

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 564**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/00 (2006.01)

C07K 14/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.05.2006 E 06759489 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2013 EP 1885388**

54 Título: **Tratamiento y evaluación de trastornos inflamatorios**

30 Prioridad:

10.05.2005 US 679518 P

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

04.12.2013

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BURKLY, LINDA C. y
ZHENG, TIMOTHY**

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 432 564 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

Tratamiento y evaluación de trastornos inflamatorios

5 ANTECEDENTES

[0001] Las citoquinas relacionadas con el factor de necrosis tumoral (TNF) son una superfamilia de proteínas que tienen una variedad de funciones entre las que se incluyen aquellas implicadas en la regulación inmunitaria y en la regulación de la apoptosis. Entre los ejemplos de miembros de la superfamilia del TNF se incluyen TNF- α y TWEAK (inductor débil de apoptosis similar a TNF). Se ha demostrado que TWEAK desencadena la liberación de citoquinas proinflamatorias en fibroblastos dérmicos y sinoviocitos y este efecto puede reducirse mediante anticuerpos frente a TWEAK. Chicheportiche y col., Arthritis Res 2002, 4:126- 133.

15 RESUMEN

[0002] Como se describe con más detalle a continuación, las rutas de TWEAK y TNF- α funcionan de forma independiente para mediar en los aspectos de la inflamación. El bloqueo de ambas rutas de señalización molecular moduladas por TWEAK y TNF- α puede usarse para tratar diversos trastornos inflamatorios. A continuación se describen ejemplos de dichos tratamientos. La presente invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas.

[0003] En un aspecto, la descripción se caracteriza por i) un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R, seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R y II) un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de TNF- α o un TNF- α -R, seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R, para su uso en un procedimiento de tratamiento de un sujeto para un trastorno inflamatorio. En una realización preferida, el trastorno inflamatorio es un trastorno artrítico, p. ej., artritis reumatoide, artritis psoriásica o síndrome de Sjögren. El uso incluye: administrar a un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, que sufre o está en riesgo de sufrir el trastorno, por ejemplo, artritis reumatoide, el agente bloqueante de TWEAK en combinación con el agente bloqueante de TNF- α . El agente bloqueante de TWEAK y el agente bloqueante de TNF- α pueden administrarse en cantidades y durante un tiempo para proporcionar un efecto terapéutico, por ejemplo, un efecto terapéutico general. El efecto puede ser aditivo o, en algunos casos, sinérgico. Por ejemplo, el efecto de ambos agentes bloqueantes puede ser un efecto total mayor que la suma de los efectos individuales, por ejemplo, en un sujeto en particular.

[0004] Pueden administrarse a un sujeto diversos agentes bloqueantes de TWEAK para bloquear una interacción o actividad de TWEAK o de un TWEAK-R. Un «agente bloqueante de TWEAK» se refiere a un agente (p. ej., cualquier compuesto, como un anticuerpo o una forma soluble del receptor de TWEAK) que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R. Por ejemplo, el agente inhibe al menos parcialmente una actividad, por ejemplo, la unión de TWEAK a un TWEAK-R, o el agente al menos inhibe parcialmente un ácido nucleico que codifica TWEAK o TWEAK-R, por ejemplo, para reducir la expresión de TWEAK o TWEAK-R.

[0005] En una realización, el agente reduce la capacidad de TWEAK para unirse a un receptor TWEAK, por ejemplo, Fn14. El agente puede ser un anticuerpo bloqueante que se une a TWEAK o a Fn14. El anticuerpo puede ser una IgG de longitud completa. En una realización, el anticuerpo es humano, humanizado y eficazmente humano. En una realización, el anticuerpo bloqueante de TWEAK compite con AB.D3 (un anticuerpo con número de acceso de la ATCC N.º HB-12622) por la unión a TWEAK, es un anticuerpo AB.D3 humanizado que comprende al menos dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR de AB.D3 (o CDR que sean al menos el 85, 90, 92, 95 o 97% idénticas en general con estas CDR) y/o comprende dominios variables del anticuerpo AB.D3 (o uno o más dominios variables que son al menos el 85, 90, 92, 95 o 97% idénticos en general con dichos dominios variables).

[0006] En una realización, el agente es una forma soluble de un receptor de TWEAK, por ejemplo, un receptor de TWEAK humano como Fn14. La forma soluble del receptor de TWEAK puede fusionarse con una región Fc de un anticuerpo (p. ej., una región Fc humana). Por ejemplo, la forma soluble del receptor de TWEAK incluye una secuencia al menos el 95% idéntica a los aminoácidos 28-X₁ de SEQ ID NO: 2, donde el aminoácido X₁ se selecciona entre el grupo de restos 68 a 80 de SEQ ID NO:2.

[0007] Pueden administrarse diversos agentes bloqueantes de TNF- α a un sujeto para bloquear una interacción o actividad de TNF- α o un receptor de TNF- α , por ejemplo, TNFR-I o TNFR-II. Un «agente bloqueante de TNF- α » se refiere a un agente (p. ej., cualquier compuesto, como un anticuerpo o forma soluble de un receptor de TNF- α) que al menos inhibe parcialmente una interacción o actividad de TNF- α o un receptor de TNF- α . Por ejemplo, el agente inhibe al menos parcialmente una actividad, por ejemplo, la unión del TNF- α a un receptor de TNF- α , o el agente inhibe al menos parcialmente un ácido nucleico que codifica TNF- α o un receptor de TNF- α , por ejemplo, para reducir la expresión de TNF- α o de la proteína receptor de TNF- α .

[0008] En una realización, el agente bloqueante de TNF- α reduce la capacidad de TNF- α para unirse a un

receptor de TNF- α . Por ejemplo, el agente bloqueante de TNF- α incluye un anticuerpo que se une a TNF- α , TNFR-I o TNFR-II. Entre los ejemplos de anticuerpos se incluyen infliximab o adalimumab. El agente bloqueante de TNF- α puede incluir una forma soluble de un receptor de TNF- α y, opcionalmente, un dominio Fc. Por ejemplo, el agente bloqueante de TNF- α es etanercept.

[0009] Según se usa en este documento, «administrado en combinación» significa que dos o más agentes (p. ej., el agente bloqueante de TWEAK y el agente bloqueante de TNF- α) se administran a un sujeto al mismo tiempo o dentro de un intervalo, de modo que se produzca un solapamiento del efecto de cada agente sobre el paciente. Preferiblemente las administraciones del primer y segundo agente se realizan suficientemente cercanas de modo que se consiga un efecto combinatorio. El intervalo puede ser un intervalo de horas, días o semanas. En general, los agentes están biodisponibles de forma concurrente, por ejemplo, detectables, en el sujeto. En una realización preferida, al menos una administración de uno de los agentes, por ejemplo, el primer agente (p. ej., agente bloqueante de TNF- α) se realiza mientras que el otro agente, por ejemplo, el agente bloqueante de TWEAK, sigue estando presente a nivel terapéutico en el sujeto.

[0010] En una realización, el agente bloqueante de TWEAK se administra entre una administración más temprana o una posterior del agente bloqueante de TNF- α . En otras realizaciones, el agente bloqueante de TNF- α se administra entre una administración más temprana y otra posterior del agente bloqueante de TWEAK. En una realización preferida, al menos una administración de uno de los agentes, p. ej., el agente bloqueante de TNF- α , se hace a los 1, 7, 14, 30 o 60 días del otro agente, por ejemplo, el agente bloqueante de TWEAK.

[0011] En una realización, antes de la administración del agente bloqueante de TWEAK y del agente bloqueante de TNF- α , el sujeto ha recibido el agente bloqueante de TWEAK o el agente bloqueante de TNF- α , pero no el otro. El sujeto puede haber presentado una respuesta que no alcanzó un umbral predeterminado, p. ej., una estabilización o reducción de una puntuación de Sharp total o una puntuación de erosión de Sharp. En otra realización, el sujeto puede ser uno al que no se le haya administrado previamente el agente bloqueante de TNF- α ni el agente bloqueante de TWEAK durante al menos 3 meses (p. ej., al menos 6 meses, 9 meses o un año previo) antes de que se administren el primer y el segundo agente en combinación.

[0012] En una implementación, el agente bloqueante de TWEAK y el agente bloqueante de TNF- α se proporcionan como una formulación conjunta, y la formulación conjunta se administra al sujeto. Si además se posible, por ejemplo, al menos 24 horas antes o después de la administración de la formulación conjunta, administrar uno de los agentes independientemente del otro. En otra implementación, los agentes se proporcionan como formulaciones independientes y el paso de administración incluye la administración secuencial de los agentes. Las administraciones secuenciales pueden proporcionarse el mismo día (p. ej., con una diferencia de una hora entre ambas o al menos con 3, 6 o 12 horas de diferencia) o en días diferentes.

[0013] Generalmente, el agente bloqueante de TWEAK y el agente bloqueante de TNF- α se administran cada uno como diversas dosis separadas en el tiempo, por ejemplo, según una pauta posológica. La pauta para uno o ambos agentes puede tener una periodicidad regular. La pauta para el agente bloqueante de TNF- α puede tener una periodicidad diferente de la pauta del agente bloqueante de TWEAK, por ejemplo, uno puede administrarse con mayor frecuencia que el otro. Los agentes pueden administrarse mediante cualquier procedimiento apropiado, por ejemplo, por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa. Pueden administrarse al sujeto dosis del agente bloqueante de TNF- α y dosis del agente bloqueante de TWEAK durante más de 14 semanas, más de seis o nueve meses, más de 1, 1,5 o 2 años.

[0014] En algunas realizaciones, cada uno de los agentes se administra aproximadamente a la misma dosis que la dosis utilizada para monoterapia. En otras realizaciones, el agente bloqueante de TNF- α se administra a una dosis que es igual o menor que la cantidad requerida para mostrar eficacia si se administra solo (p. ej., al menos el 10, 20, 30 o 40% menor). Así mismo, el agente bloqueante de TWEAK puede administrarse a una dosis que es igual o menor que una cantidad requerida para mostrar eficacia si se administra solo (p. ej., al menos el 10, 20, 30 o 40% menor). Por ejemplo, en algunas realizaciones en las que el sujeto ha recibido previamente el agente bloqueante de TNF- α , se administra al sujeto una dosis reducida del agente bloqueante de TNF- α después de recibir el agente bloqueante de TWEAK (en relación con la dosis del agente bloqueante de TNF- α recibida la primera vez antes del agente bloqueante de TWEAK). Puede usarse el mismo agente bloqueante de TNF- α , o un agente diferente, en la combinación como se usó en la monoterapia previa.

[0015] Pueden evaluarse en un sujeto después de recibir el primero y el segundo agente, por ejemplo, los indicios de respuesta. Un experto en la material puede utilizar diversos indicios clínicos o de otro tipo de la eficacia del tratamiento. Puede controlarse al sujeto en diversos momentos durante una pauta posológica.

[0016] En una realización, el agente bloqueante de TWEAK y el agente bloqueante de TNF- α se administran en cantidades eficaces para inhibir los efectos colectivos de TWEAK y TNF- α , rutas en células que generan señales inflamatorias, por ejemplo, sinoviocitos, condrocitos, osteoclastos, osteoblastos, fibroblastos dérmicos, monocitos, macrófagos o células endoteliales. Los agentes pueden administrarse en cantidades eficaces para reducir la transcripción de un conjunto de genes inducidos por TWEAK y TNF- α en estas células, por ejemplo para reducir la

transcripción de genes activados de forma sinérgica por TWEAK y TNF- α , por ejemplo, uno o más de los genes enumerados en la tabla 1 en sinoviocitos, condrocitos, osteoclastos u osteoblastos.

5 **[0017]** En algunas realizaciones, el agente bloqueante de TWEAK se administra en una cantidad que es al menos el 20, 30, 50, 60 o 70% menor que las dosis convencionales en el caso de monoterapia con agente bloqueante de TWEAK (o un tratamiento con un agente bloqueante de TWEAK en ausencia de agente bloqueante de TNF- α) para tratar a un sujeto adulto de artritis reumatoide. Por ejemplo, el agente bloqueante de TWEAK se administra en una cantidad menor que la requerida para que sea eficaz como monoterapia.

10 **[0018]** En algunas realizaciones, el agente bloqueante de TNF- α se administra en una cantidad que es al menos el 20, 30, 50, 60 o 70% menor que las dosis convencionales en el caso de monoterapia con agente bloqueante de TNF- α (o un tratamiento con un agente bloqueante de TNF- α en ausencia de agente bloqueante de TWEAK) para tratar a un sujeto adulto de artritis reumatoide. Por ejemplo, el agente bloqueante de TNF- α se administra en una cantidad menor que la requerida para que sea eficaz como monoterapia. En otras realizaciones, el agente bloqueante de TNF- α y el agente bloqueante de TWEAK se administran en la misma dosis que se usa en monoterapia.

15 **[0019]** Por ejemplo, el sujeto no está recibiendo metotrexato. En una realización, el sujeto no está recibiendo ningún otro fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FARME), es decir, distinto al agente bloqueante de TWEAK y al agente bloqueante de TNF- α .

20 **[0020]** Las cantidades pueden ser suficientes como para dar lugar a una reducción estadísticamente significativa del daño articular según se determina mediante la puntuación de erosión de Sharp. Por ejemplo, puede controlarse al sujeto en uno o más casos para un parámetro indicativo de la enfermedad.

25 **[0021]** El procedimiento puede incluir la evaluación de (p. ej., controlando una vez o varias veces, p. ej., de forma periódica) por ejemplo, los síntomas del trastorno o indicios del grado de la gravedad del trastorno. Por ejemplo, en el caso de la artritis reumatoide, es posible utilizar la puntuación total de Sharp (TSS), la puntuación de la erosión de Sharp, el índice de discapacidad HAQ o un procedimiento radiológico.

30 **[0022]** En otro aspecto, la invención presenta un agente bloqueante de TNF- α en combinación con un agente bloqueante de TWEAK, por ejemplo, como se describe en este documento para su uso en un procedimiento para reducir la inflamación articular en un sujeto que lo necesita. En algunos casos, el sujeto tiene un trastorno artrítico, por ejemplo, artritis reumatoide.

35 **[0023]** También se presenta una composición farmacéutica que incluye: un agente bloqueante de TWEAK y un agente bloqueante de TNF- α .

40 **[0024]** También pueden proporcionarse kits que incluyan un agente bloqueante de TWEAK y un agente bloqueante de TNF- α . Los agentes pueden proporcionarse como composiciones farmacéuticas independientes o como una única composición farmacéutica. El kit puede además incluir instrucciones para la administración en el tratamiento de la artritis reumatoide, un dispositivo para la administración de los agentes y/o reactivos para evaluar un parámetro, p. ej., un parámetro clínico asociado con el trastorno.

45 **[0025]** Un «programa celular activado de forma sinérgica por TWEAK/TNF- α » es un estado celular caracterizado por propiedades que son el resultado de la estimulación mediante dosis en particular tanto de TWEAK como de TNF- α , pero que no se obtiene en un grado comparable mediante la estimulación con esta dosis de TWEAK en ausencia de dicha dosis de TNF- α ni mediante la estimulación con esta dosis de TNF- α en ausencia de dicha dosis de TWEAK. El sujeto a tratar puede identificarse mediante la evaluación de la expresión de uno o más genes en las células que generan señales inflamatorias, por ejemplo, sinoviocitos, condrocitos, osteoclastos, osteoblastos o fibroblastos dérmicos, o tejido asociado, obtenido a partir del sujeto. Pueden evaluarse uno o más genes de la tabla 1. El sujeto también puede evaluar uno o más síntomas de la artritis reumatoide.

