



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 348 984**

51 Int. Cl.:
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05735998 .6**
96 Fecha de presentación : **06.04.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1737490**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.01.2007**

54 Título: **Procedimientos de tratamiento de la aterosclerosis.**

30 Prioridad: **06.04.2004 US 559944 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.12.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.12.2010

73 Titular/es: **NOVIMMUNE S.A.**
64 avenue de la Roseraie
1211 Genève 4, CH

72 Inventor/es: **Kosco-Vilbois, Marie;**
Dean, Yann y
Mach, Bernard

74 Agente: **Sugrañes Moliné, Pedro**

ES 2 348 984 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

CAMPO DE LA INVENCION

5 Esta invención se refiere de forma general al uso de moduladores de CD3, tales como anticuerpos dirigidos contra CD3, que inducen tolerancia inmunológica y modulación de la respuesta inmune para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y/o trastornos inflamatorios.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 El sistema inmune es muy complejo y está estrictamente regulado, con muchas rutas alternativas capaces de compensar las deficiencias en otras partes del sistema. Sin embargo, hay ocasiones en las que la respuesta inmune, cuando se activa, se convierte en causa de enfermedad o de otros estados no deseados. Tales enfermedades o estados no deseados son, por ejemplo, enfermedades autoinmunes, rechazo del injerto después de un trasplante, alergia a antígenos inocuos, psoriasis, enfermedades inflamatorias crónicas tales como aterosclerosis, e inflamaciones
15 en general. En estos y otros casos que implican una respuesta inmune inapropiada o no deseada existe la necesidad clínica de efectuar una inmunosupresión.

Por consiguiente, se necesitan composiciones que se puedan usar en el tratamiento de enfermedades y/o trastornos relacionados con el sistema inmune.

RESUMEN DE LA INVENCION

20 La invención se basa en el descubrimiento de que la modulación de la expresión o actividad de CD3 conduce a una disminución en el desarrollo de la placa aterosclerótica en un modelo de ratón para la aterosclerosis clínica. Por consiguiente, la invención presenta procedimientos que previenen o inhiben la inflamación en un tejido corporal, siendo dicho tejido el tejido vascular. Un tejido inflamado se caracteriza generalmente por enrojecimiento, dolor e hinchazón del tejido. El tejido incluye tejido
25 cardiaco, por ejemplo una vena, una arteria o un capilar.

La inflamación es inhibida por exposición de una célula o tejido a un modulador de CD3 en una cantidad que conduce a una reducción en la producción de una citocina proinflamatoria, a un aumento de una citocina antiinflamatoria o en una cantidad que induce tolerancia inmunológica.

30 La invención proporciona procedimientos que inhiben la formación de la placa aterosclerótica por exposición de una célula que expresa CD3 a un modulador de CD3. La placa aterosclerótica es inhibida de tal manera que la cantidad de placa asociada con la pared arterial esté reducida después de la exposición al modulador de CD3 en comparación con antes de la exposición al inhibidor de CD3.

35 La célula es cualquier célula capaz de expresar CD3, por ejemplo un linfocito tal como una célula T. La célula T es una célula T circulante, es decir, en la sangre o la linfa. De forma alternativa, la célula T se encuentra en un tejido, por ejemplo en un nódulo linfático, conductos linfáticos, vasos linfáticos y bazo. El tejido es un tejido inflamado (o un tejido en el que existe riesgo de inflamación). Por exposición se entiende que la célula o el tejido se pone en contacto con el modulador de CD3. La

célula o el tejido se pone en contacto directo o indirecto (es decir, sistémico). La célula se pone en contacto *in vivo*, *in vitro* o *ex vivo*.

5 La invención también presenta procedimientos característicos para la prevención o mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio, siendo dicho trastorno inflamatorio aterosclerosis, mediante la administración al sujeto de un modulador de CD3.

10 Un modulador de CD3 es un compuesto que reduce la expresión o actividad de CD3. Las actividades de CD3 incluyen la activación de células T. Se conocen en la técnica los procedimientos de medición de la activación de células T. Los moduladores de CD3 incluyen, por ejemplo, anticuerpos dirigidos contra CD3. Los moduladores de CD3 se administran solos o en combinación con otro agente antiinflamatorio o con fármacos inmunosupresores usados para el tratamiento de un trastorno inflamatorio. Por ejemplo, el modulador de CD3 se administra con corticosteroides, una estatina, interferón beta, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), metotrexato, ciclosporina A o un fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FARME).

15 Esta invención se refiere específicamente al uso de un anticuerpo dirigido contra CD3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio en un sujeto, siendo dicho trastorno inflamatorio aterosclerosis, y para la reducción de la formación de la placa aterosclerótica en una arteria.

20 Esta invención también se refiere específicamente a un anticuerpo dirigido contra CD3 para el uso en el tratamiento o la mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio, siendo dicho trastorno inflamatorio aterosclerosis.

25 El sujeto es un mamífero, tal como un ser humano, ratón, rata, perro, gato, vaca, caballo y cerdo. El sujeto padece o presenta el riesgo de desarrollar un trastorno inflamatorio. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación cardiovascular, inflamación ocular, inflamación gastrointestinal, inflamación hepática, inflamación pulmonar, trastornos autoinmunes o inflamación muscular. Un sujeto que padece o presenta el riesgo de desarrollar un trastorno inflamatorio se identifica mediante procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo mediante un examen basto del tejido o por detección de una inflamación asociada en tejido o sangre. Los síntomas de la inflamación incluyen dolor, enrojecimiento e hinchazón del tejido afectado.

30 Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria poseen el significado comúnmente entendido por un experto normal en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque en la práctica o el ensayo de la presente invención se pueden usar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, se describen a continuación procedimientos y materiales adecuados. En caso de conflicto dominará la presente memoria, incluidas las definiciones. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son únicamente ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

35 Otras características y ventajas de la invención se harán patentes en la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Fig. 1 es un gráfico que representa los efectos clínicos e histológicos de la terapia dirigida contra CD3 en un modelo de uveítis en rata.

5 La Fig. 2 es un gráfico que representa el efecto inhibitor de la terapia dirigida contra CD3 en el desarrollo de la placa aterosclerótica en la raíz aórtica de ratones.

La Fig. 3 es un gráfico que representa el efecto inhibitor de la terapia dirigida contra CD3 en la progresión de lesiones ateroscleróticas establecidas en ratones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

10 La invención se basa en parte en el descubrimiento de que la modulación de la expresión o actividad de CD3 produce una reducción de la respuesta inmune y un efecto antiinflamatorio. Más específicamente, la administración de un anticuerpo dirigido CD3 produjo una reducción de los signos y síntomas asociados con la uveítis y una reducción en el desarrollo de la placa aterosclerótica.

15 CD3 es un complejo presente en linfocitos T maduros formado por al menos cinco polipéptidos unidos a la membrana y asociados de forma no covalente entre sí y con el receptor de células T. El complejo CD3 incluye las cadenas gamma, delta, épsilon, zeta y eta (denominadas también subunidades). Cuando el antígeno se une al receptor de células T, el complejo CD3 transmite las señales de activación al citoplasma de la célula T.

