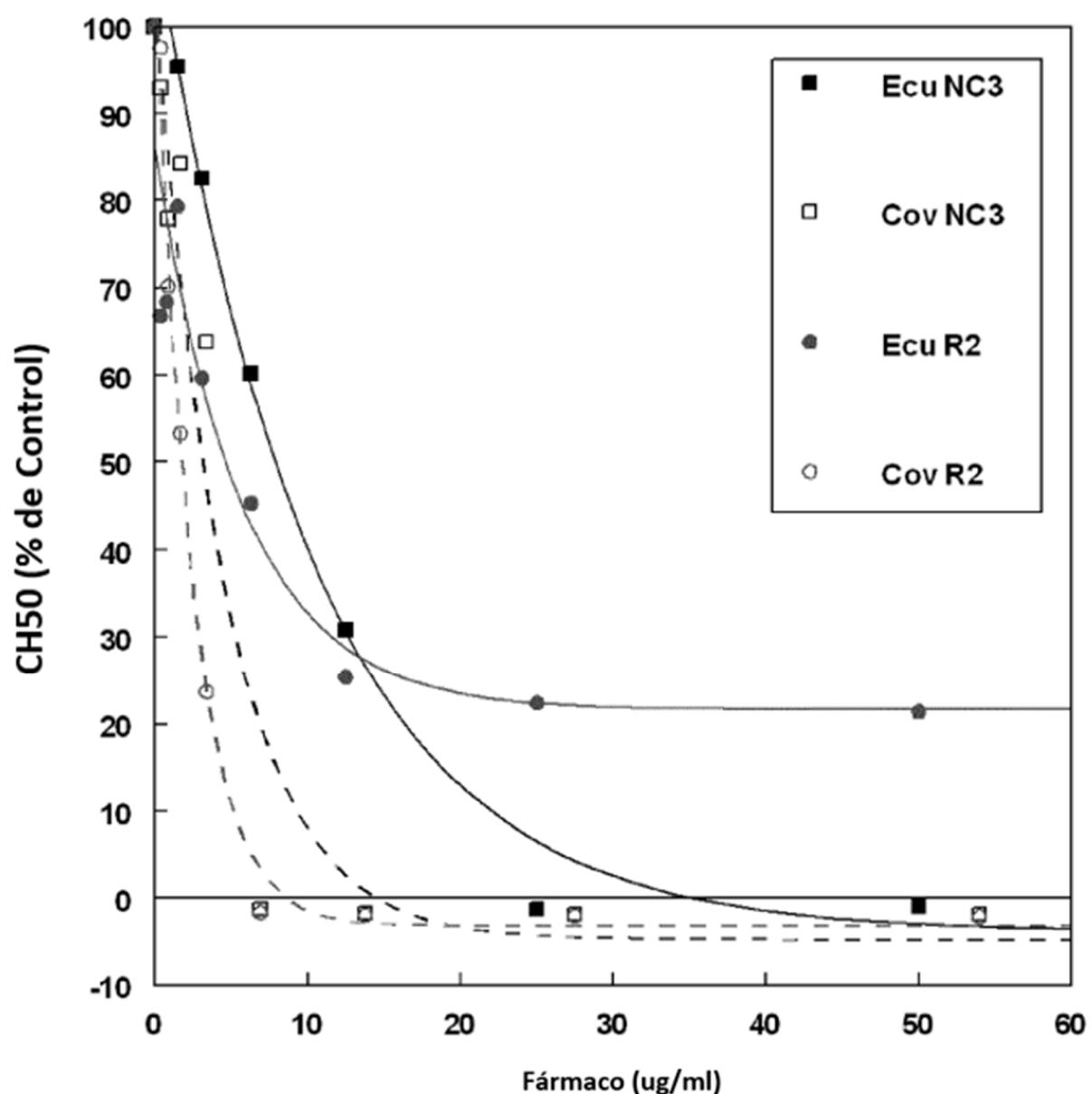
FIG 4