50 **[0026]** En un aspecto, la descripción se caracteriza por i) un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R y ii) un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad del TNF- α o un TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R, para su uso en un procedimiento de tratamiento de un sujeto para un trastorno inflamatorio, especialmente aquel que el agente bloqueante de TNF- α no exacerbado. El trastorno inflamatorio puede ser artritis reumatoide o un trastorno distinto a la artritis reumatoide. Por ejemplo, el trastorno puede ser artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad intestinal inflamatoria (incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), psoriasis o miositis inflamatoria. Aún entre otros ejemplos de trastornos inflamatorios se incluyen histiocitosis de células de Langerhans, síndrome de dificultad respiratoria en adultos/bronquiolitis obliterante, granulomatosis de Wegener, vasculitis, caquexia, estomatitis, fibrosis pulmonar idiopática, dermatomiositis o polimiositis, escleritis no infecciosa, sarcoidosis crónica con afectación pulmonar, síndrome mielodisplásicos/anemia resistente al tratamiento con exceso de blastos, colitis ulcerosa, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de moderada a grave y arteritis de células

gigantes.

[0027] El uso incluye la administración del agente bloqueante de TWEAK en combinación con un agente bloqueante de TNF- α , en cantidad y durante un tiempo que proporcione un efecto terapéutico global.

[0028] En una realización, el sujeto tiene menos de 17 años de edad, y la enfermedad es artritis reumatoide juvenil o psoriasis pediátrica. El procedimiento puede incluir otras características descritas en este documento.

[0029] En la descripción se recoge un procedimiento de evaluación de un compuesto de prueba, por ejemplo, en su capacidad para modular una respuesta TWEAK y/o TNF- α *in vitro*. Una respuesta TWEAK incluye la modulación del TWEAK en sí o modulación de un receptor de TWEAK. El procedimiento incluye poner en contacto el compuesto de ensayo con una célula o tejido, en presencia de TWEAK y/o TNF- α , por ejemplo, TWEAK y/o TNF- α exógenos. El procedimiento además incluye evaluar si el compuesto de ensayo modula la capacidad de la célula o tejido, que responde a TWEAK y/o TNF- α para reducir, por ejemplo, los programas celulares mediados por TWEAK/TNF- α . El procedimiento puede incluir evaluar la expresión o actividad de uno o más genes de la tabla 1 o tabla 2. El procedimiento puede además incluir evaluar la capacidad del compuesto de ensayo para modular un trastorno, por ejemplo, usando un modelo animal de un trastorno humano descrito en este documento.

[0030] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por un medicamento que comprende un agente bloqueante de TWEAK y un agente bloqueante de TNF- α , por ejemplo, para su uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio.

[0031] En otro aspecto, la descripción se caracteriza por el uso de un agente bloqueante de TWEAK y un agente bloqueante de TNF- α para la preparación de un medicamento, por ejemplo, para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria descrita en este documento, como inflamación articular o un trastorno artrítico como la artritis reumatoide.

[0032] El término «sinergia» se refiere a un resultado de al menos dos acontecimientos que es mayor que la suma del resultado de cada acontecimiento individual. También puede usarse el análisis ANOVA para determinar un factor de sinergia en la siguiente ecuación:

$$R = A + B + \varepsilon(A*B)$$

[0033] En un ejemplo de valor para el factor de sinergia ε , este puede ser mayor que cero o un valor predeterminado, por ejemplo, 1, 2 o más.

[0034] El término «tratando» se refiere a la administración de un tratamiento en una cantidad, forma y/o modo eficaz para mejorar o prevenir una afección, síntoma o parámetro asociado con un trastorno o para prevenir la aparición, progresión o exacerbación del trastorno, a un grado estadísticamente significativo o a un grado detectable para un experto en la materia. Por consiguiente, con el tratamiento pueden lograrse beneficios terapéuticos y/o profilácticos. Una cantidad, forma o modo eficaz puede variar dependiendo del sujeto y puede adaptarse al mismo.

[0035] La referencia a la inhibición incluye al menos inhibición parcial, así como otros grados de inhibición, por ejemplo, sustancial o completa.

[0036] Los detalles de una o más realizaciones de la invención se establecen en los dibujos adjuntos y en la siguiente descripción. Se apreciarán otras características y ventajas de la invención a partir de la descripción, los dibujos y las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0037]

La figura 1 es una gráfica en la que se muestran las puntuaciones medias del índice de artritis en un modelo mCIA de artritis en ratones que fueron tratados con una combinación de agentes bloqueantes de TWEAK y TNF- α , solo un agente bloqueante de TWEAK, solo un agente bloqueante de TNF- α , control con PBS o controles de isotipo coincidente.

La figura 2 es una gráfica en la que se muestran los valores medios de la altura metatarsiana en un modelo mCIA de artritis en ratones que fueron tratados con una combinación de agentes bloqueantes de TWEAK y TNF- α , solo un agente bloqueante de TWEAK, solo un agente bloqueante de TNF- α , control con PBS o controles de isotipo coincidente.

La figura 3 es una gráfica en la que se muestra el porcentaje de variación del peso corporal en un modelo mCIA de artritis en ratones que fueron tratados con una combinación de agentes bloqueantes de TWEAK y TNF- α , solo un agente bloqueante de TWEAK, solo un agente bloqueante de TNF- α , control con PBS o controles de isotipo coincidente.

En la figura 4 se representan dos líneas que muestran los valores medios del índice de artritis en modelos CIA de artritis en animales tratados con anticuerpos bloqueantes anti-TWEAK (Acm anti-TWEAK) o con controles. En el panel izquierdo se muestran los resultados obtenidos usando un modelo CIA en ratón; en el panel derecho se muestran los

resultados obtenidos usando un modelo CIA en rata.

En la figura 5 se representan dos líneas que muestran los valores medios del índice de artritis en modelos CIA de artritis en animales tratados con anticuerpos bloqueantes anti-TWEAK (Acm anti-TWEAK) o con controles. Las figuras muestran los resultados de dos pautas posológicas: en la primera, el anticuerpo se administra en el momento de la inducción de la artritis, en la segunda, el anticuerpo se administra tras la inducción de la artritis. En el panel izquierdo se muestran los resultados obtenidos usando un modelo CIA en ratón; en el panel derecho se muestran los resultados obtenidos usando un modelo CIA en rata. 11

En la figura 6 se incluyen cinco gráficos de barras en la que se muestran los niveles de inflamación y de pérdida de cartílago y hueso en un modelo CIA de rata de artritis reumatoide en ratas con anticuerpos bloqueantes anti-TWEAK (ABG-11) o controles. Pueden observarse resultados similares en un modelo en ratón.

La figura 7 es un gráfico en el que se muestran los niveles de TWEAK en suero a diversos puntos temporales tras la inducción de artritis en un modelo mCIA y en un ratón control (DBA/1).

En la figura 8 se incluyen cuatro gráficos de barras en los que se muestran los niveles de MMP9, linfotactina, IP-10 e IL-6 a diversos puntos temporales tras la inducción de artritis en el modelo mCIA en ratones tratados con anticuerpos bloqueantes anti-TWEAK (P5G9 y P5G9 (Completo)) o controles.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0038] Los autores han descubierto que las rutas de TWEAK y TNF- α contribuyen independientemente a las respuestas inflamatorias, por ejemplo, en las células sinoviales presentes en las articulaciones, y que tanto TWEAK como TNF- α pueden activar independientemente conjuntos de genes similares, lo que indica una redundancia entre las dos vías. Por consiguiente, la reducción de la actividad de ambas rutas proporciona una ruta terapéutica ventajosa para aliviar la inflamación, por ejemplo, de articulaciones como en el caso de las afecciones artríticas. Se ha comprobado que el bloqueo concurrente de ambas rutas de TWEAK y TNF- α es beneficio en un modelo animal de artritis reumatoide (mCIA) y se consiguen mejores resultados que si se bloquea una de estas vías.

[0039] Además de la artritis reumatoide, la reducción de la actividad de ambas rutas puede usarse para tratar otros trastornos como, por ejemplo, otros trastornos inflamatorios como la artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad intestinal inflamatoria, psoriasis, miositis inflamatoria y otros trastornos descritos en este documento. Pueden usarse diversos procedimientos para reducir la actividad de las vías de TWEAK y de TNF- α . Por ejemplo, es posible administrar un agente bloqueante de TWEAK en combinación con un agente bloqueante de TNF- α . A continuación se describen ejemplos de estos y otros agentes.

Agentes bloqueantes de TWEAK

[0040] Pueden usarse diversos agentes como agente bloqueante de TWEAK. El agente puede ser cualquier tipo de compuesto (p. ej., una molécula orgánica o inorgánica pequeña, ácido nucleico, proteína o peptidomimético) que pueda administrarse a un sujeto. En una realización, el agente bloqueante es un compuesto biológico, por ejemplo, una proteína que tiene un peso molecular de entre 5 y 300 kDa. Por ejemplo, un agente bloqueante de TWEAK puede inhibir la unión de TWEAK a un receptor de TWEAK o puede prevenir la activación de NF- κ B mediada por TWEAK. Un agente bloqueante de TWEAK típico puede unirse a TWEAK o a un receptor de TWEAK, por ejemplo, Fn14. Un agente bloqueante de TWEAK que se une a TWEAK o a un receptor de TWEAK puede alterar la conformación de TWEAK o del receptor de TWEAK, bloquear la unión al sitio de TWEAK o al receptor TWEAK, o disminuir de otro modo la afinidad de TWEAK por un receptor de TWEAK o prevenir la interacción entre TWEAK y un receptor de TWEAK.

[0041] Un agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo) puede unirse a TWEAK o a un receptor de TWEAK con una K_d de menos de 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} o 10^{-10} M. En una realización, el agente bloqueante se une a TWEAK con una afinidad de al menos 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 o 1.000 veces mejor que su afinidad por TNF- α u otro miembro de la superfamilia del TNF (distinto de TWEAK). En una realización, el agente bloqueante se une al receptor de TWEAK con una afinidad al menos 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 o 1.000 veces mejor que su afinidad por el receptor de TNF o un receptor para cualquiera de los otros miembros de la superfamilia del TNF. Un agente bloqueante de TWEAK preferido se une específicamente a TWEAK o TWEAK-R.

[0042] Entre los ejemplos de moléculas proteicas TWEAK se incluyen el TWEAK humano (p. ej., AAC51923, mostrada como SEQ ID NO: 1)), TWEAK de ratón (p. ej., NP_035744.1), TWEAK de rata (p. ej., XP_340827.1) y TWEAK de *Pan troglodytes* (p. ej., XP_51 1964.1). También se incluyen proteínas que contienen una secuencia de aminoácidos al menos el 90, 92, 95, 97, 98 o 99% idéntica, o completamente idéntica a la región procesada madura de las proteínas TWEAK mencionadas anteriormente (p. ej., una secuencia de aminoácidos al menos el 90, 92, 95, 97, 98 o 99% idéntica, o completamente idéntica a los aminoácidos X₁-249 de SEQ ID NO: 1 donde el aminoácido X₁ se selecciona entre el grupo de los restos 75 a 115 de SEQ ID NO:1, X₁ es el resto Arg 93 de SEQ ID NO: 1) y las proteínas codificadas por un ácido nucleico que hibrida en condiciones muy rigurosas con un gen humano, de ratón, de rata o de *Pan troglodytes* que codifica una proteína TWEAK de origen natural. Preferiblemente, una proteína TWEAK,

en su forma madura procesada, es capaz de proporcionar al menos una actividad de TWEAK, p. ej., capacidad para activar Fn 14.

5 **[0043]** Entre los ejemplos de moléculas proteicas Fn14 se incluyen el Fn14 humano (p. ej., NP_057723.1, mostrado en SEQ ID NO: 2), Fn14 de ratón (p. ej., NP_038777.1) y Fn14 de rata (p. ej., NP_851600.1) así como proteínas solubles que contiene una secuencia de aminoácidos al menos el 90, 92, 95, 97 o 99% idéntica o completamente idéntica al dominio extracelular de Fn14 (y los fragmentos de unión a TWEAK de la misma) y proteínas codificadas por un ácido nucleico que hibride en condiciones muy rigurosas con un gen humano, de ratón, de rata o de *Pan troglodytes* que codifique una proteína Fn14 de origen natural. Preferiblemente, una proteína Fn14 útil en los procedimientos descritos en este documento es una Fn14 soluble (carente de dominio transmembrana) que incluya una región que se una a una proteína TWEAK, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos al menos el 90, 92, 95, 97, 98 o 99% idéntica, o completamente idéntica, a los aminoácidos 28-X₁ de SEQ ID NO: 2, donde el aminoácido X₁ se selecciona entre el grupo de restos 60 a 80 de SEQ ID NO: 2.

15 **[0044]** Los cálculos de la «homología» o «identidad de secuencia» entre dos secuencia (los términos se utilizan indistintamente en este documento) se realizan como sigue. Las secuencias se alinean con el fin de realizar una comparación óptima (p. ej., pueden introducirse huecos en una o ambas secuencias primera y segunda de aminoácidos o de ácido nucleico para un alineamiento óptimo y pueden no considerarse las secuencias homólogas con el fin de realizar una comparación). El alineamiento óptimo se determina como la mejor puntuación usando el programa GAP en el paquete de software del GCG con una matriz de puntuación Blossum 62 con una penalización por hueco de 12, una penalización por extensión de hueco de 4 y una penalización por hueco de cambio de marco de 5. A continuación se comparan los restos de aminoácidos o nucleótidos en las posiciones de aminoácidos o en las posiciones de nucleótidos correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo resto de aminoácido o nucleótido que la posición correspondiente de la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición (según se usa en este documento, «identidad» de aminoácidos o ácido nucleico es equivalente a «homología» de aminoácidos o ácido nucleico). El porcentaje de identidad entre las dos secuencias está en función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias. Los alineamientos de proteínas relacionadas descritos en este documento son instructivos para identificar posiciones de aminoácidos que toleran modificaciones, por ejemplo, inserción, deleción y sustitución, como sustituciones conservadoras o no conservadoras.

20 **[0045]** Según se usa en este documento, el término «hibrida en condiciones rigurosas» describe las condiciones para la hibridación y lavado. Las directrices para realizar las reacciones de hibridación pueden encontrarse en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley e hijos, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. En esta referencia se describen procedimientos acuosos y no acuosos y como pueden usarse. Entre la condiciones de hibridación muy rigurosas se incluyen hibridación en SSC 6x a aproximadamente 45°C, seguido de uno o más lavados en SSC 0,2x, SDS al 0,1% a 65°C o condiciones sustancialmente similares.

30 **[0046]** Entre los ejemplos de agentes bloqueantes de TWEAK se incluyen anticuerpos que se unen a TWEAK o a TWEAK-R y formas solubles de TWEAK-R que compiten con el TWEAK-R de la superficie celular por unirse a TWEAK. Un ejemplo de una forma soluble de TWEAK-R es una proteína de fusión de Fc que incluye al menos una porción del dominio extracelular de TWEAK-R (p. ej., un fragmento de TWEAK-R de unión a TWEAK soluble), denominada como TWEAK-R-Fc. También pueden usarse otras formas solubles de TWEAK-R, por ejemplo, formas que no incluyan un dominio Fc. A continuación se describe más en detalle los anticuerpos como agentes bloqueantes.

40 **[0047]** Pueden aislarse otros tipos de agentes bloqueantes, por ejemplo, moléculas pequeñas, ácidos nucleicos o aptámeros a base de ácidos nucleicos y péptidos mediante selección como se describe, por ejemplo, en Jhaveri y col., Nat. Biotechnol. 18:1293 y en el documento U.S. 5.223.409. En el documento U.S. 2004-0033225, por ejemplo, se describen ejemplos de ensayos para determinar si un agente se une a TWEAK o TWEAK-R y para determinar si el agente modula la interacción TWEAK/TWEAK-R.

50 **[0048]** Un ejemplo de forma soluble de la proteína TWEAK-R incluye una región de la proteína TWEAK-R que se une a TWEAK, por ejemplo, aproximadamente los aminoácidos 32-75, 31-75, 31-78 o 28-79 de SEQ ID NO: 2. Esta región puede asociarse físicamente, por ejemplo, fusionándose con otra secuencia de aminoácidos, como por ejemplo un dominio Fc, en su extremo N o C terminal. La región de TWEAK-R puede espaciarse mediante un enlazador de la secuencia de aminoácidos heteróloga. En el documento U.S. 6.824.773 se describe un ejemplo de proteína de fusión de TWEAK-R.