20 Moduladores de CD3

Un modulador de CD3 es un agente que modula la expresión o actividad de CD3. Modula significa que el agente promueve, aumenta, reduce o neutraliza la expresión o actividad de CD3. Una actividad CD3 incluye, por ejemplo, la transducción de una señal de activación de células T. La activación de células T se define como un aumento de GMPc intracelular mediado por calcio o un aumento de receptores de la superficie celular para IL-2. Por ejemplo, en presencia del compuesto y en comparación con la ausencia del compuesto, un aumento de la activación de células T se caracteriza por una disminución de GMPc intracelular mediado por calcio y/o de receptores de IL-2. El GMPc intracelular se mide, por ejemplo, mediante un inmunoensayo competitivo o un ensayo de centelleo por proximidad usando kits de ensayo disponibles en el mercado. Los receptores de IL-2 en la superficie celular se miden, por ejemplo, determinando la unión a un anticuerpo contra el receptor de IL-2, tal como el anticuerpo PC61.

30 Un modulador de CD3 incluye, por ejemplo, anticuerpos dirigidos contra CD3 o fragmentos de ellos. Opcionalmente, el anticuerpo dirigido contra CD3 es un anticuerpo dirigido contra CD3 de cadena sencilla, un anticuerpo dirigido contra CD3 biespecífico o un anticuerpo dirigido contra CD3 heteroconjugado. El anticuerpo es un anticuerpo dirigido contra CD3 activador y, por lo tanto, induce la actividad de CD3. De forma alternativa, el anticuerpo es un anticuerpo dirigido contra CD3 neutralizador y, por lo tanto, reduce la actividad de CD3.

Los anticuerpos dirigidos contra CD3 son conocidos en la técnica. Ejemplos de anticuerpos anti-CD3 incluyen, pero no se limitan a, OKT3, G4.18, 145-2C11, Leu4, HIT3a, BC3, SK7, SP34,

RIV-9 y UCHT1. El anticuerpo anti-CD3 se une preferentemente a los mismos epítomos que OKT3, G4.18, 145-2C11, Leu4, HIT3a, BC3, SK7, SP34, RIV-9 y UCHT1. Preferentemente, el anticuerpo se ha humanizado o equinizado para reducir la respuesta inmune del huésped al anticuerpo.

5 Los expertos en la técnica reconocerán que es posible determinar, sin excesiva experimentación, si un anticuerpo presenta los mismos epítomos que los anticuerpos dirigidos contra CD3 OKT3, G4.18, 145-2C11, Leu4, HIT3a, BC3, SK7, SP34, RIV-9 y UCHT1, comprobando si el primero impide que el último se una a un polipéptido antigénico de CD3 o a otro polipéptido antigénico de la superficie de células T. El polipéptido antigénico de CD3 es, por ejemplo, el polipéptido épsilon complejado con otra subunidad polipeptídica de CD3 (por ejemplo las cadenas gamma, delta, épsilon, zeta o eta). Si el anticuerpo ensayado compite con un anticuerpo de la invención, lo cual se manifiesta en una disminución de la unión del anticuerpo de la invención, los dos anticuerpos se unen al mismo epítomo o a uno estrechamente relacionado. Otra manera de determinar si un anticuerpo presenta la especificidad de un anticuerpo de la invención consiste en preincubar el anticuerpo de la invención con el polipéptido antigénico de CD3 o el polipéptido antigénico de la superficie de células T con el que normalmente reacciona, y añadir después el anticuerpo de ensayo para determinar si el anticuerpo de ensayo es inhibido en su capacidad para unirse al polipéptido antigénico de CD3 o de la superficie de células T. Si el anticuerpo de ensayo es inhibido, lo más probable es que tenga la misma especificidad epitópica, o una funcionalmente equivalente, que el anticuerpo de la invención.

20 Como se usa en la presente memoria, el término "anticuerpo" se refiere a moléculas de inmunoglobulina y a porciones inmunológicamente activas de las moléculas de inmunoglobulina (Ig), es decir, a moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a (inmunorreacciona con) un antígeno. Tales anticuerpos incluyen fragmentos policlonales, monoclonales, quiméricos, de cadena sencilla, F_{ab} , F_{ab}' y $F_{(ab)2}$, así como una librería de expresión de F_{ab} . El anticuerpo es preferentemente un anticuerpo completamente humano. "Se une específicamente" o "inmunorreacciona con" significa que el anticuerpo reacciona con uno o más determinantes antigénicos del antígeno deseado y no reacciona (es decir, se une) con otros polipéptidos, o se une a otros polipéptidos con una afinidad mucho menor ($K_d > 10^6$).

30 Como se usa en la presente memoria, el término "epítomo" incluye cualquier determinante proteico capaz de unirse específicamente a una inmunoglobulina, un scFv o un receptor de células T. El término "epítomo" incluye cualquier determinante proteico capaz de unirse específicamente a una inmunoglobulina o un receptor de células T. Los determinantes epitópicos constan habitualmente de agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas, tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, y generalmente presentan características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Se dice que un anticuerpo se une específicamente a un antígeno cuando la constante de disociación es $\leq 1 \mu M$, preferentemente ≤ 100 nM y con especial preferencia ≤ 10 nM.

35 Como se usa en la presente memoria, las expresiones "unión inmunológica" y "propiedades de unión inmunológica" se refieren a las interacciones no covalentes del tipo que se producen entre

una molécula de inmunoglobulina y un antígeno para el que la inmunoglobulina es específica. La fuerza o afinidad de las interacciones de unión inmunológicas se pueden expresar en términos de la constante de disociación (K_d) de la interacción, representando una K_d menor una afinidad mayor. Las propiedades de unión inmunológica de polipéptidos seleccionados se cuantifican usando procedimientos conocidos en la técnica. Uno de estos procedimientos implica la medición de las velocidades de formación y disociación del complejo entre el sitio de unión a antígeno y el antígeno, dependiendo esas velocidades de las concentraciones de las parejas del complejo, la afinidad de la interacción y los parámetros geométricos que afectan la velocidad por igual en ambas direcciones. Así, tanto la "constante cinética de asociación" (K_{on}) como la "constante cinética de disociación" (K_{off}) se pueden determinar calculando las concentraciones y las velocidades reales de asociación y disociación. (Véase Nature 361:186-87 (1993)). La relación K_{off}/K_{on} permite cancelar todos los parámetros no relacionados con la afinidad y es igual a la constante de disociación K_d . (Véase de forma general Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473). Se dice que un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a un epítipo de CD3 cuando la constante de unión en equilibrio (K_d) es $\leq 1 \mu\text{M}$, preferentemente $\leq 100 \text{ nM}$, con mayor preferencia $\leq 10 \text{ nM}$ y con especial preferencia $\leq 100 \text{ pM}$ a aproximadamente 1 pM , medida en ensayos tales como ensayos de unión de radioligando o ensayos similares conocidos para los expertos en la técnica.

Resulta deseable modificar el anticuerpo de la invención en relación con su función efectora de manera que se potencie la eficacia del anticuerpo en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema inmune. Por ejemplo, se pueden introducir residuo(s) de cisteína en la región Fc, lo que permite la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. El anticuerpo homodimérico así generado puede presentar una mayor capacidad de internalización y/o un mayor poder de eliminación celular mediado por el complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA). (Véanse Caron et al. J. Exp. Med., 176:1191-1195 (1992) y Shopes, J. Immunol., 148:2918-2922 (1992)). De forma alternativa, se puede crear un anticuerpo que presente regiones Fc duales y pueda tener de este modo capacidades de lisis por complemento y CCDA incrementadas. (Véase Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design, 3:219-230 (1989)).