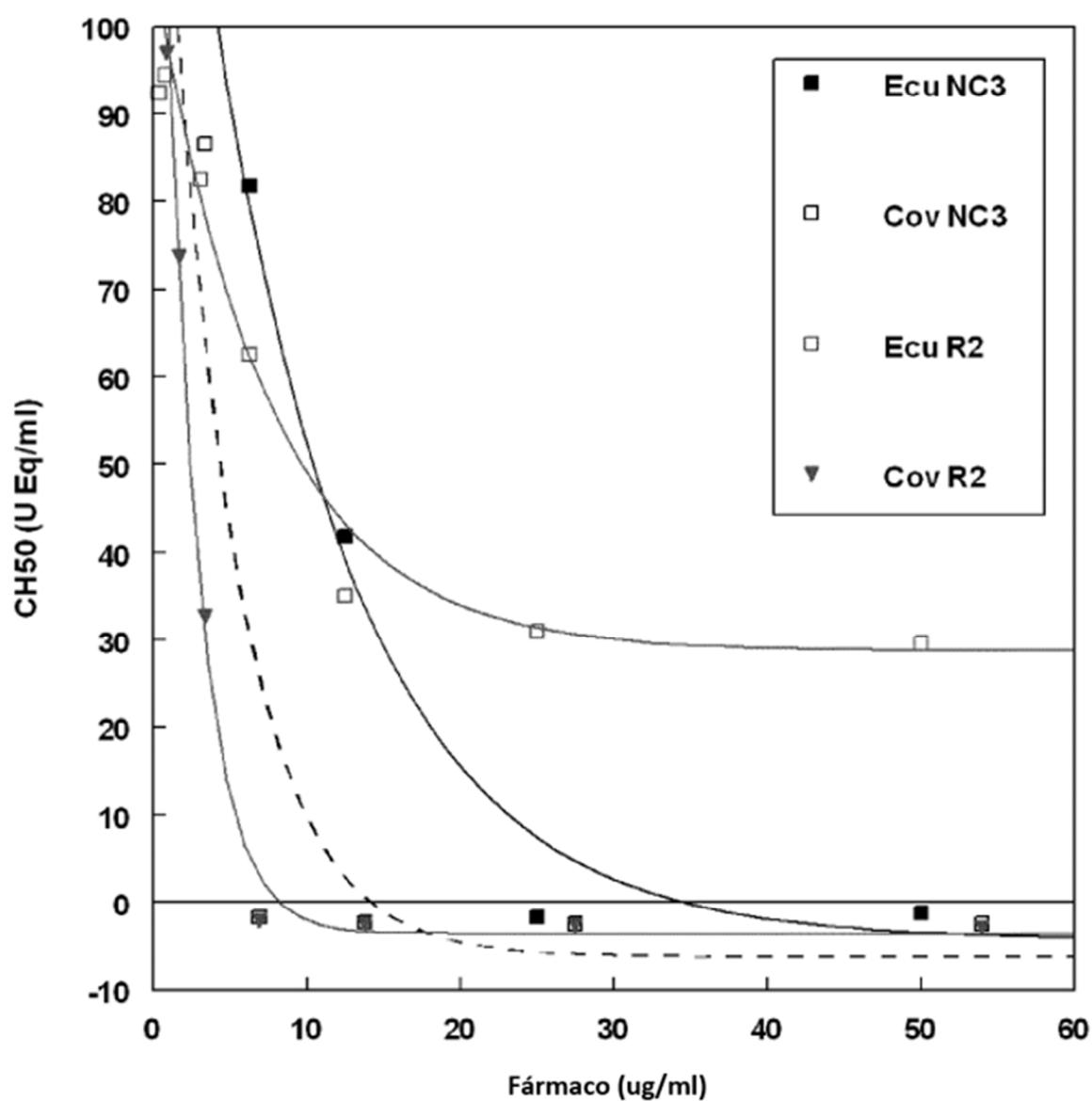
FIG 5