Agentes bloqueantes de TNF- α

60 **[0049]** Pueden usarse diversos agentes como agente bloqueante de TNF- α . El agente puede ser cualquier tipo de compuesto (p. ej., una molécula orgánica o inorgánica pequeña, ácido nucleico, proteína o peptidomimético) que pueda administrarse a un sujeto. En una realización, el agente bloqueante es un compuesto biológico, por ejemplo, una proteína que tiene un peso molecular de entre 5 y 300 kDa. Por ejemplo, un agente bloqueante de TNF- α puede inhibir la unión de TNF- α a un receptor de TNF- α o prevenir de otro modo la señalización en cascada del receptor de TNF- α . Un agente bloqueante de TNF- α típico puede unirse a TNF- α o a un receptor de TNF- α , por ejemplo, TNFR-I o TNFR-II. Un agente bloqueante de TNF- α que se une a TNF- α o a un receptor TNF- α puede alterar la conformación de TNF- α o

de un receptor de TNF- α , bloquea el sitio de unión a TNF- α o a un receptor de TNF- α , disminuir de otro modo la afinidad de TNF- α por un receptor de TNF- α o prevenir la interacción entre TNF- α y un receptor de TNF- α .

5 **[0050]** Un agente bloqueante de TNF- α (p. ej., un anticuerpo) puede unirse a TNF- α o a un receptor de TNF- α con una Kd de menos de 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} o 10^{-10} M. En una realización, el agente bloqueante se une a TNF- α con una afinidad de al menos 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 o 1.000 veces mayor que su afinidad por TWEAK o cualquier otro miembro de la superfamilia de TNF (distinto a TNF- α). Un agente bloqueante de TNF- α preferido se une específicamente a TNF- α o a TNF- α -R, como un anticuerpo específico de TNF- α o de TNF- α -R.

10 **[0051]** Entre los ejemplos de agentes bloqueantes de TNF- α se incluyen anticuerpos que se unen a TNF- α o a TNF- α -R y formas solubles del TNF- α -R que compiten con el TNF- α -R de la superficie celular por la unión a TNF- α . Un ejemplo de una forma soluble del TNF- α -R es una proteína de fusión Fc que incluya al menos una porción del dominio extracelular del TNF- α -R (p. ej., un fragmento del TNF- α -R de unión a TNF- α soluble) denominada como TNF- α -R-Fc. También pueden usarse otras formas solubles de TNF- α -R, por ejemplo, formas que no incluyan un dominio Fc. A
15 continuación se describe más agentes bloqueantes.

[0052] Un ejemplo de forma soluble de una proteína receptor de TNF- α es ENBREL[®]. Véase, por ejemplo, Arthritis & Rheumatism (1994) vol. 37, S295; J. Invest. Med. (1996) vol. 44, 235A. En el documento U.S. 6.572.852 se describen ejemplos adicionales. La dosis recomendada de ENBREL[®] para pacientes adultos con artritis reumatoide, artritis psoriásica o espondilitis anquilosantes es de 50 mg por semana administrados como una inyección subcutánea (s.c.) usando una jeringa precargada de un solo uso a 50 mg/ml. Además de ENBREL[®], puede asociarse físicamente otras regiones similares y/o correspondientes de los receptores de TNF- α , por ejemplo, un dominio Fc, en su extremo N o C terminal.

25 **[0053]** Entre otros ejemplos de agentes bloqueantes de TNF- α bien caracterizados se incluyen: infliximab (REMICADE[®]), un anticuerpo quimérico que se une al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y adalimumab (HUMIRA[®]), un anticuerpo humano que se une a TNF- α . Por ejemplo, la dosis recomendada de REMICADE[®] es de 3 mg/kg administrados como una infusión intravenosa seguida de dosis similares adicionales 2 y 6 semanas después de la primera infusión y, a partir de entonces, cada 8 semanas.

30 **[0054]** Entre los ejemplos adicionales de agentes bloqueantes de TNF- α se incluyen anticuerpos quiméricos, humanizados, humanos o generados *in vitro* (o fragmentos de unión al antígeno de los mismos) frente a TNF (p. ej., TNF- α humano), como D2E7 (anticuerpo anti-TNF- α humano, patente de EE. UU. N.º 6.258.562; BASF), CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356 (anticuerpo anti-TNF- α humanizado, Celltech/Pharmacia), cA2 (anticuerpo anti-TNF- α quimérico; REMICADE[™], Centocor, también mencionado anteriormente); fragmentos de anticuerpos anti-TNF (e. g., CPD870); fragmentos solubles de los receptores de TNF, p. ej., receptores de TNF humanos p55 o p75 o derivados de los mismos, p. ej., TNFR- IgG de 75 kD (proteína de fusión receptor de TNF- IgG de 75 kD, ENBREL[™]), TNFR- IgG p55 kD (proteína de fusión receptor TNF- IgG de 55 kD (LENERCEPT[™]); antagonistas de enzimas, p. ej., inhibidores de la enzima convertidora de TNF- α (TACE) (p. ej., un derivado del ácido alfa-sulfonil hidroxámico, solicitud PCT WO 01/55112 e inhibidor de TACE N- hidroxiformamida GW 3333, -005 o- 022) y TNF- bp/s-TNFR (proteína de unión a TNF soluble; véase p. ej., Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (suplemento), S284; Amer. J. Physiol. Heart and Circulatory Physiology (1995) Vol. 268, pág. 37-42).

Anticuerpos

45 **[0055]** Entre los ejemplos de agentes bloqueantes de TWEAK se incluyen anticuerpos que se unen a TWEAK y/o a TWEAK-R. En una realización, el anticuerpo inhibe la interacción entre TWEAK y un receptor de TWEAK, p. ej., bloqueando físicamente la interacción, disminuyendo la afinidad de TWEAK y/o TWEAK-R por su equivalente, interrumpiendo o desestabilizando complejos de TWEAK, secuestrando TWEAK o un TWEAK-R o dirigiendo TWEAK o TWEAK-R para su degradación. En una realización, el anticuerpo puede unirse a TWEAK o TWEAK-R en uno o más restos de los aminoácidos que participan en la interfaz de unión entre TWEAK y su receptor. Estos restos de aminoácidos pueden identificarse, por ejemplo, mediante selección de alaninas. En otra realización, el anticuerpo puede unirse a restos que no participan en la interfaz de unión. Por ejemplo, el anticuerpo puede alterar una conformación de TWEAK o TWEAK-R y reducir de este modo la afinidad de unión, o el anticuerpo puede interferir estéricamente en la unión. En una realización, el anticuerpo puede prevenir la activación de un acontecimiento o actividad mediada por TWEAK-R (p. ej., activación de NF- κ B).

60 **[0056]** De forma similar, un ejemplo de agente bloqueante de TNF- α incluye anticuerpos que se unen a TNF- α y/o a un receptor de TNF- α , por ejemplo, TNFR-I o TNFR-II. En una realización, el anticuerpo inhibe la interacción entre TNF- α y un receptor de TNF- α , p. ej., bloqueando físicamente la interacción, disminuyendo la afinidad de TNF- α y/o TNF- α -R por su equivalente, interrumpiendo o desestabilizando los complejos de TNF- α , secuestrando el TNF- α o un receptor de TNF- α o dirigiendo TNF- α o un receptor de TNF- α para su degradación. En una realización, el anticuerpo puede unirse a TNF- α o al receptor de TNF- α en uno o más de los restos de aminoácidos que participan en la interfaz de unión de TNF- α /receptor de TNF- α . Estos restos de aminoácidos pueden identificarse, por ejemplo, mediante selección de alaninas. En otra realización, el anticuerpo puede unirse a restos que no participan en la interfaz de unión TNF- α /receptor TNF- α . Por ejemplo, el anticuerpo puede alterar la conformación de TNF- α o del receptor de TNF- α

reduciendo de este modo la afinidad de la unión, o el anticuerpo puede interferir estéricamente en la unión TNF- α /receptor de TNF- α .

[0057] Según se usa en este documento, el término «anticuerpo» se refiere a una proteína que incluye al menos una región variable de la inmunoglobulina, p. ej., una secuencia de aminoácidos que proporciona un dominio variable de la inmunoglobulina o una secuencia del dominio variable de la inmunoglobulina. Por ejemplo, un anticuerpo puede incluir una región variable de la cadena pesada (H) (abreviada en este documento como VH) y una región variable de la cadena ligera (L) (abreviada en este documento como VL). En otro ejemplo, un anticuerpo incluye dos regiones variables de la cadena pesada (H) y dos regiones variables de la cadena ligera (L). El término «anticuerpo» abarca fragmentos de anticuerpos de unión al antígeno (p. ej., anticuerpos de cadena sencilla, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fb, fragmentos Fv y fragmentos dAb) así como anticuerpos completos, por ejemplo, inmunoglobulinas intactas y/o de longitud completa de tipos IgA, IgG (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), IgE, IgD e IgM (así como los subtipos de las mismas). Las cadenas ligeras de la inmunoglobulina pueden ser de tipos kappa o lambda. En una realización, el anticuerpo está glucosilado. Un anticuerpo puede ser funcional para la citotoxicidad dependiente de anticuerpos y/o para la citotoxicidad mediada por complemento o puede no ser funcional para una o ambas de estas actividades.

[0058] Las regiones VH y VL pueden además subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas «regiones determinantes de complementariedad» («CDR»), intercaladas con regiones que son más conservadas, denominadas «regiones estructurales» (FR). La extensión de las regiones FR y CDR se ha definido con precisión (véase, Kabat, E.A. y col. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta edición, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication N.º 91-3242 y Chothia, C. y col. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917). En este documento se utilizan las definiciones de Kabat. Cada VH y VL está compuesta típicamente por tres CDR y cuatro FR dispuestos desde el extremo amino terminal hasta el extremo carboxilo terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[0059] Un «dominio de inmunoglobulina» se refiere a un dominio del dominio variable o constante de las moléculas de inmunoglobulina. Los dominios de inmunoglobulina típicamente contienen dos láminas β formadas por aproximadamente siete cadenas β y un puente disulfuro conservado (véase, p. ej., A. F. Williams y A. N. Barclay (1988) Ann. Rev. Immunol. 6:381-405). Una «secuencia de dominio variable de la inmunoglobulina» se refiere a una secuencia de aminoácidos que puede formar una estructura suficiente para colocar las secuencias CDR en una conformación adecuada para la unión al antígeno. Por ejemplo, la secuencia puede incluir toda o parte de la secuencia de aminoácidos de un dominio variable de origen natural. Por ejemplo, la secuencia puede omitir uno, dos o más aminoácidos de los extremos N o C terminales, aminoácidos internos, puede incluir una o más inserciones o aminoácidos terminales adicionales o puede incluir otras alteraciones. En una realización, un polipéptido que incluye una secuencia de dominio variable de la inmunoglobulina puede asociarse con otra secuencia de dominio variable de la inmunoglobulina para formar una estructura diana de unión (o «sitio de unión al antígeno»), por ejemplo, una estructura que interacciona con una proteína diana, como TWEAK, un receptor de TWEAK, TNF- α , TNFR-I o TNFR-II.

[0060] Las cadenas VH o VL del anticuerpo pueden además incluir toda o parte de una región constante de las cadenas pesada o ligera, para formar de este modo una cadena de la inmunoglobulina pesada o ligera, respectivamente. En una realización, el anticuerpo es un tetrámero de dos cadenas de inmunoglobulina pesadas y dos cadenas de inmunoglobulina ligeras. Las cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina pueden estar conectadas mediante puentes disulfuro. La región constante de la cadena pesada incluye típicamente tres dominios constantes, CH1, CH2 y CH3. La región constante de la cadena ligera incluye típicamente un dominio CL. La región variable de las cadenas pesada y ligera contiene un dominio de unión que interacciona con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos típicamente median en la unión del anticuerpo a los tejidos o factores de huésped, incluyendo diversas células del sistema inmunitario (p. ej., células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema clásico del complemento.

[0061] Una o más regiones de un anticuerpo pueden ser humanas, efectivamente humanas o humanizadas. Por ejemplo, una o más de las regiones variables pueden ser humanas o efectivamente humanas. Por ejemplo, una o más de las CDR, por ejemplo, CDR1 de CP, CDR2 de CP, CDR3 de CP, CDR1 de CL, CDR2 de CL y CDR3 de CL, pueden ser humanas. Cada una de las regiones CDR de la cadena ligera pueden ser humanas. La región CDR3 de la CP puede ser humana. Una o más de las regiones estructurales pueden ser humanas, por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y FR4 de la CP o la CL. En una realización, todas las regiones estructurales son humanas, por ejemplo, derivadas de una célula somática humana, como una célula hematopoyética que produce inmunoglobulinas o una célula no hematopoyética. En una realización, las secuencias humanas son secuencias de líneas germinales, por ejemplo, codificadas por un ácido nucleico de una línea germinal. Una o más de las regiones constantes pueden ser humanas, efectivamente humanas o humanizadas. En otra realización, al menos el 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95 o 98% de las regiones estructurales (p. ej., FR1, FR2 y FR3, colectivamente, o FR1, FR2, FR3 y FR4, colectivamente) o el anticuerpo completo pueden ser humanos, efectivamente humanos o humanizados. Por ejemplo, FR1, FR2 y FR3 pueden ser colectivamente al menos el 70, 75, 80, 85, 90, 92, 95, 98 o 99% idénticas, o completamente idénticas, a una secuencia humana codificada por un segmento de una línea germinal humana.

[0062] Una región variable de inmunoglobulina «efectivamente humana» es una región variable de la

inmunoglobulina que incluye un número suficiente de posiciones de aminoácidos de la región estructural humana como para que la región variable de la inmunoglobulina no induzca una respuesta inmunogénica en un humano normal. Un anticuerpo «efectivamente humano» es un anticuerpo que incluye un número suficiente de posiciones de aminoácidos humanos como para que el anticuerpo no induzca una respuesta inmunogénica en un humano normal.

[0063] Una región variable de inmunoglobulina «humanizada» es una región variable de la inmunoglobulina que está modificada de modo que la forma modificada induce menos respuesta inmunitaria en un humano que la forma no modificada, por ejemplo, se modifica para incluir un número suficiente de posiciones de aminoácidos de la región estructural humana de modo que la región variable de la inmunoglobulina no induce una respuesta inmunogénica en un humano normal. Las descripciones de inmunoglobulinas «humanizadas» se incluyen, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. N.º 6.407.213 y 5.693.762. En algunos casos, las inmunoglobulinas humanizadas pueden incluir un aminoácido no humano en una o más posiciones de aminoácidos de las regiones estructurales.

Generación de anticuerpos

[0064] Los anticuerpos que se unen a una proteína diana (p. ej., TWEAK, TWEAK-R, TNF- α , TNFR-I o TNFR-II) pueden generarse por diversos medios, incluyendo la inmunización, por ejemplo, usando un animal, o mediante procedimientos *in vitro* como el despliegue de fagos. Puede usarse toda o parte de la proteína diana como inmunógeno o como diana para la selección. En una realización, el animal inmunizado contiene células productoras de inmunoglobulina con locis de inmunoglobulina naturales, humanos o parcialmente humanos. En una realización, el animal no humano incluya el menos una parte de un gen de inmunoglobulina humana. Por ejemplo, es posible modificar mediante ingeniería genética cepas de ratones deficientes en producción de anticuerpos de ratón con fragmentos grandes de los locis de la Ig humana. Usando la tecnología de hibridomas, pueden producirse y seleccionarse anticuerpos monoclonales específicos de antígeno derivados de los genes con la especificidad deseada. Véase, por ejemplo., XENOMOUSE™, Green y col. (1994) Nat. Gen. 7: 13-21 ; documento U.S. 2003-0070185; patente de EE. UU. N.º 5.789.650 y solicitud PCT WO 96/34096.