Los anticuerpos se purifican mediante técnicas conocidas, tales como cromatografía de afinidad usando proteína A o proteína G, que proporcionan principalmente la fracción IgG del suero inmunológico. Seguida o alternativamente se puede inmovilizar el antígeno específico objetivo de la búsqueda de inmunoglobulinas, o un epítipo del mismo, en una columna para purificar el anticuerpo inmuno específico por cromatografía de inmovilización de anticuerpo. La purificación de inmunoglobulinas la comenta, por ejemplo, D. Wilkinson (The Scientist, publicado por The Scientist, Inc., Filadelfia PA, vol. 14, nº 8 (17 de abril de 2000), págs. 25-28).

35

Procedimientos terapéuticos

La inflamación es inhibida por exposición, por ejemplo por contacto, de un tejido o una célula que expresa CD3 a un modulador de CD3, por ejemplo a un anticuerpo dirigido contra CD3. Una célula que expresa CD3 es, por ejemplo, un linfocito, tal como una célula T. Las células T incluyen

células T citotóxicas, células T adyuvantes (por ejemplo Th1 y Th2) y células T asesinas naturales. Los tejidos que se han de tratar incluyen un tejido gastrointestinal, por ejemplo un tejido intestinal, un tejido cardíaco, por ejemplo una vena, arteria o capilar, un tejido pulmonar, un tejido dérmico, un tejido ocular, por ejemplo el iris, el cuerpo ciliar o la coroides, o un tejido hepático.

5 Una inhibición de la inflamación se puede caracterizar por una disminución del enrojecimiento, el dolor y la hinchazón del tejido tratado, en comparación con un tejido que no ha estado en contacto con un modulador de CD3. De forma alternativa y en el caso de la uveítis, la inhibición de la inflamación se caracteriza por una mayor agudeza visual y una menor cantidad de células y turbiedad (fibrina, proteínas desnaturalizadas) en el cuerpo vítreo (es decir, la parte posterior del ojo) y la cámara anterior del ojo. Los tejidos o las células se ponen en contacto directo con un modulador de CD3. De forma alternativa, el modulador de CD3 se administra de forma sistémica. Los moduladores de CD3 se administran en una cantidad suficiente para reducir (por ejemplo inhibir) la producción de citocinas proinflamatorias. Una citocina proinflamatoria es una citocina que induce una respuesta inflamatoria. Una citocina proinflamatoria incluye, por ejemplo, interleucina (IL)-1, el factor de necrosis tumoral (TNF), IL-17, IL-8 y la proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (MIP-1 alfa). De forma alternativa, los moduladores de CD3 se administran en una cantidad suficiente para incrementar (por ejemplo promover) la producción de citocinas antiinflamatorias. Una citocina antiinflamatoria es una citocina que reduce la respuesta inmune. Más específicamente, una citocina antiinflamatoria controla la respuesta de las citocinas proinflamatorias para regular la respuesta inmune. Las citocinas antiinflamatorias incluyen, por ejemplo, el antagonista del receptor de la interleucina (IL)-1, TGF β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 e IL-13. Las citocinas se detectan, por ejemplo, en el suero, el plasma o el tejido. La producción de citocinas se mide mediante procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la producción de citocinas se determina usando un inmunoensayo específico para una citocina proinflamatoria o una citocina antiinflamatoria.

20 Una respuesta inflamatoria se evalúa morfológicamente observando daño tisular, enrojecimiento localizado, hinchazón del área afectada y células y turbiedad en el cuerpo vítreo y en la cámara anterior del ojo. De forma alternativa, una respuesta inflamatoria se evalúa midiendo la proteína c-reactiva o la IL-1 en el tejido, suero o plasma. El retorno al valor inicial del recuento de glóbulos blancos también indica una disminución de la inflamación.

30 De forma alternativa, la inflamación se reduce por exposición de un tejido o una célula que expresa CD3 a un modulador de CD3 en una cantidad suficiente para redistribuir y/o eliminar el complejo CD3-receptor de células T o el complejo CD3 en la superficie de una célula, por ejemplo de un linfocito. Por ejemplo, la célula que expresa CD3 se expone a un modulador de CD3 en una cantidad suficiente para modular, es decir, reducir el contacto célula-célula que expresa CD3. Una disminución en el nivel de expresión del TcR en la superficie celular o de su actividad en la célula significa que la cantidad o la función del TcR está reducida. Una modulación del nivel de expresión de CD3 en la superficie o de su actividad significa que la cantidad de CD3 en la superficie celular o la función de CD3 está alterada, por ejemplo reducida. La cantidad de CD3 o del TcR expresada en la membrana plasmática de la célula se reduce, por ejemplo, por internalización de CD3 o del TcR tras

el contacto de la célula con el modulador de CD3. De forma alternativa, el CD3 está enmascarado después del contacto de una célula con el modulador de CD3. La redistribución y/o eliminación del complejo CD3-receptor de células T en la superficie de una célula da como resultado una supresión inmunológica o una inmunotolerancia. La supresión inmunológica es la incapacidad de generar una respuesta inmune general a todos los antígenos, lo que da lugar a la mitigación de uno o más síntomas de un trastorno autoinmune o a una reducción de la respuesta inflamatoria. La supresión inmunológica es reversible una vez que se retire el tratamiento con el modulador de CD3. Por lo tanto, la supresión inmunológica es particularmente útil en el tratamiento o la mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio agudo. Por el contrario, la inmunotolerancia es la incapacidad de generar una respuesta inmune frente a un antígeno específico, lo que da lugar a la mitigación de uno o más síntomas de un trastorno autoinmune o a una reducción de la respuesta inflamatoria que se mantiene a largo plazo después de retirar el tratamiento. La tolerancia inmunológica se mantiene durante al menos 1 semana, 1 mes, 3 meses, 6 meses, 1 año, 2 años o 5 o más años después de retirar el tratamiento. Por lo tanto, la tolerancia inmunológica es particularmente útil en el tratamiento o la mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio crónico. Se puede lograr una tolerancia inmunológica a largo plazo bien a través de mecanismos solubles, tales como citocinas, o bien por contacto directo célula-célula, que implica, pero no se limita a, granzima A, granzima B y/o perforina.

La formación de la placa aterosclerótica en una arteria, es decir, en la pared arterial, se reduce o previene mediante la administración de un modulador de CD3 a un sujeto. La placa es una combinación de colesterol, otros materiales grasos, calcio y componentes sanguíneos que se acumulan en el revestimiento de la pared arterial. Una reducción de la placa aterosclerótica se define como una disminución del estrechamiento luminal, es decir, un ensanchamiento del lumen. El ancho luminal se mide mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como angiografía de contraste y análisis Doppler de velocidad de onda.

Los procedimientos son útiles para mitigar los síntomas de una diversidad de trastornos inflamatorios o trastornos autoinmunes. El trastorno inflamatorio es agudo o crónico. Los trastornos inflamatorios incluyen inflamación cardiovascular (por ejemplo aterosclerosis, ictus), inflamación gastrointestinal, trastornos inflamatorios hepáticos, inflamación pulmonar (por ejemplo asma, lesiones pulmonares inducidas por ventilador), inflamación renal, inflamación ocular (por ejemplo uveítis), inflamación pancreática, inflamación urogenital, trastornos neuroinflamatorios (por ejemplo esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer), alergia (por ejemplo rinitis/ sinusitis alérgica, alergias y trastornos cutáneos (por ejemplo urticaria/ sarpullido, angioedema, dermatitis atópica, dermatitis por contacto, psoriasis), alergias alimentarias, alergias a medicamentos, alergias a insectos, mastocitosis), inflamación del esqueleto (por ejemplo artritis, osteoartritis, artritis reumatoide, espondiloartropatías), infección (por ejemplo infecciones bacterianas o víricas), trastornos inflamatorios orales (es decir, periodontitis, gingivitis o estomatitis) y trasplante (por ejemplo rechazo del aloinjerto o xenoinjerto o tolerancia materno-fetal).