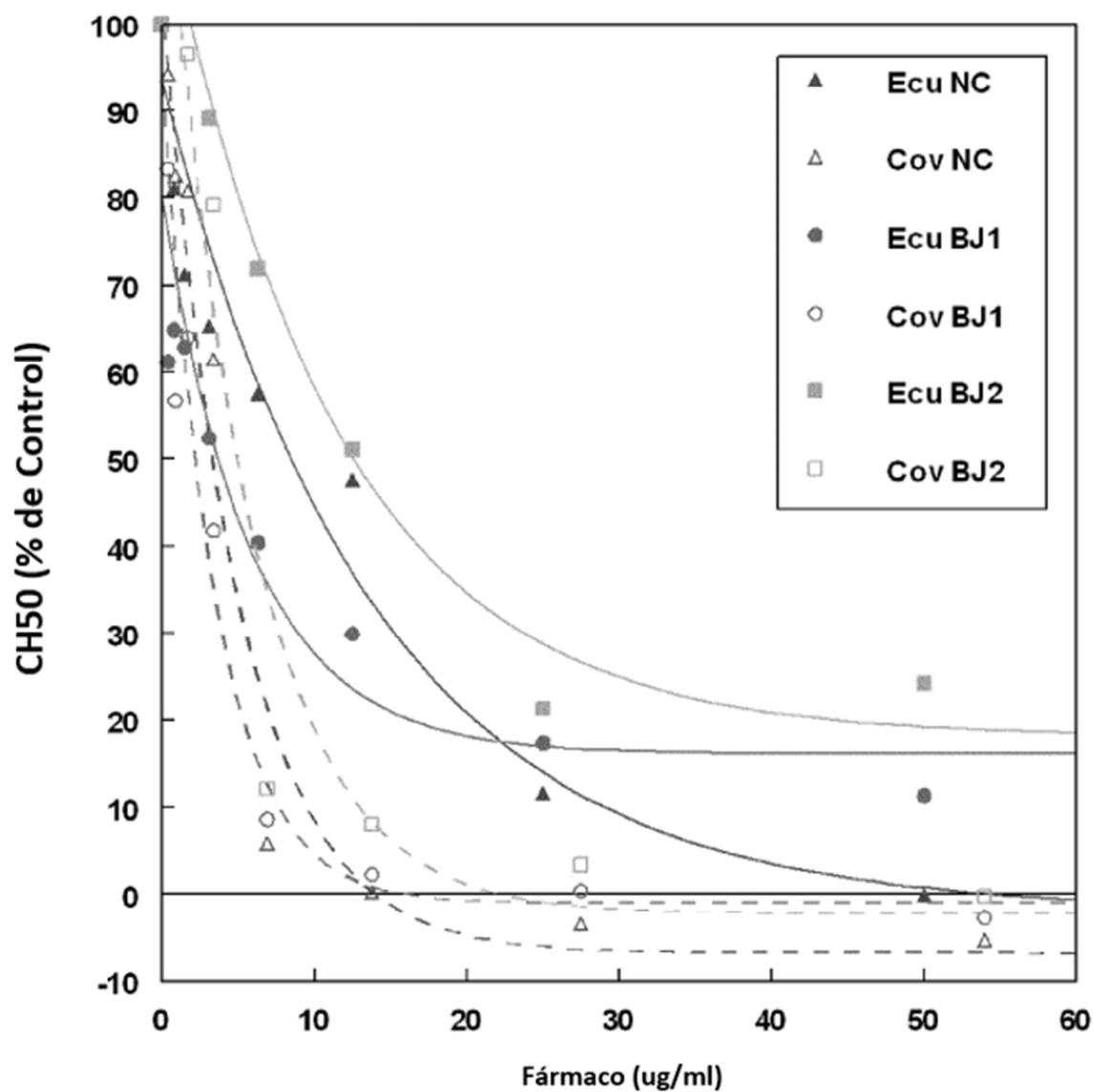
FIG 6