[0065] También pueden producirse anticuerpos no humanos frente a las proteínas diana, por ejemplo, en un roedor. El anticuerpo no humano puede ser humanizado, por ejemplo, como se describe en el documento EP 239 400 y en las patentes de EE. UU. N.º 6.602.503, 5.693.761 y 6.407.213, desinmunizarse o modificarse de cualquier otra forma para hacerlo efectivamente humano.

[0066] En el documento EP 239 400 (Winter y col.) se describe la alteración de los anticuerpos mediante la sustitución (dentro de una región variable determinada) de sus regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una especie por las de otra especie. Típicamente, las CDR de un anticuerpo no humano (p. ej., murino) se sustituyen en las regiones correspondientes en un anticuerpo humano usando tecnología de ácidos nucleicos recombinantes para producir secuencias que codifican el anticuerpo sustituido deseado. Pueden añadirse segmentos de los genes de la región constante humana del isotipo deseado (normalmente gamma I para CP y kappa para CL) y los genes de las cadenas pesada y ligera humanizadas pueden expresarse conjuntamente en células de mamíferos para producir un anticuerpo humanizado soluble.

[0067] También pueden usarse otros procedimientos para humanizar los anticuerpos. Por ejemplo, pueden considerarse otros procedimientos para la estructura tridimensional del anticuerpo, posiciones del armazón estructural que están tridimensionalmente cercanas a los determinantes de unión y a secuencias peptídicas inmunogénicas. Véase, por ejemplo, la solicitud PCT WO 90/07861; patentes de EE. UU. N.º 5.693.762, 5.693.761, 5.585.089 y 5.530.101; Tempest y col. (1991) Biotechnology 9:266-271 y la patente de EE. UU. N.º 6.407.213. Aún otro procedimiento se denomina «humanización por ingeniería genética» y se describe, por ejemplo, en el documento U.S. 2005-008625.

[0068] Pueden producirse anticuerpos monoclonales completamente humanos que se unen a proteínas diana, por ejemplo usando esplenocitos humanos cebados *in vitro*, como se describe en Boerner y col. (1991) J. Immunol. 147:86-95. Pueden prepararse mediante clonación de repertorio como se describe en Persson y col. (1991) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 88:2432-2436 o en Huang y Stollar (1991) J. Immunol. Methods 141:227-236; también en la patente de EE. UU. N.º 5.798.230. También pueden usarse bibliotecas grandes de despliegue de fagos en humanos no inmunizados para aislar anticuerpos de alta afinidad que pueden desarrollarse como terapias en humanos usando tecnología convencional de fagos (véanse, p. ej., Hoogenboom y col. (1998) Immunotechnology 4: 1-20; Hoogenboom y col. (2000) Immunol Today 2:371-378 y documento U.S. 2003-0232333).

Producción de anticuerpos y proteínas

[0069] Los anticuerpos y otras proteínas descritas en este documento pueden producirse en células procariontas y eucariotas. En una realización, los anticuerpos (p. ej., scFV) se expresan en una célula de levadura como *Pichia* (véase, p. ej., Powers y col. (2001) J. Immunol. Methods 251:123- 35), *Hanseula* o *Saccharomyces*.

[0070] Pueden producirse anticuerpos, especialmente anticuerpos de longitud completa, por ejemplo, IgG, en células de mamíferos. Entre los ejemplos de células huésped de mamíferos para la expresión recombinante se incluyen células de ovario de hámster chino (células CHO) (incluyendo células CHO dhfr-, descritas en Urlaub y Chasis (1980)

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, utilizadas con un marcador seleccionable de DHFR, como se describe, por ejemplo en Kaufman y Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621), líneas celulares de linfocitos, por ejemplo, células de mieloma NS0 y células SP2, células COS, K562 y célula de un animal transgénico, por ejemplo, un mamífero transgénico. Por ejemplo, la célula es una célula epitelial de mamífero.

[0071] Además de la secuencia de ácido nucleico que codifica el dominio de inmunoglobulina, los vectores de expresión recombinante pueden portar secuencias de ácido nucleico adicionales, como secuencias que regulan la replicación del vector en las células huésped (p. ej., orígenes de replicación) y genes marcadores seleccionables. El gen marcador seleccionable facilita la selección de células huésped dentro de los cuales se ha introducido el vector (véase p. ej., las patentes de EE. UU. N.º 4.399.216, 4.634.665 y 5.179.017). Entre los ejemplos de genes marcadores seleccionables se incluyen el gen de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (para su uso en células huésped *dhfr*- con selección/amplificación mediante metotrexato) y el gen neo (para selección mediante G418).

[0072] En un ejemplo de sistema para la expresión recombinante de un anticuerpo (p. ej., un anticuerpo de longitud completa o una porción de unión al antígeno del mismo), un vector de expresión recombinante que codifica tanto al cadena pesada del anticuerpo como la cadena ligera del mismo se introduce en células CHO *dhfr*- mediante transfección mediada por fosfato de calcio. Dentro del vector de expresión recombinante, los genes de la cadena pesada y de la cadena ligera del anticuerpo están unido de forma operativa cada uno a elementos reguladores potenciadores/promotores (p. ej., derivados de SV40, CMV, adenovirus y similares, como un elemento regulador potenciador de CMV/promotor de AdMLP o un elemento regulador potenciador de SV40/promotor de AdMLP) para dirigir altos niveles de transcripción de los genes. El vector de expresión recombinante también porta un gen de DHFR, que permite la selección de células CHO que se han transfectado con el vector usando selección/amplificación con metotrexato. Las células huésped transformantes seleccionadas se cultivan para permitir la expresión de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo y se recupera el anticuerpo intacto del medio de cultivo. Las técnicas de biología molecular convencionales se usan para preparar el vector de expresión recombinante, para transfectar las células huésped, para seleccionar los transformantes, para cultivar las células huésped y para recuperar el anticuerpo del medio de cultivo. Por ejemplo, algunos anticuerpos pueden aislarse mediante cromatografía de afinidad con proteína A o proteína G.

[0073] Los anticuerpos (y fusiones de Fc) también pueden incluir modificaciones, por ejemplo, modificaciones que alteran la función Fc, disminuyendo o eliminando la interacción con un receptor Fc, con C1q o con ambos. Por ejemplo, la región constante de la IgG1 humana puede mutarse en uno o más restos, por ejemplo, uno o más de los restos 234 y 237, según la numeración de la patente de EE. UU. N.º 5.648.260. Otros ejemplos de modificaciones incluyen las descritas en la patente de EE. UU. N.º 5.648.260.

[0074] En el caso de algunas proteínas que incluyen un dominio Fc, el sistema de producción de anticuerpo/proteína puede diseñarse para sintetizar anticuerpos u otras proteínas en las que la región Fc está glucosilada. Por ejemplo, el dominio Fc de las moléculas de IgG está glucosilado en la asparragina 297 del dominio CH2. El dominio Fc también puede incluir otras modificaciones eucariotas postraduccionales. En otros casos, la proteína se produce en una forma que no está glucosilada.

[0075] Los anticuerpos y otras proteínas también pueden ser producidas por un animal transgénico. Por ejemplo, en la patente de EE. UU. N.º 5.849.992 se describe un procedimiento para la expresión de un anticuerpo en la glándula mamaria de un mamífero transgénico. Se construye un transgén que incluye un promotor específico de la leche y secuencias de ácido nucleico que codifican el anticuerpo de interés, por ejemplo, un anticuerpo descrito en este documento, y una secuencia señal para su secreción. La leche producida por las hembras de estos mamíferos transgénicos incluye, secretada en la misma, la proteína de interés, por ejemplo, un anticuerpo o proteína de fusión con Fc. La proteína puede purificarse a partir de la leche, o para algunas aplicaciones, utilizarse directamente.

[0076] Los procedimientos descritos en el contexto de los anticuerpos pueden adaptarse a otras proteínas, por ejemplo, a fusiones de Fc y fragmentos del receptor soluble.

Agentes bloqueantes de ácidos nucleicos

[0077] En determinadas implementaciones, se usan agentes bloqueantes de ácidos nucleicos para disminuir la expresión de una proteína diana como TWEAK, un TWEAK-R (p. ej., Fn14), TNF- α , TNRF-I o TNRF-II. Estos agentes pueden usarse en lugar o además de los agentes bloqueantes de TWEAK y los agentes bloqueantes de TNF- α proteicos. En un ejemplo, el ácido nucleico antagonista es un ARNic que se dirige frente al ARNm producido a partir de un gen endógeno que codifica la proteína diana. Por ejemplo, el ARNic incluye una región complementaria con el ARNm. También pueden usarse otros tipos de ácidos nucleicos antagonistas, p. ej., un ARNbc, una ribozima, un formador de triple hélice o un ácido nucleico complementario.

[0078] Los ARNic son ARN bicatenarios (ARNbc) pequeños que opcionalmente incluyen solapamientos. Por ejemplo, la región dúplex de un ARNic tiene una longitud de aproximadamente 18 a 25 nucleótidos, por ejemplo, aproximadamente una longitud de 19, 20, 21, 22, 23 o 24 nucleótidos. Típicamente, las secuencias de ARNic son exactamente complementarias a los ARNm diana. Pueden usarse ARNbc y ARNic diana en particular para silenciar la

expresión génica en células de mamífero (p. ej., células humanas). Véase, por ejemplo Clemens y col. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:6499-6503; Billy y col. (2001) Proc. Natl. Sci. USA 98:14428-14433; Elbashir y col. (2001) Nature. 411:494-8; Yang y col (2002) Proc. Natl Acad. Sci. USA 99:9942-9947, solicitudes de publicación de patente de EE. UU. 2003-0166282; 2003-0143204; 2004-0038278 y 2003-0224432.

5

[0079] Entre los agentes complementarios pueden incluirse, por ejemplo, de aproximadamente 8 a aproximadamente 80 nucleobases (es decir, de aproximadamente 8 a aproximadamente 80 nucleótidos) por ejemplo, de aproximadamente 8 a aproximadamente 50 nucleobases o de aproximadamente 12 a aproximadamente 30 nucleobases. Entre los compuestos complementarios se incluyen ribozimas, oligonucleótidos de secuencia guía externa (EGS) (oligozimas) y otros ARN catalíticos cortos u oligonucleótidos catalíticos que hibridan con el ácido nucleico diana y modulan su expresión. Los compuestos complementarios pueden incluir una longitud de al menos ocho nucleobases consecutivas que son complementarios a una secuencia del gen diana. No es necesario que el oligonucleótido sea complementario al 100% con su secuencia de ácido nucleico diana para que sea específicamente hibridable. Un oligonucleótido es específicamente hibridable cuando la unión del oligonucleótido a la diana interfiere con la función normal de la molécula diana para producir una pérdida de utilidad y existe un grado suficiente de complementariedad para evitar la unión no específica del oligonucleótido a secuencias no diana en condiciones en las que se desea la unión específica, es decir, en condiciones fisiológicas en el caso de los ensayos *in vivo* o tratamiento terapéutico o, en el caso de ensayos *in vitro*, en condiciones en las que se realizan los ensayos.

20

[0080] La hibridación de oligonucleótidos complementarios con ARNm (p. ej., un ARNm que codifica una proteína diana) puede interferir con una o más de las funciones normales del ARNm. Entre las funciones del ARNm en las que se puede interferir se incluyen todas las funciones clave como, por ejemplo, translocación del ARN al sitio de traducción de la proteína, traducción de la proteína a partir del ARN, ajuste del ARN para producir una o más especies de ARNm y actividad catalítica que puede mantener el ARN. También puede interferirse en la unión de proteínas específicas al ARN con la hibridación de oligonucleótidos complementarios con el ARN.

25

[0081] Entre los ejemplos de compuestos complementarios se incluyen secuencias de ADN o ARN que hibridan específicamente con el ácido nucleico diana, por ejemplo el ARNm que codifica una proteína diana. La región complementaria puede extenderse entre aproximadamente 8 y aproximadamente 80 nucleobases. Los compuestos pueden incluir una o más nucleobases modificadas. Entre las nucleobases modificadas puede incluirse, por ejemplo, pirimidinas 5-sustituidas como 5-yodouracilo o 5-yodocitosina y pirimidinas 5-propinilo como C5-propinilcitosina y C5-propiniluracilo por mencionar algunos. Están disponibles las descripciones de diversos agentes de ácido nucleico. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. N.º 4.987.071, 5.116.742 y 5.093.246, Woolf y col. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA; Antisense RNA and DNA, D. A. Melton, Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1988); 89:7305-9; Haselhoff y Gerlach (1988) Nature 334:585-59; Helene, C. (1991) Anticancer Drug Des. 6:569-84; Helene (1992) Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27-36 y Maher (1992) Bioassays 14:807-15.

30

35

[0082] Los ácidos nucleicos descritos en este documento, por ejemplo, un ácido nucleico complementario descrito en este documento, pueden incorporarse a una construcción génica que se utiliza como parte de un protocolo de terapia génica para administrar ácidos nucleicos que pueden usarse para expresar y producir agentes, por ejemplo, ácidos nucleicos complementarios dentro de las células. Las construcciones de expresión de estos componentes pueden administrarse en cualquier vehículo biológicamente eficaz, p. ej., cualquier formulación o composición capaz de administrar de forma eficaz el componente génico a las células *in vivo*. Entre las técnicas se incluyen inserción del gen en cuestión en vectores víricos que incluyen retrovirus, adenovirus, virus adenoasociados, lentivirus y virus del herpes simple 1 recombinantes o plásmidos bacterianos o eucariotas recombinantes. Los vectores víricos transfectan las células directamente; el ADN plasmídico puede administrarse con la ayuda de, por ejemplo, liposomas catiónicos (lipofectina) o derivatizados (p. ej., conjugado con anticuerpo), conjugado con polilisina, gramacidina S, envoltorios víricos artificiales u otros vehículos intracelulares, así como inyección directa de la construcción génica o precipitación con CaPO₄ realizado *in vivo*.

50

[0083] Una técnica preferida para la introducción *in vivo* de ácido nucleico dentro de una célula es mediante el uso de un vector vírico que contiene un ácido nucleico, como por ejemplo, un ADNc. La infección de células con un vector vírico tiene la ventaja de que una gran proporción de las células diana puede recibir el ácido nucleico. Adicionalmente, las moléculas codificadas dentro del vector vírico, por ejemplo, mediante un ADNc contenido en el vector vírico, se expresan de forma eficaz en células que han captado el ácido nucleico del vector vírico.

55

[0084] Los vectores de retrovirus y los vectores de virus adenoasociados pueden usarse como sistema recombinante de administración de genes para la transferencia de genes exógenos *in vivo*, especialmente en humanos. Estos vectores proporcionan una administración eficaz de genes dentro de las células y los ácidos nucleicos transferidos se integran de forma estable en el ADN cromosómico del huésped. Los protocolos para la producción de retrovirus recombinantes y para la infección de células *in vitro* o *in vivo* con dichos virus pueden encontrarse en Current Protocols in Molecular Biology, Ausuble, F.M. y col. (eds.) Greene Publishing Associates, (1989), Secciones 9.10-9.14 y otros manuales de laboratorio convencionales. Entre los ejemplos de retrovirus adecuados se incluyen pLJ, pZIP, pWE y pEM que son conocidos por los expertos en la materia. Entre los ejemplos de empaquetamiento de líneas de virus adecuados para preparar sistemas tanto ecotróficos como anfitriónicos se incluyen *Crip, *Cre, *2 y *Am. Se han utilizado retrovirus para introducir diversos genes en muchos tipos celulares diferentes como células epiteliales, *in vitro* y/o *in vivo* (véase,

60

65

por ejemplo, Eglitis, y col. (1985) *Science* 230:1395-1398; Danos y Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6460-6464; Wilson y col. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:3014-3018; Annentano y col. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6141-6145; Huber y col. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8039-8043; Ferry y col. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8377-8381; Chowdhury y col. (1991) *Science* 254:1802-1805; van Beusechem y col. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:7640-7644; Kay y col. (1992) *Human Gene Therapy* 3:641-647; Dai y col. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10892-10895; Hwu y col. (1993) *J. Immunol.* 150:4104-4115; Patentes de EE. UU. N.º 4.868.116 y 4.980.286; solicitudes PCT WO 89/07136; WO 89/02468; WO 89/05345 y WO 92/07573).