Las enfermedades autoinmunes incluyen, por ejemplo, el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA, que es una enfermedad vírica con un componente autoinmune), alopecia areata,

espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, la enfermedad autoinmune de Addison, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad autoinmune del oído interno (EAOI), síndrome linfoproliferativo autoinmune (SLPA), púrpura trombocitopénica autoinmune (PTA), la enfermedad de Behcet, cardiomiopatía, dermatitis herpetiforme en celíacos; síndrome de fatiga crónica y disfunción inmune (CFIDS), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC), penfigoide cicatricial, enfermedad de aglutininas frías, síndrome de CREST, la enfermedad de Crohn, la enfermedad de Degos, dermatomiositis juvenil, lupus discoide, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia/ fibromiositis, la enfermedad de Graves, el síndrome de Guillain-Barré, la tiroiditis de Hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), nefropatía por IgA, diabetes mellitus insulino dependiente, artritis crónica juvenil (enfermedad de Still), artritis reumatoide juvenil, la enfermedad de Ménière, enfermedad mixta del tejido conectivo, esclerosis múltiple, miastenia grave, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fenómeno de Raynaud, el síndrome de Reiter, fiebre reumática, artritis reumatoide, sarcoidosis, escleroderma (esclerosis sistémica progresiva (ESP), conocida también como esclerosis sistémica (ES)), el síndrome de Sjögren, el síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/ arteritis de células gigantes, colitis ulcerosa, uveítis, vitíligo y granulomatosis de Wegener.

Los procedimientos descritos en la presente memoria conducen a una reducción de la gravedad o a la mitigación de uno o más síntomas de un trastorno inflamatorio o trastorno autoinmune como los descritos en la presente memoria. La eficacia del tratamiento se determina en combinación con cualquier procedimiento conocido para el diagnóstico o el tratamiento del trastorno inflamatorio concreto. La mitigación de uno o más síntomas del trastorno inflamatorio o de la enfermedad autoinmune indica que el compuesto confiere un beneficio clínico. Los trastornos inflamatorios y los trastornos autoinmunes son diagnosticados y/o monitorizados típicamente por un médico o veterinario usando metodologías convencionales.

Uveítis

La uveítis se define como inflamación de la úvea. La úvea consta de tres estructuras: el iris, el cuerpo ciliar y la coroides. El iris es la estructura de color que rodea la pupila, visible en la parte anterior del ojo. El cuerpo ciliar es una estructura que contiene músculo y se localiza detrás del iris que enfoca el cristalino. La coroides es una capa que contiene vasos sanguíneos alineados en la parte posterior del ojo y se localiza entre la retina y la esclerótica. Los síntomas de la uveítis incluyen una agudeza visual reducida, células y turbiedad (fibrina, proteínas desnaturalizadas) en el cuerpo vítreo y en la cámara anterior del ojo y vasculitis de los vasos retinianos. El iris puede estar adherido a la cápsula del cristalino (sinequia posterior) o, con menos frecuencia, a la córnea periférica (sinequia anterior). Además, pueden ser visibles nódulos granulomatosos en el estroma del iris. La presión intraocular en el ojo afectado está reducida inicialmente debido a la hipotonía secretora del cuerpo ciliar. Sin embargo, cuando la reacción persiste, se pueden acumular productos secundarios

inflamatorios en el trabéculo. Si estos restos crecen significativamente y el cuerpo ciliar reanuda su producción secretora normal, la presión puede aumentar bruscamente, dando lugar a un glaucoma uveítico secundario.

La uveítis es diagnosticada por un médico o veterinario mediante un examen oftalmológico.

5

Vasculitis

La vasculitis es una inflamación de los vasos sanguíneos. La inflamación es un estado en el que el tejido es dañado por las células sanguíneas que penetran en los tejidos. Éstas son en su mayoría glóbulos blancos circulantes que constituyen nuestra principal defensa contra infecciones.

10

Normalmente, los glóbulos blancos destruyen bacterias y virus. Sin embargo, también pueden dañar tejido normal si lo invaden. La vasculitis puede afectar a vasos sanguíneos muy pequeños (capilares), vasos sanguíneos de tamaño medio (arteriolas o vénulas) o vasos sanguíneos grandes (arterias y venas).

15

La vasculitis puede causar muchos síntomas diferentes, dependiendo de qué tejidos estén implicados y de la gravedad del daño tisular. Algunos pacientes no están enfermos y observan manchas ocasionales en su piel. Otros están muy enfermos, con síntomas sistémicos y un importante daño orgánico. Los síntomas incluyen fiebre, malestar general, dolor muscular y articular, falta de apetito, pérdida de peso, fatiga, petequias, púrpura, áreas de piel muerta que pueden aparecer en forma de úlceras (especialmente alrededor de los tobillos), dolor en las articulaciones y una artritis franca con dolor, hinchazón y calor en las articulaciones, cefaleas, trastornos del comportamiento, confusión, ataques, ictus, entumecimiento y hormigueo. El diagnóstico de la vasculitis se basa en la historia médica de la persona, los síntomas actuales, el examen físico completo y los resultados de pruebas de laboratorio especializadas. Las anomalías sanguíneas que aparecen con frecuencia cuando existe una vasculitis incluyen una velocidad de sedimentación elevada, anemia, un recuento elevado de glóbulos blancos y un recuento elevado de plaquetas. Las pruebas sanguíneas también se pueden usar para identificar complejos inmunológicos o anticuerpos que causan vasculitis en la circulación y comprobar si los niveles del complemento son anormales.

20

25

Aterosclerosis

30

La aterosclerosis tiene como resultado la acumulación de depósitos de sustancias grasas, colesterol, productos de desecho celulares y calcio en el revestimiento interior de una arteria (es decir, la placa) y presenta un componente inflamatorio significativo. Al final, este tejido graso puede erosionar la pared de la arteria, reducir su elasticidad (flexibilidad) e interfiere con el flujo sanguíneo. Las placas también se pueden romper, generándose restos que migran corriente abajo dentro de una

35

arteria. Esto es una causa frecuente de ataques al corazón e ictus. También se pueden formar coágulos alrededor de los depósitos de placa, que interfieren adicionalmente con el flujo sanguíneo y encierran un riesgo añadido si se desprenden y viajan al corazón, los pulmones o el cerebro.

La aterosclerosis a menudo no presenta síntomas hasta que el flujo en un vaso sanguíneo se vea comprometido seriamente. Los síntomas típicos de la aterosclerosis incluyen dolor en el pecho

cuando está implicada una arteria coronaria, o dolor en la pierna cuando está implicada una arteria de la pierna. A veces los síntomas sólo aparecen durante el ejercicio. En algunas personas, sin embargo, pueden presentarse en reposo.

5 Los factores de riesgo incluyen fumar, diabetes, obesidad, alto nivel de colesterol en sangre, una dieta rica en grasas y la existencia de una historia personal o familiar de enfermedades cardíacas. Las enfermedades cerebrovasculares, la enfermedad vascular periférica, una presión arterial elevada y enfermedades renales que impliquen diálisis también son trastornos que pueden estar asociados con la aterosclerosis.