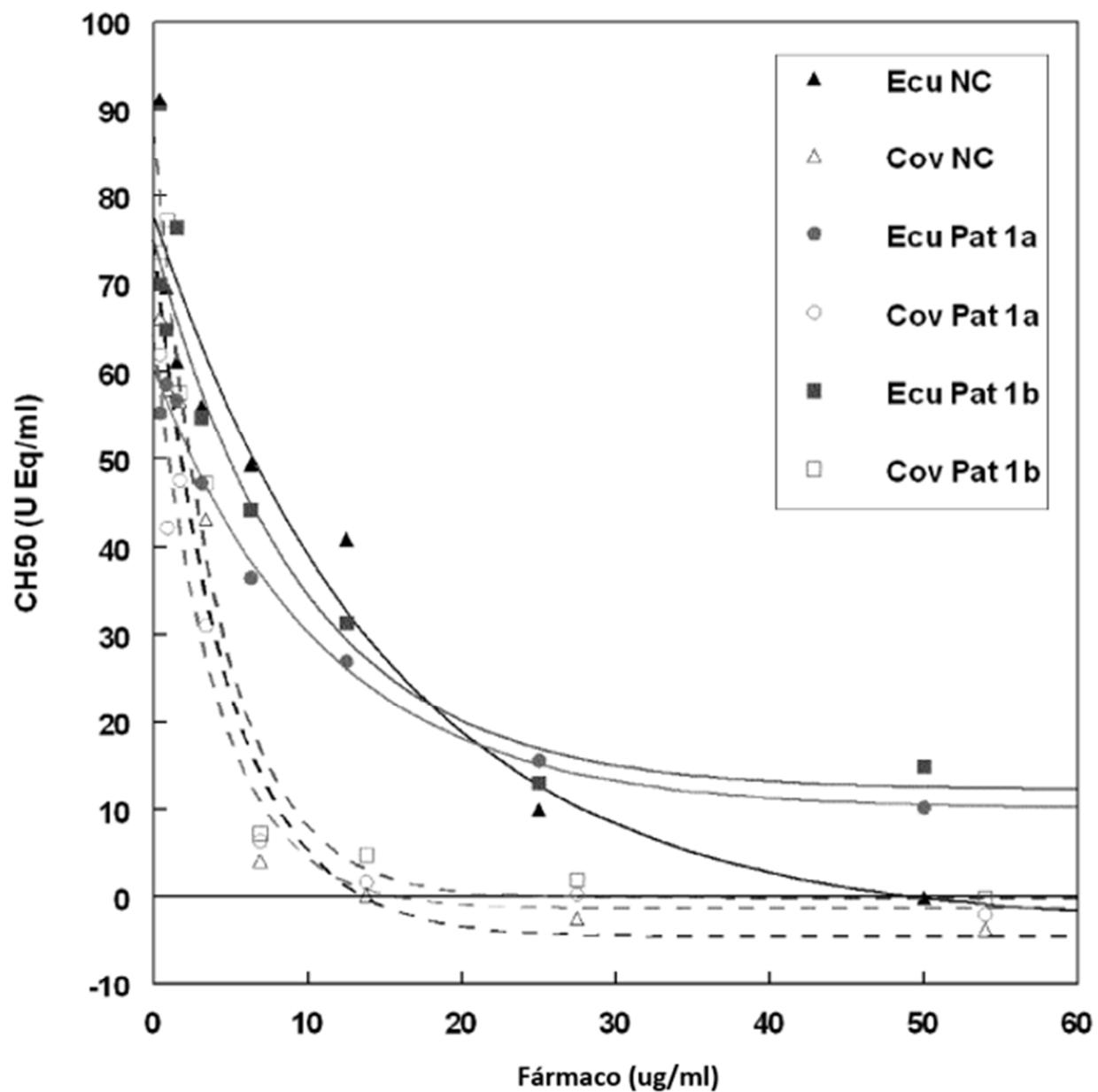
FIG 7

FIG 8