[0085] Otro sistema vírico de administración de genes utiliza vectores derivados de adenovirus. Véase, por ejemplo, Berkner y col. (1988) *BioTechniques* 6:616; Rosenfeld y col. (1991) *Science* 252:431-434 y Rosenfeld y col. (1992) *Cell* 68:143-155. Los expertos en la materia conocen vectores de adenovirus adecuados derivados de la cepa de adenovirus Ad tipo 5 dl324 u otras cepas de adenovirus (p. ej., Ad2, Ad3, Ad7, etc.).

[0086] Aún otro sistema de vector vírico útil para la administración del gen en cuestión es el virus adenoasociado (AAV). Véase, por ejemplo, Flotte y col. (1992) *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 7:349-356; Samulski y col. (1989) *J. Virol.* 63:3822-3828 y McLaughlin y col. (1989) *J. Virol.* 62:1963-1973).

Factores de transcripción artificiales

[0087] También pueden usarse factores de transcripción artificial para regular la expresión de una proteína diana, por ejemplo, TWEAK, un TWEAK-R (p. ej., Fn14), TNF- α , TNFR-I o TNFR-II. El factor de transcripción artificial puede diseñarse o seleccionarse a partir de una biblioteca, por ejemplo, por su capacidad para unirse a una secuencia en un gen endógeno que codifica una proteína diana, por ejemplo, en una región reguladora como el promotor. Por ejemplo, el factor de transcripción artificial pueden prepararse mediante la selección *in vitro* (p. ej., usando despliegue de fagos, patente de EE. UU. N.º 6.534.261) o *in vivo* o mediante diseño en base al código de reconocimiento (véase, p. ej., la solicitud PCT WO 00/42219 y la patente de EE. UU. N.º 6.511.808). Véase, por ejemplo, Rebar y col. (1996) *Methods Enzymol* 267:129; Greisman y Pabo (1997) *Science* 275:657; Isalan y col. (2001) *Nat. Biotechnol* 19:656 y Wu y col. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:344 para, entre otras cosas, procedimientos para la obtención de bibliotecas de dominios de dedos de cinc diversos.

[0088] Opcionalmente, puede fusionarse un factor de transcripción artificial con un dominio regulador de la transcripción, por ejemplo, un dominio de activación para activar la transcripción o un dominio de represión para reprimir la transcripción. En particular, los dominios de represión pueden usarse para disminuir la expresión de los genes endógenos que codifican TWEAK o TWEAK-R. El factor de transcripción artificial puede estar codificado a su vez por un ácido nucleico heterólogo que se administra a una célula o la proteína a su vez puede administrarse a la célula (véase, por ejemplo la patente de EE. UU. N.º 6.534.261). El ácido nucleico heterólogo que incluye una secuencia que codifica el factor de transcripción artificial puede estar unido de forma operativa a un promotor inducible, por ejemplo, para potenciar el control preciso del nivel del factor de transcripción artificial en la célula.

Artritis reumatoide (AR)

[0089] La artritis reumatoide («AR») es una enfermedad inflamatoria crónica que causa dolor, hinchazón, rigidez y pérdida de función, principalmente en las articulaciones. La AR se inicia frecuentemente en el sinovio, o membrana que rodea la articulación creando un saco protector. En muchas personas que sufren de AR, los leucocitos se infiltran desde la circulación al sinovio causando inflamación anómala continua (es decir, sinovitis). Por consiguiente, el sinovio se inflama, causando sensación de calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor. El colágeno del cartílago se destruye gradualmente, estrechando el espacio articular y, finalmente, dañando el hueso. La inflamación causa la erosión del hueso dañado en la zona afectada. Durante este proceso, las células del sinovio crecen y se dividen de forma anómala, haciendo que se engrose la normalmente delgada sinovia y dando lugar a una articulación hinchada y blanda al tacto.

[0090] Cuando la AR progresa, las células de la sinovia anómala pueden invadir y destruir el cartílago y el hueso dentro de la articulación. Los músculos, ligamentos y tendones cercanos que sostienen y estabilizan la articulación pueden debilitarse y ser incapaces de trabajar de forma normal. La AR también puede causar una pérdida ósea más generalizada que puede llevar a osteoporosis, haciendo que los huesos sean frágiles y más propensos a la fractura. Todos estos efectos causan el dolor, discapacidad y deformaciones asociadas con la AR. Entre las regiones que pueden verse afectada se incluyen las muñecas, los nudillos, las rodillas y la parte anterior de la planta del pie. A menudo, pueden estar implicadas muchas articulaciones e incluso puede verse afectada la columna vertebral. En aproximadamente el 25% de las personas con AR, la inflamación de los vasos sanguíneos pequeños puede producir nódulos reumatoides, o bultos bajo la piel. Estos son bultos bajo la piel que a menudo se forman próximos a las articulaciones. También puede acumularse líquido conforme progresa la enfermedad, especialmente en los tobillos. Muchos pacientes con AR también desarrollan anemia o una disminución del número normal de glóbulos rojos.

[0091] La AR abarca diversos subtipos de enfermedades, como el síndrome de Felty, AR seronegativa, AR «clásica», AR progresiva y/o en recidiva y AR con vasculitis. Algunos expertos clasifican la enfermedad en de tipo 1 o de tipo 2. El tipo 1, la forma menos frecuente, se prolonga durante pocos meses como mucho y no deja discapacidad permanente. El tipo 2 es crónica y dura años, en ocasiones durante toda la vida. La AR también puede manifestarse

como nódulos reumatoides subcutáneos, nódulos en vísceras, vasculitis que causa úlceras en las piernas o mononeuritis múltiple, derrames pleurales o pericárdicos, linfadenopatía, síndrome de Felty, síndrome de Sjögren y episcleritis. Estos subtipos de enfermedad y también los sujetos que muestran uno o más de los síntomas anteriores pueden tratarse usando los procedimientos descritos en este documento.

[0092] La AR afecta a todas las razas y grupos étnicos. Se ha identificado al menos una predisposición genética y, en poblaciones blancas, se ha localizado en un pentapéptido del locus HLA-DR1 de los genes de histocompatibilidad de clase II.

[0093] La AR puede evaluarse mediante diversos parámetros clínicos. Entre algunos ejemplos de indicios se incluyen la puntuación Sharp total (TSS), la puntuación de erosión de Sharp y el índice de discapacidad HAQ. Los procedimientos de este documento pueden usarse para obtener mejoría en al menos uno de estos indicios.

No respondedores a los agentes bloqueantes de TNF- α

[0094] En un aspecto, los sujetos que tienen artritis reumatoide, que están en riesgo de padecer AR o tienen o están en riesgo de otra enfermedad descrita en este documento, pueden evaluarse mediante un parámetro pronóstico en su capacidad para responder a un agente bloqueante de TNF- α como etanercept, infliximab o adalimumab. Por ejemplo, el parámetro puede ser la presencia o ausencia de un nucleótido en un gen que codifica TNF- α .

[0095] Los pacientes de artritis reumatoide con el alelo T de TNFA-857C/T SNP pueden responder mejor al tratamiento con etanercept que los homocigotos para el alelo C. (Kang y col. Rheumatology 2005 Abr; 44(4):547-52). Por consiguiente, los pacientes de AR que son homocigóticos para el alelo C pueden ser tratados con un agente bloqueante de TWEAK y pueden reducirse la dosis de etanercept u otros agentes bloqueantes de TNF- α , por ejemplo en relación con una dosis convencional.

No respondedores a terapias para AR

[0096] Hay disponibles diversos tratamientos para la AR, además de los agentes bloqueantes de TNF- α . Muchos de estos son compuestos terapéuticos clasificados como fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARME). Entre los FARME tradicionales se incluyen PLAQUENIL[®] (hidroxicloroquina), AZULFIDINE[®] (sulfasalacina) o RHEUMATREX[®] (metotrexato). En el caso de la artritis reumatoide se ha observado que las tasas de abandono del tratamiento con FARME en artritis reumatoide aumenta con la longitud de tiempo desde que el paciente ha recibido el fármaco y que muchos de estos abandonos se relacionan con la pérdida de eficacia (véase, p. ej., Annals of the Rheumatic Diseases (2003) 62:95-96). Entre otros tratamientos FARME se incluye el tratamiento con uno de los siguientes fármacos:

a. Fármacos antiinflamatorios no esteroides incluyendo los salicilatos como el ácido acetil salicílico.

b. Compuestos de oro. En algunos pacientes, el oro puede producir la remisión clínica y la disminución de la formación de nuevas erosiones óseas. Entre las preparaciones parenterales se incluyen tiomalato sódico de oro o tioglucosa de oro. El tratamiento con oro se interrumpirá cuando aparezcan signos de toxicidad. Las manifestaciones tóxicas menores (p. ej., prurito leve o exantema menor) pueden eliminarse interrumpiendo temporalmente el tratamiento con oro, y reiniciándolo de nuevo con cautela aproximadamente a las 2 semanas de que los síntomas hayan disminuido. Sin embargo, si progresan los síntomas tóxicos, deberá suspenderse el tratamiento con oro.

c. La hidrocloroquina también puede controlar los síntomas de la AR leve o moderadamente activa. Los efectos tóxicos normalmente son leves e incluyen dermatitis, miopatía y opacidad corneal generalmente reversible. Sin embargo, se ha notificado degeneración retiniana irreversible.

d. La penicilamina oral puede tener un beneficio similar al oro. Los efectos secundarios que requieren la interrupción del tratamiento son más frecuentes que con el oro e incluyen supresión de la médula ósea, proteinuria, nefrosis, otros efectos tóxicos graves (p. ej., miastenia gravis, penfingo, síndrome de Goodpasture, polimiositis o síndrome similar a lupus), exantema y mal sabor de boca.

e. Los esteroides son fármacos antiinflamatorios muy eficaces a corto plazo. Sin embargo, su beneficio clínica para la AR disminuye a menudo con el tiempo. Los esteroides no previenen de forma predecible la progresión de la destrucción articular. Además, en la enfermedad activa la retirada de los corticoesteroides va seguida a menudo de dolor de rebote intenso.

f. Pueden usarse fármacos inmunodepresores en el tratamiento de la AR activa severa. Sin embargo, pueden aparecer efectos adversos graves como enfermedad hepática, neumonitis, supresión de la médula ósea y, tras el uso prolongado de azatioprina, enfermedad neoplásica.

[0097] La politerapia con agentes bloqueantes de TWEAK y TNF- α puede usarse para tratar a un sujeto que tiene una o más complicaciones severas de la AR. Estas complicaciones incluyen destrucción articular, sangrado

gastrointestinal, insuficiencia cardíaca, pericarditis, pleuritis, enfermedad pulmonar, anemia, elevación o reducción de las plaquetas, enfermedad ocular, inestabilidad de la columna cervical (cuello), neuropatía y vasculitis.

Otros trastornos

[0098] Las composiciones descritas en este documento también pueden utilizarse para tratar otros trastornos inflamatorios, inmunitarios o autoinmunitarios, por ejemplo trastornos que no se exacerban tras la administración de un agente bloqueante de TNF- α . Entre los ejemplos de trastornos que pueden ser tratados se incluyen la artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad intestinal inflamatoria (incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), psoriasis o miositis inflamatoria. Aún entre otros ejemplos de trastornos inflamatorios se incluyen histiocitosis de células de Langerhans, síndrome de dificultad respiratoria en adultos/bronquiolitis obliterante, granulomatosis de Wegener, vasculitis, caquexia, estomatitis, fibrosis pulmonar idiopática, dermatomiositis o polimiositis, escleritis no infecciosa, sarcoidosis crónica con afectación pulmonar, síndrome mielodisplásico/anemia resistente al tratamiento con exceso de blastos, colitis ulcerosa, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de moderada a grave y arteritis de células gigantes.

[0099] El agente bloqueante de TWEAK se administra en combinación con un agente bloqueante de TNF- α . En el caso de una politerapia, las cantidades y tiempos de administración pueden ser aquellos que proporcionen, por ejemplo, un efecto potenciado o terapéuticamente sinérgico. Además, la administración del agente bloqueante de TWEAK (con o sin agente bloqueante de TNF- α) puede usarse con un tratamiento primario, por ejemplo, tratamiento de primera línea, o secundario, por ejemplo para sujetos que muestran una respuesta inapropiada a un tratamiento administrado previamente (es decir, un tratamiento distinto del agente bloqueante de TWEAK).

Composiciones farmacéuticas

[0100] Un agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-P soluble, como TWEAK-R-Fc) puede formularse como una composición farmacéutica, por ejemplo, para su administración a un sujeto para tratar un trastorno descrito en este documento, por ejemplo, una enfermedad inflamatoria como artritis reumatoide u otro trastorno descrito aquí. Un agente bloqueante de TNF- α puede formularse de forma similar, en la misma composición o en una composición independiente.

[0101] Típicamente, una composición farmacéutica incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable. Según se usa en este documento, la expresión «vehículo farmacéuticamente aceptable» incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares que son fisiológicamente compatibles. La composición puede incluir una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, una sal de adición de ácido o una sal de adición de base (véase, p. ej., Berge, S.M. y col. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19).

[0102] La formulación farmacéutica es una técnica bien establecida y se describe en detalle en, por ejemplo, Gennaro (ed.). Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2000) (ISBN: 0683306472); Angel y col., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª Ed., Lippincott Williams & Wilkins Publishers (1999) (ISBN: 0683305727) y Kibbe (ed.), Handbook of Pharmaceutical Excipients American Pharmaceutical Association, 3ª ed. (2000) (ISBN: 091733096X).

[0103] En una realización, el agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o TWEAK-R-Fc) y/o el agente bloqueante de TNF- α se formulan con materiales excipientes, como cloruro sódico, fosfato dibásico de sodio heptahidratado, fosfato monobásico de sodio y un estabilizante. Puede proporcionarse, por ejemplo, en una solución tamponada a una concentración adecuada y puede conservarse entre 2-8°C.

[0104] Las composiciones farmacéuticas pueden estar en diversas formas. Entre estas se incluyen, por ejemplo, formas de administración líquidas, semisólidas y sólidas, como soluciones líquidas (p. ej., soluciones inyectables y para infusión), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida puede depender del modo de administración y aplicación terapéutica previstos. Las composiciones típicamente para los agentes descritos en este documento están en forma de soluciones inyectables o para infusión.

[0105] Estas composiciones pueden administrarse mediante un modo parenteral (p. ej., inyección intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular). Las expresiones «administración parenteral» y «administración por vía parenteral» según se usan en este documento significan modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluyen, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal e infusión.

[0106] La composición puede formularse como solución, microemulsión, dispersión, liposoma u otros estructura ordenada adecuada para una conservación estable a alta concentración. Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación de un agente descrito en este documento en la cantidad necesaria en el solvente apropiado con uno o varios de los componentes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido por la esterilización mediante filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando un agente descrito en este

documento en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los demás componentes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos preferidos de preparación son la desecación al vacío y la liofilización que produce un polvo del agente descrito en este documento más cualquier componente adicional deseado a partir de una solución previamente esterilizada por filtración de la misma. La fluidez adecuada de una solución puede mantenerse, por ejemplo, usando un recubrimiento como la lecitina, manteniendo el tamaño requerido de partícula en el caso de dispersión y usando tensioactivos. La absorción prolongada de composiciones inyectables puede realizarse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

[0107] En determinadas realizaciones, el agente bloqueante de TWEAK y/o el agente bloqueante de TNF- α pueden prepararse con un vehículo que protegerá al compuesto de la liberación rápida, como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Pueden usarse polímeros biocompatibles y biodegradables, como el acetato de etilvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos procedimientos para la preparación de dichas formulaciones están patentados o son conocidos a nivel general. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

[0108] Un agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-R soluble) puede modificarse, por ejemplo con un resto que mejore su estabilización y/o retención en circulación, por ejemplo, en sangre, suero u otros tejidos en al menos 1,5, 2, 5, 10 o 50 veces. El agente bloqueante modificado puede evaluarse para valorar si puede alcanzar los sitios de inflamación, por ejemplo, las articulaciones.