10 El documento US 6.025.477 ha mencionado antígenos indicativos de la presencia de placa aterosclerótica, el hecho de que se pueden producir anticuerpos contra ellos y que tales anticuerpos se pueden usar en el tratamiento de la aterosclerosis.

Administración terapéutica

15 La invención incluye la administración de una composición que comprende un modulador de CD3 (denominado en la presente memoria "compuesto terapéutico") a un sujeto, por ejemplo a un ser humano o un caballo.

20 La cantidad eficaz de un compuesto terapéutico se encuentra preferentemente entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 150 mg/kg. Como reconocerán los expertos en la técnica, las dosis eficaces varían en función de la vía de administración, el uso de excipientes y la coadministración junto con otros tratamientos terapéuticos, que incluyen el uso de otros agentes antiinflamatorios o agentes terapéuticos para tratar, prevenir o mitigar un síntoma de un trastorno inflamatorio concreto. Se lleva a cabo un régimen terapéutico mediante la identificación de un mamífero, por ejemplo un paciente humano o equino que padece (o presenta el riesgo de desarrollar) un trastorno inflamatorio o trastornos autoinmunes, usando procedimientos convencionales.

25 El compuesto farmacéutico se administra a un individuo de este tipo usando procedimientos conocidos en la técnica. Preferentemente, el compuesto se administra por vía oral, rectal, nasal, tópica o parenteral, por ejemplo subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e intravenosa. El compuesto se administra profilácticamente o tras detectar un episodio inflamatorio, tal como un ataque de asma o una reacción alérgica. El compuesto se formula opcionalmente como componente de un cóctel de agentes terapéuticos para el tratamiento de trastornos inflamatorios. Ejemplos de formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones acuosas del agente activo en una solución salina isotónica, una solución de glucosa al 5% u otro excipiente convencional farmacéuticamente aceptable. También se usan agentes solubilizadores convencionales, tales como PVP o ciclodextrinas, como excipientes farmacéuticos para la administración de los compuestos
35 terapéuticos.

Los compuestos terapéuticos descritos en la presente memoria se formulan en composiciones para otras vías de administración usando procedimientos convencionales. Por ejemplo, un compuesto terapéutico inhibidor se formula en una cápsula o un comprimido para administración oral. Las cápsulas pueden contener cualquier material convencional

farmacéuticamente aceptable, tal como gelatina o celulosa. Los comprimidos se pueden formular de acuerdo con procedimientos convencionales por compresión de mezclas de un compuesto terapéutico con un vehículo sólido y un lubricante. Ejemplos de vehículos sólidos incluyen almidón, azúcar y bentonita. El compuesto se administra en forma de comprimido con cubierta dura o de cápsula que contiene un aglutinante, por ejemplo lactosa o manitol, una carga convencional y un agente de compresión. Otras formulaciones incluyen pomada, supositorio, pasta, aerosol, parche, crema, gel, esponja absorbible o espuma. Tales formulaciones se producen usando procedimientos conocidos en la técnica.

Los compuestos terapéuticos son eficaces cuando el compuesto se pone en contacto directo con el tejido afectado. Por consiguiente, el compuesto se administra por vía tópica. Por ejemplo, para tratar la dermatitis por contacto, el compuesto se aplica sobre el área cutánea afectada. De forma alternativa, el compuesto terapéutico se administra de forma sistémica. Además, los compuestos se administran implantando (bien directamente en un órgano, tal como el intestino o el hígado, o bien por vía subcutánea) una matriz sólida o absorbible que libera lentamente el compuesto a los tejidos adyacentes y circundantes del sujeto.

Por ejemplo, para el tratamiento de trastornos inflamatorios gastrointestinales, el compuesto se administra de forma sistémica o se administra de forma local directamente en el tejido gástrico. El compuesto para la administración sistémica se administra por vía intravenosa, rectal u oral. Para la administración local se pone una almohadilla o esponja absorbible impregnada con el compuesto en contacto directo con el tejido gástrico. El compuesto o mezcla de compuestos se libera lentamente *in vivo* por difusión del fármaco desde la almohadilla y erosión de la matriz polimérica.

La inflamación del hígado (es decir, la hepatitis) se trata, por ejemplo, infundiendo en la vasculatura hepática una solución que contiene el compuesto. Una infusión o lavado intraperitoneal es útil para reducir la inflamación intraperitoneal generalizada o prevenir la inflamación después de una intervención quirúrgica.

Para el tratamiento de una inflamación neurológica el compuesto se administra por vía intravenosa o intratecal (es decir, por infusión directa en el líquido cerebroespinal). Para la administración local se pone una almohadilla o una esponja absorbible impregnada con el compuesto en contacto directo con el tejido del SNC. El compuesto o mezcla de compuestos se libera lentamente *in vivo* por difusión del fármaco desde la almohadilla y erosión de la matriz polimérica. De forma alternativa, el compuesto se infunde en el cerebro o el líquido cerebroespinal usando procedimientos conocidos. Por ejemplo, se coloca en el orificio de trepanación un anillo con un catéter para el uso como puerto de inyección para sujetar el cráneo en un orificio de trepanación taladrado en el cráneo. Mediante una aguja o estilete insertado a través de un septo colocado sobre la parte superior del anillo del orificio de trepanación se accede a un reservorio de líquido conectado al catéter. Un ensamblaje de catéter (por ejemplo el ensamblaje descrito en la patente de Estados Unidos nº 5,954,687) proporciona una vía de flujo para líquidos adecuada para la transferencia de líquidos hacia o desde un lugar seleccionado junto, próximo o dentro del cerebro, para permitir la administración del fármaco durante un periodo de tiempo.

Para el tratamiento de una inflamación cardíaca el compuesto se administra, por ejemplo, al tejido cardíaco por inyección intracoronaria directa a través de la pared torácica o usando procedimientos convencionales basados en cateterismo percutáneo bajo guiado fluoroscópico para la inyección directa en un tejido, tal como el miocardio, o infusión de un inhibidor desde una prótesis vascular o catéter insertado en un lumen corporal. Para la administración del compuesto se usa cualquier variedad de catéter coronario o un catéter de perfusión. De forma alternativa, se recubre o impregna con el compuesto una prótesis vascular colocada en un vaso coronario.

Una inflamación pulmonar se trata, por ejemplo, administrando el compuesto por inhalación. Los compuestos se administran en forma de aerosol desde un recipiente o dispensador a presión que contiene un propelente adecuado, por ejemplo un gas tal como dióxido de carbono o un nebulizador.

Una inflamación ocular se trata, por ejemplo, administrando el compuesto por vía tópica en el ojo. Los compuestos se administran, por ejemplo, en forma de gel, líquido o pomada. Las pomadas, geles o líquidos para la administración en gotas se pueden administrar mediante sistemas de administración ocular conocidos en la técnica, tales como aplicadores o cuentagotas. De forma alternativa, los compuestos se administran mediante un implante polimérico colocado debajo de la conjuntiva del ojo. Los compuestos opcionalmente se administran de forma sistémica.

La vasculitis se trata a través de una vía específica para el área afectada. En general, la vasculitis se trata de forma sistémica por administración intravenosa del modulador de CD3.