[0109] Por ejemplo, el agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-R soluble) puede asociarse con (p. ej., conjugado con) un polímero, por ejemplo, un polímero sustancialmente no antigénico, como óxido de polialquileno u óxido de polietileno. Los polímeros adecuados variarán sustancialmente en el peso. Pueden usarse polímeros que tengan pesos medios de número molecular que oscilen de aproximadamente 200 a aproximadamente 35.000 Daltons (o de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 15.000, y 2.000 a aproximadamente 12.500).

[0110] Por ejemplo, un agente bloqueante de TWEAK o un agente bloqueante de TNF- α puede conjugarse con un polímero soluble en agua, por ejemplo, un polímero de polivinilo hidrófilo, como el polivinilalcohol o polivinilpirrolidona. Una lista no limitante de estos polímeros incluye homopolímeros de óxido de polialquileno, como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicoles, polioles polioxietilenados, copolímeros de los mismos y copolímeros bloqueados de los mismos, siempre que se mantenga la solubilidad en agua de los copolímeros bloqueados. Entre los polímeros útiles adicionales se incluyen polialquilenos como polioxietileno, polioxipropileno y copolímeros bloqueados de polioxietileno y polioxipropileno, polimetacrilatos, carbómeros y policarásidos ramificados y no ramificados.

[0111] Cuando el agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-R soluble) se usa en combinación con un segundo agente (p. ej., un agente bloqueante de TNF- α y otro agente descrito en este documento) los dos agentes pueden formularse de forma independiente o conjunta. Por ejemplo, las respectivas composiciones farmacéuticas pueden mezclarse, por ejemplo, justo antes de la administración y administrarse de forma conjunta, o pueden administrarse por separado, por ejemplo, a la vez o a tiempos diferentes.

[0112] Otros agentes terapéuticos descritos en este documento pueden también administrarse como composición farmacéutica, por ejemplo, mediante procedimientos convencionales o procedimientos descritos en este documento.

Administración

[0113] El agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-R soluble) y un agente bloqueante de TNF- α pueden administrarse a un sujeto, por ejemplo, un ser humano, mediante diversos procedimientos. Para muchas aplicaciones, la vía de administración es una de las siguientes: Inyección o infusión intravenosa (i.v.), inyección subcutánea (s.c.), por vía intraperitoneal (i.p.) o inyección intramuscular. También es posible usar la administración intraarticular. En algunos casos, la administración puede realizarse directamente en un lugar de inflamación, por ejemplo, una articulación u otro sitio inflamado. El agente bloqueante puede administrarse a una dosis fija o en dosis de mg/kg.

[0114] También puede elegirse la dosis para reducir o evitar la producción de anticuerpos frente al agente bloqueante de TWEAK.

[0115] La vía y/o modo de administración del agente bloqueante también puede adaptarse al caso individual, por ejemplo, controlando al sujeto usando estudio por imagen mediante tomografía, exploración neurológica y parámetros convencionales asociados con el trastorno en particular, por ejemplo, criterios para la evaluación de la artritis reumatoide.

[0116] Las pautas posológicas se ajustan para proporcionar la respuesta deseada, por ejemplo, una respuesta terapéutica o un efecto terapéutico combinado. Generalmente puede usarse cualquier combinación de dosis (separadas o formuladas conjuntamente) del agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo) (y opcionalmente un segundo

agente, por ejemplo, un agente bloqueante de TNF- α) para proporcionar a un sujeto el agente en cantidades biodisponibles. Por ejemplo, pueden administrarse dosis en el intervalo de 0,1-100 mg/kg, 0,5-100 mg/kg, 1 mg/kg-100 mg/kg, 0,5-20 mg/kg o 1-10 mg/kg. También pueden usarse otras dosis.

5 **[0117]** La forma de unidad de dosis o «dosis fija» según se usa en este documento se refiere a unidades físicamente discretas adaptadas como dosis unitarias para los sujetos que se van a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculado para que produzca el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico necesario y, opcionalmente, asociado con el otro agente. Pueden administrarse dosis únicas o múltiples. Alternativamente, o además, el agente bloqueante puede administrarse mediante infusión continua.

10 **[0118]** El agente bloqueante de TWEAK puede administrarse, por ejemplo, una o dos veces al día, o aproximadamente de una a cuatro veces por semana o, preferiblemente, de forma semanal, cada dos semanas y una vez al mes, por ejemplo, entre aproximadamente 1 a 10 semanas, preferiblemente entre 2 y 8 semanas, más preferiblemente entre aproximadamente 3 a 7 semanas e incluso más preferiblemente durante aproximadamente 4, 5 o 6 semanas. El experto en la materia apreciará que determinados factores pueden influir sobre la dosis y el momento requerido para tratar de forma eficaz a un sujeto, incluyendo pero sin limitaciones, la gravedad de la enfermedad o del trastorno, formulación, vías de administración, tratamientos previos, el estado general de salud y/o edad del sujeto y otras enfermedades presentes. Además, el tratamiento de un sujeto con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto puede incluir un único tratamiento o, preferiblemente, puede incluir una serie de tratamientos. También pueden usarse modelos animales para determinar una dosis útil, por ejemplo, una dosis o régimen inicial.

15 **[0119]** Si un sujeto está en riesgo de desarrollar una enfermedad inflamatoria u otro trastorno descrito en este documento, el agente bloqueante puede administrarse antes de la completa aparición de la enfermedad, por ejemplo como medida preventiva. La duración de este tratamiento preventivo puede ser de una única dosis del agente bloqueante o el tratamiento puede continuar (p. ej., dosis múltiples). Por ejemplo, un sujeto en riesgo de sufrir el trastorno o que tiene predisposición a sufrirlo puede ser tratado con el agente bloqueante durante días, semanas, meses o incluso años de manera que se evita que se produzca el trastorno o se exacerbe.

20 **[0120]** Una composición farmacéutica puede incluir una «cantidad terapéuticamente eficaz» de un agente descrito en este documento. Estas cantidades eficaces pueden determinarse en base al efecto del agente administrado, o el efecto combinatorio de los agentes si se usa más de un agente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente también puede variar según factores como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del individuo y la capacidad del compuesto para inducir una respuesta deseada en el individuo, por ejemplo, mejora de al menos un parámetro del trastorno o mejora de al menos un síntoma del trastorno. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la composición se ve superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

Dispositivos y kits para terapia

30 **[0121]** Las composiciones farmacéuticas que incluyen el agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o TWEAK-R soluble) pueden administrarse con un dispositivo médico. El dispositivo puede diseñarse con características como portabilidad, almacenamiento a temperatura ambiente y fácil de usar de modo que pueda usarse en situaciones de urgencia, por ejemplo, por un sujeto sin experiencia o por el personal de urgencias en el campo, ser sacado de las instalaciones médicas o de otros equipos médicos. El dispositivo puede incluir, por ejemplo, una o más recipientes para la conservación de las preparaciones farmacéuticas que incluyan el agente bloqueante de TWEAK y puede configurarse para administrar una o más unidades de dosis del agente bloqueante. El dispositivo puede configurarse adicionalmente para administrar un segundo agente, por ejemplo, un agente bloqueante de TNF- α , como una composición farmacéutica única que también incluye el agente bloqueante de TWEAK o como dos composiciones farmacéuticas independientes.

35 **[0122]** Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse con una inyección hipodérmica sin aguja, como los dispositivos descritos en las patentes de EE. UU. N.º 5.399.163, 5.383.851, 5.312.335, 5.064.413, 4.941.880, 4.790.824 o 4.596.556. Entre los ejemplos de implantes y módulos bien conocidos se incluyen: patente de EE. UU. N.º 4.487.603 en la que se describe una bomba de microinfusión implantable para administrar la medicación a una velocidad controlada, patente de EE. UU. N.º 4.486.194 en la que se describe un dispositivo terapéutico para administrar agentes a través de la piel, patente de EE. UU. N.º 4.447.233 en la que se describe una bomba de infusión del medicamento para administrar la medicación a una velocidad de infusión precisa, patente de EE. UU. 4.447.224 en la que se describe un dispositivo de infusión implantable de flujo variable para administración continua del fármaco, patente de EE. UU. N.º 4.439.196 en la que se describe un sistema osmótico de administración de fármacos que tiene compartimentos multicámara y patente de EE. UU. N.º 4.475.196 en la que se describe un sistema osmótico de administración de fármacos. También se conocen muchos otros dispositivos, implantes, sistemas de administración y módulos.

40 **[0123]** Un agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-R soluble) puede proporcionarse en un kit. En una realización, el kit incluye a) un recipiente que contiene una composición que incluye un agente bloqueante de TWEAK y, opcionalmente, b) material informativo. El material informativo puede ser descriptivo, educativo, comercial u otro material relacionado con los procedimientos descritos en este documento y/o el uso de agentes para beneficio terapéutico.

[0124] En una realización, el kit también incluye un segundo agente para el tratamiento de un trastorno inflamatorio, por ejemplo, un agente bloqueante de TNF- α . Por ejemplo, el kit incluye un primer recipiente que contiene una composición que incluye el agente bloqueante de TWEAK y un segundo recipiente que incluye el segundo agente.

[0125] El material informativo de los kits no se limita a esta forma. En una realización, el material informativo puede incluir información sobre la producción del compuesto, su peso molecular, concentración, fecha de caducidad, lote o información sobre el centro de producción, etc. En una realización, el material informativo se refiere a procedimientos de administración del agente bloqueante de TWEAK (p. ej., un anticuerpo o proteína TWEAK-R soluble) y/o un agente bloqueante de TNF- α , por ejemplo, en una dosis, forma o modo de administración adecuados (p. ej., una dosis, forma o modo de administración descritos en este documento), para tratar a un sujeto que ha padecido (o está en riesgo de padecer) una enfermedad inflamatoria u otro trastorno descrito en este documento. La información puede proporcionarse en diversos formatos, como texto impreso, material legible mediante ordenador, registros de video o de audio, o información en la que se proporciona un enlace o dirección a material significativo.

[0126] Además del agente bloqueante, la composición en el kit puede incluir otros componentes como un disolvente o tampón, un estabilizante o un conservante. El agente bloqueante puede proporcionarse en cualquier forma, por ejemplo, en forma líquida, seca o liofilizada, preferiblemente en forma sustancialmente pura y/o estéril. Cuando los agentes se proporcionan en una solución líquida, dicha solución líquida preferiblemente es una solución acuosa. Cuando los agentes se proporcionan en forma seca, la reconstitución generalmente se hace mediante adición de un disolvente adecuado. El disolvente, por ejemplo, agua o tampón estéril, puede proporcionarse opcionalmente en el kit.

[0127] El kit puede incluir uno o más recipientes para la composición o composiciones que contienen los agentes. En algunas realizaciones, el kit contiene recipientes, divisores o compartimentos independientes para la composición y el material informativo. Por ejemplo, la composición puede estar contenida en una botella, vial o jeringa y el material informativo puede estar contenido en una funda o paquete de plástico. En otras realizaciones, los elementos independientes del kit están contenidos dentro de un recipiente único sin compartimentar. Por ejemplo, la composición está contenida en una botella, vial o jeringa que tiene unida el material informativo en forma de etiqueta. En algunas realizaciones, el kit incluye diversos (p. ej., un paquete) recipientes individuales, conteniendo cada recipiente una o más formas de unidades de dosis (p. ej., una forma de administración descrita en este documento) de los agentes. Los recipientes pueden incluir una combinación de unidad de dosis, por ejemplo, una unidad que incluya el agente bloqueante de TWEAK y el segundo agente, por ejemplo, en una proporción deseada. Por ejemplo, el kit incluye diversas jeringas, ampollas, paquetes de aluminio, blísteres o dispositivos médicos, conteniendo, por ejemplo, cada uno una unidad de dosis de combinación única. Los recipientes de los kits pueden estar cerrados herméticamente, ser impermeables al agua (p. ej., impermeables a los cambios de humedad o evaporación) y/u opacos.

[0128] Opcionalmente, el kit incluye un dispositivo adecuado para la administración de la composición, por ejemplo, una jeringa y otro dispositivo de administración adecuado. El dispositivo puede proporcionarse previamente cargado con uno o ambos agentes o puede estar vacío, pero dispuesto para su carga.

Análisis de ácidos nucleicos y de proteínas

[0129] Hay numerosos procedimientos para la detección de proteínas y ácidos nucleicos de TWEAK o TWEAK-R así como proteínas y ácidos nucleicos de otros biomarcadores descritos en este documento (incluyendo los enumerados en la tabla 1) disponibles para el experto en la materia, incluyendo procedimientos a base de anticuerpos para la detección de proteínas (p. ej., inmunotransferencia o ELISA) y procedimientos basados en la hibridación para la detección de ácidos nucleicos (p. ej., PCR o transferencia de ARN).

[0130] Las matrices son herramientas moleculares especialmente útiles para la caracterización de una muestra, por ejemplo, una muestra de un sujeto. Por ejemplo, puede usarse en un procedimiento descrito en este documento una matriz que tenga sondas de captura para múltiples genes, incluyendo sondas para TWEAK y/u otros biomarcadores o para múltiples proteínas. La expresión alterada de ácidos nucleicos y/o proteínas de TWEAK (u otros biomarcadores proporcionados en este documento) puede usarse para evaluar una muestra, por ejemplo, una muestra de un sujeto para evaluar un trastorno descrito en este documento.

[0131] Las matrices puede tener muchas direcciones, por ejemplo, sitios localizables en un sustrato. Las matrices mencionadas pueden configurarse en diversos formatos; ejemplos no limitantes de los cuales se describen a continuación. El sustrato puede ser opaco, translúcido o transparente. Las direcciones pueden distribuirse sobre el sustrato en una dimensión, por ejemplo, una matriz lineal, en dos dimensiones, por ejemplo, una matriz plana o en tres dimensiones, por ejemplo, una matriz tridimensional. El sustrato sólido puede presentar cualquier silueta o forma conveniente, por ejemplo, cuadrado, rectangular, ovoide o circular.

[0132] Pueden fabricarse matrices mediante diversos procedimientos, por ejemplo, procedimientos fotolitográficos (véanse, p. ej., las patentes de EE. UU. N.º 5.143.854, 5.510.270 y 5.527.681), procedimientos mecánicos (p. ej., procedimientos de flujo dirigido como se describe en la patente de EE. UU. N.º 5.384.261), procedimientos a base de pines (p. ej., como se describe en la patente de EE. UU. N.º 5.288.514) y técnicas a base de perlas (p. ej., como se

describe en el documento PCT US/93/94145).

[0133] La sonda de captura puede ser un ácido nucleico monocatenario, un ácido nucleico bicatenario (p. ej., que se desnaturaliza antes o durante la hibridación) o un ácido nucleico que tiene una región monocatenaria y una región bicatenaria. Preferiblemente, la sonda de captura es monocatenaria. La sonda de captura puede seleccionarse mediante diversos criterios y, preferiblemente, se diseña mediante un programa de ordenador con parámetros de optimización. La sonda de captura puede seleccionarse para hibridar con una región de secuencia rica (p. ej., no homopolimérica) del gen. La T_m de la sonda de captura puede optimizarse seleccionado de forma prudente la región complementaria y la longitud. Idealmente, la T_m de todas las sondas de captura en la matriz es similar, por ejemplo, dentro de los 20, 10, 5, 3 o 2°C de diferencia entre unas y otras.

[0134] El ácido nucleico aislado es preferiblemente ARNm que puede aislarse mediante procedimientos rutinarios, por ejemplo, incluyendo tratamiento con ADNasa para eliminar el ADN genómico e hibridación con un sustrato sólido conjugado con oligo-dT (p. ej., como se describe en *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley e hijos, N. Y.). El sustrato se lava y se eluye el ARNm.

[0135] El ARNm aislado puede transcribirse de forma inversa y, opcionalmente, amplificarse, por ejemplo, mediante PCRti como se ha descrito en la patente de EE. UU. N.º 4.683.202. El ácido nucleico puede ser un producto de amplificación, por ejemplo, obtenido mediante PCR (patentes de EE. UU. N.º 4.683.196 y 4.683.202), amplificación por círculo rodante («RCA», patente de EE. UU. N.º 5.714.320), amplificación isotérmica de ARN o NASBA (patentes de EE. UU. N.º 5.130.238, 5.409.818 y 5.554.517) y amplificación por desplazamiento de la cadena (patente de EE. UU. N.º 5.455.166). El ácido nucleico puede marcarse durante la amplificación, por ejemplo, mediante la incorporación de un nucleótido marcado. Entre los ejemplos de marcadores preferidos se incluyen marcadores fluorescentes, por ejemplo, colorante rojo fluorescente Cy5 (Amersham) o colorante verde fluorescente Cy3 (Amersham) y marcadores quimioluminiscente, como se describe, por ejemplo, en la patente de EE. UU. 4.277.437. Alternativamente, el ácido nucleico puede estar marcado con biotina, y detectarse tras la hibridación con estreptavidina marcada, por ejemplo, estreptavidina-ficoeritrina (Molecular Probes).

[0136] El ácido nucleico marcado puede ponerse en contacto con la matriz. Además, puede ponerse en contacto un ácido nucleico control o un ácido nucleico de referencia con la misma matriz. El ácido nucleico control o el ácido nucleico de referencia pueden estar marcados con un marcador distinto al que del ácido nucleico de muestra, por ejemplo, uno con una diferencia máxima de emisión. Los ácidos nucleicos marcados pueden ponerse en contacto con una matriz en condiciones de hibridación. La matriz puede lavarse y, a continuación, se realizó un procedimiento de detección de la fluorescencia en cada uno de las direcciones de la matriz.

[0137] El nivel de expresión de un TWEAK u otro biomarcador puede determinarse usando un anticuerpo específico para el polipéptido (p. ej., usando una inmunotransferencia o un ensayo de tipo ELISA). Además, los niveles de expresión de proteínas múltiples, incluyendo TWEAK y los ejemplos de biomarcadores proporcionados en este documento, pueden determinarse rápidamente en paralelo usando una matriz de polipéptidos con sondas de captura de anticuerpos para cada uno de los polipéptidos. Pueden generarse anticuerpos específicos para un polipéptido mediante un procedimiento descrito en este documento (véase «Generación de anticuerpos»). El nivel de expresión de TWEAK y de los ejemplos de biomarcadores proporcionados en este documento puede determinarse en un sujeto (p. ej., en un estudio por imagen *in vivo*) o en una muestra biológica del sujeto (p. ej., sangre, plasma o líquido sinovial).

[0138] Se han desarrollado matrices de proteínas de baja densidad (formato de 96 pocillos) en las que las proteínas se reparten sobre una membrana de nitrocelulosa (Ge (2000) *Nucleic Acids Res.* 28, e3, I-VII). Se formó una matriz de proteínas de alta densidad (100.000 muestran en 222 x 222 mm) usada para la selección de anticuerpos repartiendo las proteínas sobre difluoruro de polivinilideno (PVDF) (Lueking y col. (1999) *Anal. Biochem.* 270:103-111). Véanse también, p. ej., Mendoza y col. (1999). *Biotechniques* 27:778-788, MacBeath y Schreiber (2000) *Science* 289:1760- 1763 y De Wildt y col. (2000) *Nature Biotech.* 18:989-994. Estos procedimientos y otros conocidos en la técnica pueden usarse para generar una matriz de anticuerpos para detectar la abundancia de polipéptidos en una muestra. La muestra puede estar marcada, por ejemplo, biotinilada, para su posterior detección con estreptavidina conjugada con un marcador fluorescente. A continuación, la matriz puede escanearse para determinar la unión a cada dirección.

[0139] Las matrices de ácidos nucleicos y de polipéptidos pueden usarse en una amplia variedad de aplicaciones. Por ejemplo, las matrices pueden usarse para analizar una muestra de un paciente. La muestra se compara con datos obtenidos previamente, por ejemplo, muestras clínicas conocidas u otras muestras del paciente. Adicionalmente, las matrices pueden usarse para caracterizar una muestra de un cultivo celular, por ejemplo, para determinar el estado celular tras variar un parámetro como la exposición del cultivo celular a un antígeno, a un transgén o a un compuesto de prueba.

[0140] Los datos de expresión pueden almacenarse en una base de datos, por ejemplo, una base de datos relacional como la base de datos SQL (p. ej., entornos de bases de datos de Oracle o Sybase). La base de datos puede tener tablas múltiples. Por ejemplo, los datos de expresión sin procesar pueden almacenarse en una tabla, en la que cada columna se corresponde con un gen analizado, por ejemplo, una dirección o una matriz, y cada fila se corresponde

con una muestra. En una tabla distinta pueden almacenarse los identificadores y la información de la muestra, por ejemplo, el número de lote de la matriz utilizada, la fecha y otra información sobre el control de calidad.

[0141] Los perfiles de expresión obtenidos a partir del análisis de expresión génica en una matriz pueden usarse para comparar las muestras y/o células en diversos estados como se describe en Golub y col. ((1999) Science 286:531). La información sobre la expresión (p. ej., expresión del ARNm o expresión de proteínas) para un gen que codifica TWEAK y/o un gen que codifica uno de los biomarcadores ejemplo proporcionados en este documento se evalúa, por ejemplo, mediante la comparación con un valor de referencia, por ejemplo, un valor de referencia. Los valores de referencia pueden obtenerse a partir de un control, por ejemplo, un sujeto de referencia. Los valores de referencia también pueden obtenerse mediante análisis estadístico, por ejemplo, proporcionando un valor de referencia para una cohorte de sujetos, como sujetos que coincidan en edad y sexo, por ejemplo, sujetos normales o sujetos que tienen artritis reumatoide u otro de los trastornos descritos en este documento. La similitud estadística con una referencia en especial (p. ej., con una referencia a una cohorte asociada de riesgo) o una cohorte normal puede usarse para proporcionar una evaluación (p. ej., una indicación de riesgo de trastorno inflamatorio) a un sujeto, por ejemplo, un sujeto al que no se ha diagnosticado ninguno de los trastornos descritos en este documento.

[0142] Los sujetos adecuados para el tratamiento también pueden ser evaluables para la expresión y/o actividad de TWEAK y/u otro biomarcador. Los sujetos pueden identificarse como adecuados para el tratamiento (por ejemplo, con un agente bloqueante de TWEAK) si la expresión y/o actividad de TWEAK y/o el otro biomarcador está elevada con respecto a una referencia, por ejemplo, un valor de referencia, tal como, un valor de referencia asociado con la normalidad.

[0143] Los sujetos a los que se ha estado administrando un agente descrito en este documento u otro tratamiento pueden ser evaluados como se ha descrito para la expresión y/o actividad de TWEAK y/u otros biomarcadores descritos en este documento. El sujeto puede ser evaluado en múltiples ocasiones, por ejemplo, en múltiples ocasiones durante el transcurso del tratamiento, por ejemplo, durante una pauta posológica. El tratamiento del sujeto puede modificarse dependiendo de cómo está respondiendo al tratamiento. Por ejemplo, una reducción en la expresión o actividad de TWEAK o una reducción en la expresión o actividad de genes estimulados por TWEAK puede ser indicativa de ausencia de respuesta.

[0144] Los efectos particulares mediados por un agente pueden mostrar diferencias (p. ej., en relación con un sujeto no tratado, sujeto control u otra referencia) que sean estadísticamente significativas (p. ej., valor de $p < 0,05$ o $0,02$). La significancia estadística puede determinarse mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica. Entre las pruebas estadísticas se incluyen: la prueba de la T de Students, la prueba no paramétrica U de Mann Whitney y la prueba estadística no paramétrica de Wilcoxon. Algunas relaciones estadísticamente significativas tiene un valor de p menor de $0,05$ o $0,02$.

Procedimientos de evaluación del material genético

[0145] Existen numerosos procedimientos para evaluar el material genético y obtener información genética. Estos procedimientos pueden usarse para evaluar un locus genético que incluya un gen que codifique TWEAK o un gen que codifique un biomarcador descrito en este documento. Los procedimientos pueden utilizarse para evaluar uno o más nucleótidos, por ejemplo, una región codificadora o no codificadora de un gen, por ejemplo, una región reguladora (p. ej., un promotor, una región que codifica una región o intrón no traducido, etc).

[0146] Las muestras de ácido nucleico pueden analizarse usando técnicas biofísicas (p. ej., hibridación, electroforesis, etc.), secuenciación, técnicas a base de enzimas y combinaciones de las mismas. Por ejemplo, puede usarse la hibridación de muestras de ácidos nucleico con micromatrices de ácidos nucleicos para evaluar las secuencias en una población de ARNm y para evaluar polimorfismos genéticos. Entre otras técnicas basales en la hibridación se incluyen unión de cebadores específicos de secuencia (p. ej., PCR o LCR), análisis mediante transferencia de ADN, por ejemplo, ADN genómico; análisis mediante transferencia de ARN, por ejemplo, ARNm; técnicas basadas en sondas fluorescentes (véase, p. ej., Beaudet y col. (2001) Genome Res. 11 (4):600-8) y amplificación específica de alelo. Entre las técnicas enzimáticas se incluyen la digestión con enzimas de restricción, secuenciación y extensión de una única base (SBE). Estas y otras técnicas son bien conocidas por los expertos en la materia.

[0147] Entre las técnicas electroforéticas se incluyen electroforesis capilar y detección de polimorfismo de conformaciones monocatenarias (SSCP) (véanse, por ejemplo, Myers y col. (1985) Nature 313:495-8 y Ganguly (2002) Hum. Mutat. 19(4):334-42). Entre otros procedimientos biológicos se incluye la desnaturalización mediante cromatografía líquida de alta resolución (DHPLC).

[0148] La tecnología de amplificación específica de alelo que depende de la amplificación mediante PCR selectiva puede usarse para obtener información genética. Los oligonucleótidos utilizados como cebadores para una amplificación específica pueden ser portadores de la mutación de interés en el centro de la molécula (de manera que la amplificación dependa de la hibridación diferencial) (Gibbs y col. (1989) Nucl. Acids Res. 17:2437-2448) o en el extremo 3' terminal de uno de los cebadores donde, en condiciones apropiadas, una falta de apareamiento puede impedir o reducir la extensión de la reacción de la polimerasa (Prossner (1993) Tibtech 11 :238). Además, es posible introducir un

sitio de restricción en la región de la mutación para crear una detección en función de la escisión (Gasparini y col. (1992) Mol. Cell Probes 6:1). La amplificación puede realizarse usando la ligasa Taq para la amplificación (Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189). En estos casos, el ligamiento se producirá sólo si existe un apareamiento perfecto en el extremo 3' de la secuencia 5', lo que hace posible detectar la presencia de una mutación conocida en un sitio específico observando la presencia o ausencia de amplificación.

[0149] Entre los procedimientos enzimáticos para detectar secuencias se incluyen procedimientos basados en la amplificación como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; Saiki y col. (1985) Science 230:1350-1354) y reacción en cadena de la ligasa (LCR; Wu. y col. (1989) Genomics 4:560-569; Barringer y col. (1990), Gene 1989:117-122; F. Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988:189-193); procedimientos basados en la transcripción que utilizan la síntesis de ARN mediante ARN polimerasas para amplificar el ácido nucleico (patente de EE. UU. N.º 6.066.457; 6.132.997 y 5.716.785; Sarkar y col. (1989) Science 244:331-34; Stofler y col. (1988) Science 239:491); NASBA (patentes de EE. UU. N.º 5.130.238, 5.409.818 y 5.554.517), amplificación por círculo rodante (RCA; patentes de EE. UU. N.º 5.854.033 y 6.143.495) y amplificación por desplazamiento de la cadena (SDA; patentes de EE. UU. N.º 5.455.166 y 5.624.825). Los procedimientos de amplificación pueden usarse en combinación con otras técnicas.

[0150] Entre otras técnica enzimáticas se incluye la secuenciación usando polimerasas, por ejemplo, ADN polimerasas y variaciones de las mismas, como tecnología de extensión de una única base. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. N.º 6.294.336, 6.013.431 y 5.952.174.

[0151] También puede usarse la detección basada en la fluorescencia para detectar polimorfismos de ácidos nucleicos. Por ejemplo, diferentes ddNTP terminadores pueden marcarse con diferentes colorantes fluorescentes. Un cebador puede hibridar cerca o inmediatamente adyacente a un polimorfismo y el nucleótido en el sitio polimórfico puede ser detectado mediante el tipo (p. ej., «color») del colorante fluorescente que se ha incorporado.

[0152] La hibridación con micromatrices también puede usarse para detectar polimorfismos, incluyendo SNP. Por ejemplo, puede colocarse un conjunto de oligonucleótidos diferentes, con el nucleótido polimórfico en diversas posiciones con los oligonucleótidos sobre una matriz de ácido nucleico. El grado de hibridación en función de la posición e hibridación con oligonucleótidos específicos para el otro alelo puede usarse para determinar si se presenta un polimorfismo en particular. Véanse, por ejemplo, la patente de EE. UU. N.º 6.066.454.

[0153] Las sondas de hibridación pueden incluir uno o más errores adicionales de apareamiento para desestabilizar la formación del dúplex y hacer más sensible el ensayo. El error de apareamiento puede estar directamente adyacente a la posición problema o a 10, 7, 5, 4, 3 o 2 nucleótidos de la posición problema. Las sondas de hibridación también pueden seleccionarse para que tengan una T_f en particular, por ejemplo, entre 45-60°C, 55-65°C o 60-75°C. En un ensayo múltiple, la T_f puede seleccionarse para que esté entre 5, 3 o 2°C de diferencia entre unas u otras.

[0154] También es posible secuenciar directamente el ácido nucleico para un locus genético en particular, por ejemplo, mediante amplificación y secuenciación, o amplificación, clonación y secuencia. Pueden usarse aparatos de secuenciación automáticos de alto rendimiento (p. ej., a base de capilares o microchip). La secuencia de una proteína de interés se analiza para inferir su secuencia genética. Los procedimientos de análisis de una secuencia de proteínas incluyen secuenciación de proteínas, espectroscopia de masas, inmunoglobulinas específicas de secuencia/epitope y digestión con proteasas .

[0155] También puede usarse cualquier combinación de los procedimientos anteriores. Los procedimientos anteriores pueden usarse para evaluar todo locus genético, por ejemplo, en un procedimiento para analizar la información genética de grupos particulares de individuos o en un procedimiento para analizar un polimorfismo asociado con un trastorno descrito en este documento, por ejemplo, artritis reumatoide, por ejemplo, en un gen que codifica TWEAK u otro biomarcador descrito en este documento.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Ejemplos de secuencias

[0156] A continuación se recoge un ejemplo de secuencia de una proteína TWEAK humana.