Los moduladores de CD3 también se administran en combinación con uno o más compuestos terapéuticos adicionales, tales como un agente antiinflamatorio o un agente inmunosupresor. Por ejemplo, el modulador de CD3 se administra en combinación con cualquiera de las diversas terapias conocidas para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y/o trastornos inflamatorios. Las terapias conocidas adecuadas para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y/o trastornos inflamatorios para el uso con los procedimientos de la invención incluyen, pero no se limitan a, metotrexato, ciclosporina A (que incluye, por ejemplo, una microemulsión de ciclosporina y tacrolimus), corticosteroides, estatinas, interferón beta, agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARME). El agente terapéutico adicional se administra antes, después o junto con la administración de un modulador de CD3.

El efecto beneficioso de la combinación incluye, pero no se limita a, la acción farmacocinética o farmacodinámica conjunta resultante de la combinación de agentes terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos combinados se lleva a cabo típicamente durante un periodo de tiempo definido (habitualmente durante minutos, horas, días o semanas, dependiendo de la combinación seleccionada). La "terapia combinada" puede comprender, aunque generalmente no lo hace, la administración de dos o más de estos agentes terapéuticos como parte de regímenes monoterapéuticos separados que incidental y arbitrariamente dan como resultado las combinaciones de la presente invención. La "terapia combinada" pretende abarcar la administración de estos agentes terapéuticos de manera sucesiva, es decir que cada agente terapéutico se administra en un

momento diferente, así como la administración de estos agentes terapéuticos, o de al menos dos de estos agentes terapéuticos, de manera sustancialmente simultánea. La administración sustancialmente simultánea se puede lograr, por ejemplo, administrando al sujeto una cápsula única que presenta una relación fija de cada agente terapéutico, o múltiples cápsulas únicas para cada uno de los agentes terapéuticos.

Los agentes terapéuticos se pueden administrar por la misma vía o por vías diferentes. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada se puede administrar por inyección intravenosa, mientras que los demás agentes terapéuticos de la combinación se pueden administrar por vía oral. De forma alternativa, por ejemplo, se pueden administrar todos los agentes terapéuticos por vía oral o se pueden administrar todos los agentes terapéuticos por inyección intravenosa. La secuencia en la que se administran los agentes terapéuticos no es muy crítica. La "terapia combinada" también puede abarcar la administración de los agentes terapéuticos como se ha descrito anteriormente en combinación con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (por ejemplo cirugía o radioterapia). Cuando la terapia combinada comprende adicionalmente un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico se puede efectuar en cualquier momento adecuado, siempre que se obtenga un efecto beneficioso de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en ciertos casos, el efecto beneficioso aún se obtiene cuando el tratamiento no farmacológico se retira temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, tal vez durante días o incluso semanas.

Para evaluar si un paciente se beneficia de la administración de un anticuerpo dirigido contra CD3, solo o en combinación, se deberán examinar cuantitativamente los síntomas y/o la respuesta inmune del paciente y comparar los síntomas y/o la respuesta inmune del paciente antes y después del tratamiento con el anticuerpo. Por ejemplo, un síntoma de un paciente se puede determinar midiendo un síntoma concreto o un conjunto de síntomas en un paciente antes y después del tratamiento con un anticuerpo dirigido contra CD3. Por ejemplo, se pueden medir y seguir síntomas tales como fiebre, dolor articular, debilidad muscular, usando cualquiera de las técnicas de medición convencionales conocidas en la técnica. Si el tratamiento tiene éxito, el estado del paciente mejorará (es decir, el número medido habrá descendido o el tiempo transcurrido hasta la progresión sostenida habrá aumentado).

Por ejemplo, en el tratamiento de la uveítis, los anticuerpos dirigidos contra CD3 se pueden administrar junto con, por ejemplo, corticosteroides, metotrexato, ciclosporina A, ciclofosfamida y/o estatinas. Del mismo modo, los pacientes que sufren una enfermedad tal como la enfermedad de Crohn o psoriasis se pueden tratar con una combinación de un anticuerpo dirigido contra CD3 de la invención y Remicade (infliximab) y/o Humira (adalimumab).

En el tratamiento de la artritis reumatoide los anticuerpos dirigidos contra CD3 se coadministran con corticosteroides, metotrexato, ciclosporina A, estatinas, Remicade (infliximab), Enbrel (etanercept) y/o Humira (adalimumab).

Los pacientes con esclerosis múltiple pueden recibir una combinación dirigida contra CD3

con, por ejemplo, acetato de glatiramer (Copaxone), interferón beta-1a (Avonex), interferón beta-1a (Rebif), interferón beta-1b (Betaseron o Betaferon), mitoxantrona (Novantrone), dexametasona (Decadron), metilprednisolona (Depo-Medrol) y/o prednisona (Deltasone) y/o estatinas.

5 A los pacientes con diabetes tipo I o diabetes autoinmune latente en el adulto (DALA) también se les administra un segundo agente, como, por ejemplo, GLP-1 o un compuesto que detiene las células beta (es decir, un compuesto que reduce o inhibe de otro modo la liberación de insulina, como los compuestos que abren los canales de potasio).

10 Además, los moduladores de CD3 se administran al paciente de forma profiláctica (es decir, antes de que aparezca una enfermedad autoinmune y/o un trastorno inflamatorio) o terapéutica (es decir, en el curso de una enfermedad autoinmune y/o un trastorno inflamatorio).

15 En los procedimientos de la invención los moduladores se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un modulador de CD3 se refiere a la cantidad necesaria para lograr un objetivo terapéutico, tal como el tratamiento de una enfermedad autoinmune y/o un trastorno inflamatorio o la mitigación de un síntoma asociado con una enfermedad autoinmune y/o un trastorno inflamatorio.

20 Todas las publicaciones y documentos de patente citados en la presente memoria se incorporan en ella por referencia, como si se hubiera indicado específica e individualmente para cada publicación o documento su incorporación en la presente memoria por referencia. La mención de publicaciones y documentos de patente no significa el reconocimiento de que todo pertenece a la técnica anterior, ni supone reconocimiento alguno en cuanto al contenido o fecha del mismo. Habiendo descrito ahora la invención por medio de una descripción escrita, los expertos en la técnica reconocerán que la invención se puede llevar a la práctica en una diversidad de realizaciones, y que la descripción anterior y los ejemplos siguientes sirven de ilustración y no de limitación de las reivindicaciones que siguen.

25

EJEMPLOS

EJEMPLO DE REFERENCIA 1: Anticuerpos dirigidos contra CD3 en el tratamiento de la uveítis

30 Los anticuerpos dirigidos contra CD3 de la descripción incluyen cualquiera de los diversos anticuerpos monoclonales (Acm) que reconocen CD3, como, por ejemplo, OKT3, SP34, UCHT1 o 64.1. (Véanse, por ejemplo, June et al., J. Immunol. 136:3945-3952 (1986); Yang et al., J. Immunol. 137:1097-1100 (1986); y Hayward et al., Immunol. 64:87-92 (1988)).

35 Se ensayó un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra CD3 de rata purificado (BD Pharmingen), denominado anticuerpo G4.18, en un modelo inducible de uveítis en rata, como se describe, por ejemplo, en Wildner G, Diedrichs-Mohring M, Thureau SR, Eur. J. Immunol. 32(1):199-306 (2002); y en Wildner G, Diedrichs-Mohring M, Int. Immunol. 15(8):927-35 (2003). El anticuerpo G4.18 reacciona con el antígeno CD3 de la superficie celular asociado con el receptor de células T que se encuentra en timocitos, linfocitos T periféricos y células T epidérmicas dendríticas. (Véanse, por ejemplo, Nicolls M.R. et al., Transplantation 55:459-468 (1993); Nelson, D.J. et al., J. Exp. Med. 179: 203-212 (1994); Morris D.L. y W.J. Komocsar, J. Pharmacol. Toxicol. Methods 37: 37-46 (1997).

5 Para evaluar los efectos de la terapia dirigido contra CD3 en la uveítis se indujo una uveítis autoinmune experimental (UAE) en las ratas usando un proceso de transferencia intraperitoneal (i.p.) de células T. En particular, el día 0 las ratas Lewis hembra (aproximadamente 140 g de peso cada una), n = 3 ratas/grupo, recibieron una inyección i.p. de $2,4 \times 10^6$ células L37 transfectadas con PDSAg-2/3 derivado del autoantígeno retiniano antígeno S (AgS).

10 Las ratas recibieron 30 minutos antes y en los días 1, 2 y 3 después de la transferencia de células T transgénicas para inducir la UAE inyecciones i.p. de 300 μ l de una solución salina tamponada con fosfato (PBS) (grupo 1) o anticuerpo G4.18 en 300 μ l de PBS (grupo 2). Cada grupo de ratas se siguió diariamente en busca de indicios clínicos de uveítis. Los criterios de clasificación clínica usados en la presente memoria sólo consideraron inflamación en la parte anterior del ojo clasificada usando un oftalmoscopio, como se describe, por ejemplo, en de Smet et al., J. Autoimmun., vol. 6: 587 (1993). Los criterios de clasificación clínica usados en los experimentos descritos en la presente memoria se muestran a continuación en la tabla A:

Tabla A: Criterios de clasificación clínica

Clasificación	Descripción
0,5	vasos del iris dilatados, infiltrados inflamatorios parciales en el borde del iris y cámara anterior neblinosa
1,0	infiltración circular completa del borde del iris
2,0	área de la pupila completamente llena de células y fibrina
3,0	formación de hipopión*
4,0	cámara anterior completamente llena de células, fibrina y sangre
*hipopión = sedimentación de leucocitos en el fondo de la cámara anterior; es decir, pus blanco	

15 El día 12 se terminó el experimento y se efectuó una evaluación histológica de la destrucción de la retina en cada rata. Los criterios histológicos descritos en la presente memoria sólo consideraron la destrucción de la retina, valorada en criosecciones el día 9 después del tratamiento, como se describe, por ejemplo, en de Smet et al., J. Autoimmun., vol. 6:587 (1993). Los criterios de clasificación histológica usados en los experimentos descritos en la presente memoria se muestran a continuación en la tabla B:

20

Tabla B: Criterios de clasificación histológica

Clasificación	Descripción
0,0	No hay evidencias de enfermedad inflamatoria
0,5	<ul style="list-style-type: none"> · Indicios de inflamación, la arquitectura de la retina está básicamente intacta · Infiltración de células inflamatorias en la retina sin evidencias de destrucción tisular, o daño de los segmentos externos de los fotorreceptores inferior a ¼ de la retina · Infiltración monocítica no granulomatosa focal en coroides, cuerpo ciliar y retina
1,0	<ul style="list-style-type: none"> · Daño de los segmentos externos de los fotorreceptores \geq ¼ de la retina · Áreas focales de destrucción con derrame marcado de fotorreceptores · Infiltración perivascular retiniana e infiltración monocítica en el cuerpo vítreo
2,0	<ul style="list-style-type: none"> · Lesión que se extiende hasta la capa nuclear externa y en \geq ¼ de la retina · Ligeramente desprendimiento exudativo de retina · Cantidad pequeña a moderada de células en el cuerpo vítreo · Formación de granuloma en la úvea y la retina · Vasculitis retiniana oclusiva junto con desprendimiento seroso de retina y pérdida de fotorreceptores
3,0	<ul style="list-style-type: none"> · Lesiones que se extienden hasta la capa nuclear interna y en \geq ¼ de la retina · La arquitectura retiniana comienza a perderse, importante desprendimiento exudativo de retina, cantidad moderada a grande de células en el cuerpo vítreo · Formación de nódulos de Dalen-Fuchs y desarrollo de neovascularización subretiniana
4,0	<ul style="list-style-type: none"> · Daño de la retina en todo su grosor en ¼ de la retina · Destrucción total de la arquitectura retiniana

5 Los signos clínicos de la uveítis comenzaron a aparecer el día 3 del experimento descrito en la presente memoria. La Fig. 1 es un gráfico que representa los efectos clínicos e histológicos (determinados usando los criterios de clasificación descritos anteriormente en las tablas A y B) sobre la progresión de la uveítis en ratas que recibieron PBS (es decir, el grupo 1) y ratas que recibieron el anticuerpo dirigido contra CD3 (es decir, el grupo 2). Los resultados presentados en la presente memoria se expresan como media de las puntuaciones máximas de todos los ojos del grupo en todo

el tiempo de observación.

EJEMPLO 2: Anticuerpos dirigidos contra CD3 en el tratamiento de la aterosclerosis

5 Los efectos de los anticuerpos dirigidos contra CD3 en el tratamiento de la aterosclerosis se evaluaron usando un anticuerpo de hámster dirigido contra CD3 de ratón. Los experimentos descritos en la presente memoria se diseñaron para evaluar el efecto de la terapia dirigida contra CD3 en el desarrollo de placas ateroscleróticas, así como el efecto de la terapia dirigida contra CD3 en la progresión de lesiones ateroscleróticas establecidas.

10 Para evaluar los efectos de la terapia dirigida contra CD3 se usó una línea celular productora de fragmentos F(ab')₂ del anticuerpo monoclonal 145 2C11 de hámster que se une a CD3 ϵ de ratón (es decir, a la cadena épsilon del complejo CD3 murino). Se usaron ratones LDLR^{-/-}-C57BL/6 macho de 10 semanas de edad como modelo de aterosclerosis *in vivo*. Para el análisis histológico y del desarrollo de placa aterosclerótica, así como para el análisis de la proliferación y de citocinas, los ratones de la camada se alimentaron con una dieta rica en colesterol (1,25% de colesterol, 0% de colato) durante 13 semanas o 24 semanas. Se administró anti-CD3 F(ab')₂ (50 μ g/ratón/día) por vía intravenosa (i.v.) durante 5 días consecutivos, comenzando 1 semana antes (n = 5) (es decir, para evaluar el efecto del anticuerpo dirigido contra CD3 en el desarrollo de placas ateroscleróticas) o 13 semanas (n = 9) después de iniciar la dieta rica en colesterol (es decir, para evaluar el efecto del anticuerpo anti-CD3 en la progresión de lesiones ateroscleróticas establecidas). A los ratones de control (n = 5 para la dieta de 13 semanas; n = 6 para la dieta de 24 semanas) se les inyectó en paralelo PBS.

25 Las lesiones ateroscleróticas en la aorta torazo-abdominal y el seno aórtico se analizaron mediante tinción con Sudán IV para la deposición de lípidos (Figs. 2 y 3). Se calculó para cada raíz aórtica la deposición lipídica media de 6 secciones (5 μ m) separadas 50 μ m entre sí. La cuantificación de la deposición lipídica se realizó mediante un análisis de generación de imágenes por ordenador usando el software MetaMorph6 (Zeiss). Los resultados presentados en la presente memoria se expresan como media \pm error típico de la media. Se consideraron significativas las diferencias entre los valores a P < 0,05, usando la prueba T de Student de dos colas.

30 Como se muestra en la Fig. 2, la terapia dirigida contra CD3 inhibió el desarrollo de la placa aterosclerótica en los ratones. Además, la Fig. 3 demuestra que la terapia dirigida contra CD3 también redujo (es decir, inhibió) la progresión del desarrollo de la placa aterosclerótica en lesiones establecidas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un anticuerpo dirigido contra CD3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio en un sujeto, siendo dicho trastorno inflamatorio la aterosclerosis.
2. Uso según la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- 10 3. Uso según la reivindicación 2, en el que dicho anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoclonal totalmente humano.
4. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es para el tratamiento de un ser humano o de un équido.
- 15 5. Uso según la reivindicación 1, en el que dicho tratamiento o mitigación de un síntoma comprende adicionalmente la administración de un agente antiinflamatorio o un agente inmunosupresor a dicho sujeto.
- 20 6. Uso según la reivindicación 5, en el que dicho agente antiinflamatorio o agente inmunosupresor es un corticosteroide, una estatina, interferón beta, un agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE), metotrexato, ciclosporina A o un fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FARME).
- 25 7. Uso según la reivindicación 6, en el que la ciclosporina A es una microemulsión de ciclosporina o tacrolimus.
8. Uso de un anticuerpo dirigido contra CD3 para la preparación de un medicamento para reducir la formación de la placa aterosclerótica en una arteria.
- 30 9. Uso según la reivindicación 8, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
10. Uso según la reivindicación 9, en el que dicho anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoclonal totalmente humano.
- 35 11. Uso de un anticuerpo dirigido contra CD3 para la preparación de un medicamento para la inhibición de una inflamación tisular, en el que dicho medicamento se ha de administrar de manera que esté en contacto directo con un tejido inflamado y en el que dicho tejido es un tejido vascular.
12. Uso según la reivindicación 11, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

13. Uso según la reivindicación 12, en el que dicho anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoclonal totalmente humano.

5 14. Anticuerpo dirigido contra CD3 para el uso en el tratamiento o la mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio, en el que dicho trastorno inflamatorio es la aterosclerosis.

15. Anticuerpo dirigido contra CD3 para el uso en la reducción de la formación de la placa aterosclerótica en una arteria.

10

16. Anticuerpo dirigido contra CD3 para el uso en la inhibición de la inflamación tisular, en el que dicho tejido es un tejido vascular y en el que dicho tejido se expone a dicho anticuerpo dirigido contra CD3.

15 17. Anticuerpo dirigido contra CD3 según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

18. Anticuerpo dirigido contra CD3 según la reivindicación 17, en el que dicho anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monoclonal totalmente humano.

20

19. Anticuerpo dirigido contra CD3 según la reivindicación 14, en el que dicho tratamiento o mitigación de un síntoma de un trastorno inflamatorio comprende adicionalmente la administración de un agente antiinflamatorio o un agente inmunosupresor al sujeto.

Figura 1

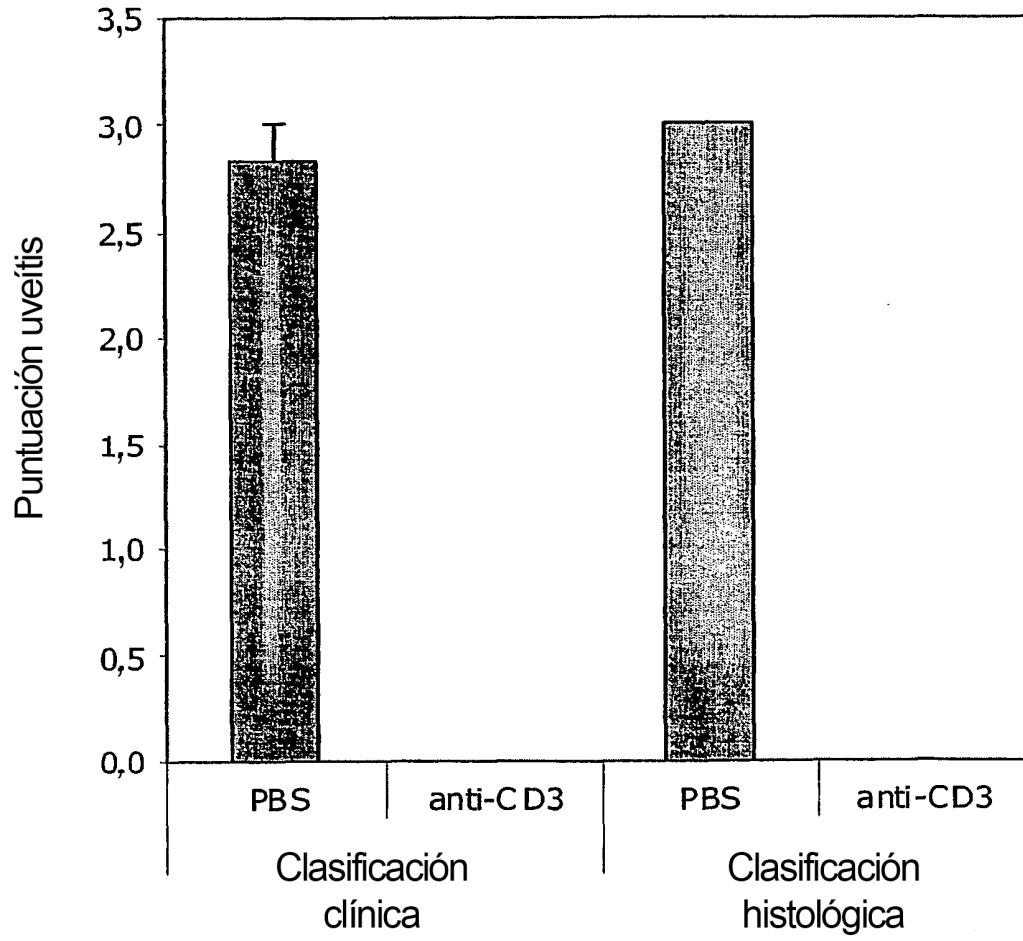


Figura 2

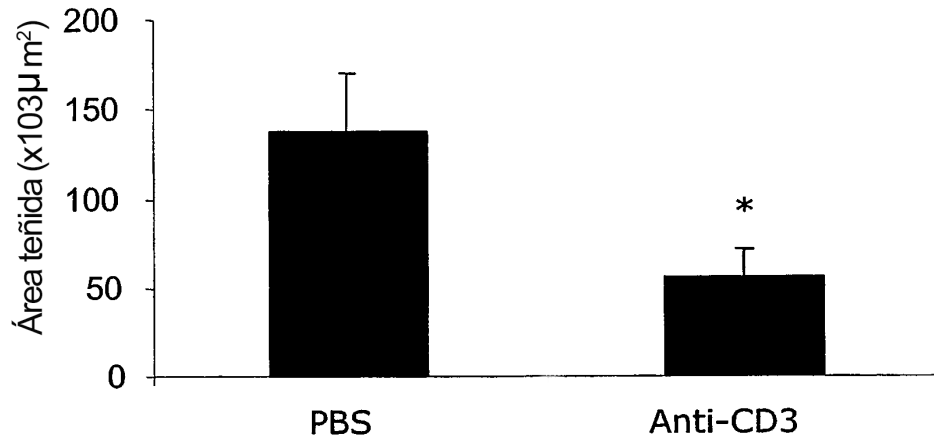


Figura 3