MAARRSQRRR GRRGEPGTAL LVPLALGLGL ALACLGLLLA VVSLGSRASL
SAQEPAQEEL VAEEDQDPSE LNPQTEESQD PAPFLNRLVR PRRSAPKGRK
TRARRAIAAH YEVHPRPGQD GAQAGVDGTV SGWEARINS SSPLRYNRQI

GEFIVTRAGL YYLYCQVHFD EGKAVYLKLD LLVDGVLALR CLEEPSATAA
SSLGPQLRLC QVSGLLALRP GSSLRIRTLF WAHLKAAPFL TYFGLFQVH (SEQ
ID NO:1)

[0157] A continuación se recoge un ejemplo de secuencia de una proteína Fn14 humana:

MARGSLRRLR RLLVLGLWLA LLRSVAGEQA PGTAPCSRGS SWSADLDKCM
DCASCRARPH SDFCLGCAAA PPAPFRLWP ILGGALSLTF VLGLLSGFLV
WRRCCRREKF TTPIEETGGE GCPAVALIQ (SEQ ID NO:2)

5

Ejemplo 2: Genes activados sinérgicamente por TWEAK y TNF- α

[0158] Se analizaron micromatrices para identificar genes cuya expresión en sinoviocitos humanos era inducible por TWEAK y TNF- α . A continuación se recogen ejemplos de genes activados sinérgicamente por TWEAK y TNF- α .

Tabla 1. Genes activados sinérgicamente por TWEAK y TNF- α

ID de afinidad	anotación
208229_at	-
216064_s_at	-
220396_at	-
222332_at	-
207999_s_at	adenosina desaminasa, específica de ARN, BI (homólogo en rata REDI)
202109_at	proteína que interacciona con el factor de ADP ribosilación 2 (arfaptin 2)
201444_s_at	proteína accesoria a la ATPasa lisosomal transportador de H ⁺ 2
210538_s_at	IAP del baculovirus con 3 repeticiones
221534_at	proteína basófila expresada en leucemia BLES03
203773_x_at	biliverdina reductasa A
205733_at	síndrome de Bloom
211314_at	subunidad 1G alfa del canal de calcio dependiente de voltaje
217118_s_at	marco de lectura abierto 9 del cromosoma 22
216607_s_at	citocromo P540, familia 51, subfamilia A, polipéptido 1
213279_at	deshidrogenasa/reductasa (familia SDR) miembro 1
209703_x_at	proteína DKFZP586A0522
210839_s_at	ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 2 (autotoxina)
210002_at	proteína de unión a GATA 6
212241_at	receptor de glutamato, ionotrópico 1A, similar al receptor de N-metil-D-aspartato
208055_s_at	dominio hect y RLD 4
204512_at	proteína 1 de unión al potenciador del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo I
216510_x_at	cadena pesada gamma 1 de la inmunoglobulina (marcador G1m)
201548_s_at	dominio IB de interacción con regiones rica en AT (similar a RBP2) Jumonji
220972_s_at	proteína asociada con queratina 9-9
212805_at	KIAA0367
212546_s_at	KIAA0826
215680_at	proteína KIAA1 654
218906_x_at	probablemente ortólogo de la cadena ligera de quinesina 2
210104_at	mediador de la transcripción de la ARN polimerasa II, homólogo a subunidad 6 (levadura)
214397_at	proteína 2 con dominio de unión a metil CpG 2
212713_at	proteína 4 asociada a microfilamentos
203901_at	proteína 1 que interacciona con la proteína quinasa quinasa quinasa 7 activada por mitógeno
213040_s_at	receptor de pentraxina neuronal
202783_at	nicotinamida nucleótido transhidrogenasa
211691_x_at	ARNm de la antizima 4 de la ornitina descarboxilasa, secuencia codificadora completa
205991_s_at	homeobox relacionado pareado 1
204715_at	panexina 1

214735_at	proteína de unión a fosfoinosítido PIP3-E
203709_at	fosfolipasa quinasa, gamma 2 (testículos)
207709_at	subunidad catalítica alfa 2, proteína quinasa, activada por AMP
213136_at	proteína tirosina fosfatasa no receptora de tipo 2
213524_s_at	posible gen de paso de linfocitos G0/G1
202388_at	regulador de señalización de proteínas G 2 de 24 kDa.
218441_s_at	proteína 1 asociada a la ARN polimerasa II
212140_at	proteína SCC-112
201471_s_at	secuestrosoma 1
212609_s_at	antígeno de cáncer de colon serológicamente definido 8
212393_at	factor de unión SET 1
214931_s_at	SFRS proteína quinasa 2
M97935_MB_at	traductor de señales y activador de transcripción de 1,91 kDa
204804_at	antígeno AI del síndrome de Sjögren (autoantígenos ribonucleoproteína SS-A/Ro de 52 kDa)
214925_s_at	espectrina alfa, no eritrocítica 1 (alfa-fodrina)
221268_s_at	esfingosina 1-fosfato fosfatasa 1
212154_at	sindecán 2 (heparán sulfato proteoglicano 1, fibroglicano asociado a la superficie celular)
212800_at	sintaxina 6
201449_at	proteína de unión a ARN asociado a gránulos citotóxicos TIAI
216241_s_at	factor de elongación de transcripción A (SII), 1
201399_s_at	proteína de membrana asociada a la translocación 1.
210372_s_at	proteína tumoral similar a D52 1
206959_s_at	regulador UPF3 del homólogo A de transcritos complementarios (levadura)
219393_s_at	Homólogo 3 del oncogén vírico del timoma murino v-akt (proteína quinasa B, gamma)
205205_at	homólogo B del oncogén vírico de la reticuloendoteliosis v-rel, factor nuclear 3 del potenciador del gen del polipéptido ligero kappa en células B (aves)
Id conjunto de sondas	Nombre del gen
1405_i_at	Ligando 5 de quimioquinas (motivo C-C) (CCL5)
204490_s_at	antígeno CD44 (función de recirculación y sistema de grupos sanguíneo hindú) (CD44)
204655_at	RANTES (SCYA5)
205619_s_at	Homeo box 1 de mesénquima (MEOX1)
	similar al receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (NM_006207)
	receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblastos
	factor de crecimiento de fibroblastos 22
	ligando 18 de quimioquinas (motivo C-C)

[0159] Aún se conocen otros genes que se activan tanto por i) TWEAK en ausencia de TNF- α como por ii) TNF- α en ausencia de TWEAK.

5 **Ejemplo 3: Efecto de la combinación de bloqueo de TWEAK y TNF en mCIA determinado mediante las puntuaciones medias del índice de artritis**

[0160] El modelo de artritis inducida por colágeno en ratón (mCIA) es un modelo utilizado con frecuencia (véase, p. ej., Stuart y col., J. Clin. Invest 69:673-683 (1982)) de artritis reumatoide. Se usó un modelo mCIA para estudiar los efectos de una combinación de tratamiento anti-TWEAK y anti-TNF- α sobre el desarrollo de la artritis. La artritis se indujo en los ratones mediante inmunización con colágeno (CII/CFA: colágeno II y adyuvante completo de Freud). Se administraron un anticuerpo monoclonal anti-TWEAK (Acm anti-TWEAK mu + IgG1 hu); receptor de TNF- α soluble (TNFr-hu Fc + IgG2a mu), una combinación de anticuerpo monoclonal anti-TWEAK y receptor de TNF- α soluble (Acm anti-TWEAK mu + TNFr-hu Fc), PBS o controles negativos de isotipo coincidente los días 20, 23, 27, 30 y 34 tras la inmunización con colágeno. Cada grupo de tratamiento estaba compuesto por diez ratones. Cada anticuerpo se administró a una dosis de 10 mg/kg. La artritis se evaluó usando una puntuación media del índice de artritis (véase, p. ej., Li y col., Arthritis Res. Ther. 6:R273-R281 (2004)). Se midieron las cuatro patas por ratón usando el sistema de puntuación: 0= pata normal, 1= inflamación de dedos individuales, 2= inflamación moderada y enrojecimiento de las articulaciones del tobillo o la muñeca, 3= inflamación y enrojecimiento de al menos dos articulaciones y 4= inflamación de la pata completa. La suma de las puntuaciones de las cuatro patas (eje y) se representó frente a los días tras la inmunización con colágeno (eje x).

[0161] En la figura 1 se muestran los resultados de este estudio. Los ratones tratados con la combinación de agentes anti-TWEAK y anti-TNF- α tenían una puntuación media del índice de artritis menor que los ratones tratados solo con agente bloqueante o con los controles. También, como se indica en el lado derecho de la gráfica como «% de incidencia», los ratones tratados con la combinación tenían una incidencia de artritis (60%) global inferior que los ratones tratados solo con un agente (67% para el tratamiento anti-TNF- α , 80% para el tratamiento con Acm anti-TWEAK) o con los controles (80% para el tratamiento con PBS, 90% para el tratamiento con anticuerpo de isotipo

coincidente).

Ejemplo 4: Efecto de la combinación de bloqueo de TWEAK y TNF en mCIA determinado mediante las puntuaciones medias de la altura metatarsiana

[0162] El modelo mCIA se usó para estudiar los efectos de una combinación del tratamiento anti-TWEAK y anti-TNF- α sobre el desarrollo de la artritis determinado mediante la puntuación media de la altura metatarsiana/espesor de la pata (véase, p. ej., Campo y col., *Arthritis Res. Ther.* 5:R122-R131 (2003)). Los ratones fueron tratados con un anticuerpo monoclonal anti-TWEAK (Acm anti-TWEAK mu + IgG1 hu); receptor de TNF- α soluble (TNFRp55:hu Fc + IgG2a mu), una combinación de anticuerpo monoclonal anti-TWEAK y receptor de TNF- α soluble (Acm anti-TWEAK mu + TNFRp55:hu Fc), PBS o controles negativos de isotipo coincidente los días 20, 23, 27, 30 y 34 tras la inmunización con colágeno. Cada grupo de tratamiento estaba compuesto por diez ratones. Cada anticuerpo se administró a una dosis de 10 mg/kg. La altura metatarsiana se midió usando un calibre 38 días después de la inmunización con colágeno. Se representó la media de la altura metatarsiana (eje y) para cada ratón por tratamiento (eje x).

[0163] En la figura 2 se muestran los resultados de este estudio. Los ratones tratados con la combinación de agentes anti-TWEAK y anti-TNF- α tenían valores medios de la altura metatarsiana inferiores que los ratones tratados con un agente bloqueante solo o con los controles (* $p < 0,05$ para el valor medio por tratamiento cuando se comparaba con los controles).

Ejemplo 5: Efecto de la combinación de bloqueo de TWEAK y TNF en mCIA determinado mediante la variación del peso corporal.

[0164] El modelo mCIA se usó para estudiar los efectos de una combinación del tratamiento anti-TWEAK y anti-TNF- α sobre el desarrollo de la artritis determinado mediante el porcentaje de variación del peso corporal (Campo y col., *Arthritis Res. Ther.* 5:R122-R131 (2003)). Los ratones fueron tratados con un anticuerpo monoclonal anti-TWEAK (Acm anti-TWEAK mu + IgG1 hu (un control de isotipo coincidente para TNFRp55:hc Fc); receptor de TNF- α soluble (TNFRp55:hu Fc + IgG2a mu), una combinación de anticuerpo monoclonal anti-TWEAK y receptor de TNF- α soluble (Acm anti-TWEAK mu + TNFRp55:hu Fc), PBS o controles negativos de isotipo coincidentes los días 20, 23, 27, 30 y 34 tras la inmunización con colágeno. Cada grupo de tratamiento estaba compuesto por diez ratones. Cada anticuerpo se administró a una dosis de 10 mg/kg. Los ratones se pesaron en los diversos puntos temporales tras la inmunización con colágeno y la variación del porcentaje en el peso corporal se calculó por tratamiento. La variación en el porcentaje del peso corporal para cada tratamiento (eje y) se representó frente a los días tras la inducción de artritis mediante la inmunización con colágeno (eje x).

[0165] En la figura 3 se muestran los resultados de este estudio. Los ratones tratados con la combinación de agentes anti-TWEAK y anti-TNF- α tenían una variación del porcentaje del peso corporal significativamente menor desde un punto de vista estadístico que los ratones tratados solo con un agente bloqueante o con los controles (* $p < 0,01$ para el valor por tratamiento cuando se comparaba con los controles o con los ratones tratados con el TNFRp 55:hu Fc + IgG2a mu).

Ejemplo 6: Genes inducidos por TWEAK

[0166] Se aplicaron dosis de TWEAK (5 ng/ml y 50 ng/ml) a las células en los puntos temporales de 6 y 24 horas y se observó que algunos genes están modulados solo por TWEAK. Estos genes no se veían afectados por la aplicación de TNF- α , incluso a una concentración de 5 ng/ml. Entre los ejemplos de estos genes se encuentran:

Tabla 2

1. proteína quinasa quinasa quinasa 11 activada por mitógeno/NIK (MAP3K14)
2. ADNcFLJ11796 fis de *Homo sapiens*, clon HEMBA1006158, altamente similar al factor de transcripción de *Homo sapiens* para el gen similar al factor de transcripción forkhead 7 (FKHL7)
3. Similar a las glucosamina-6-sulfatadas de
4. Subunidad catalítica similar a REV3 (homólogo de levadura) de *Homo sapiens* de la ADN polimerasa zeta (REV3L), ARNm.
5. Desintegrina ADAM 10/a y dominio de metaloproteínasa 10
6. Factor nuclear (derivado de eritroide 2) similar al 1
7. Proteína de matriz nuclear relacionada con SerArg de *Homo sapiens* (ricas en prolinas similar a 101) (SRMI 60), ARNm
8. Quinasa similar a doblecortina y a CaM 1 de *Homo sapiens* (DCAMKLI), ARNm
9. Proteína efectora de Cdc42 4 de *Homo sapiens*, ligando de GTPasas Rho 4 (CEP4), ARNm
10. ARNm de *Homo sapiens*; ADNc de DKFZp762LI 06 (del clon DKFZp762LI 06); secuencias codificadoras parciales

[0167] Además, en sinoviocitos humanos normales, CBR3 e IL8 se inducen sólo por tratamiento con TWEAK (5 ng/ml)

Ejemplo 7: Experimentos con TWEAK

[0168] En la figura 4 se muestra que el tratamiento con anticuerpos monoclonales que bloquean TWEAK pueden reducir el desarrollo de la artritis en los modelos CIA de artritis en ratón y en rata. En el panel izquierdo se muestra que el tratamiento con un anticuerpo anti-TWEAK (Acm murino anti-TWEAK) tiene como resultado un valor menor en la media del índice de artritis en comparación con el tratamiento con un anticuerpo control (mIgG2a), en un modelo CIA en ratón en el que la artritis se indujo con CII/CFA. En el panel derecho se muestra que el tratamiento con un anticuerpo anti-TWEAK (Acm anti-TWEAK) tiene como resultado un valor menor en la media del índice de artritis en comparación con el tratamiento con un anticuerpo control (Ha 4/8) o PBS en un modelo CIA en rata en el que la artritis se indujo con colágeno II y adyuvante de Freud completo (CII/CFA).

[0169] En la figura 5 se muestra que los anticuerpos monoclonales que bloquean TWEAK pueden administrarse a la misma vez (pauta posológica 1) o después (pauta posológica 2) de la inducción de artritis por inmunización con colágeno y siguen teniendo el efecto de reducir el desarrollo de la artritis en los modelos de artritis CIA tanto en ratón como en rata. En el panel izquierdo se muestra que puede administrarse un anticuerpo anti-TWEAK antes o después de la inducción de la artritis para conseguir un valor menor en la media del índice de artritis, en comparación con la administración de un anticuerpo control (mIgG2a), en un modelo CIA en ratón. En el panel derecho se muestra que puede administrarse un anticuerpo anti-TWEAK antes o después de la inducción de la artritis para conseguir un valor menor en la media del índice de artritis, en comparación con la administración de un anticuerpo control (Ha 4/8) o PBS; en un modelo CIA en rata.

[0170] En la figura 6 se muestra que el tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-TWEAK (ABG.11) disminuye la inflamación en el modelo CIA en rata, según se determina mediante una puntuación clínica en la pata y una puntuación de inflamación global, el tratamiento también disminuye la pérdida de cartílago y de hueso, determinado mediante los parámetros de absorción ósea, disminución de la captación de toluidina azul y pérdida de cartílago articular. Se observaron resultados similares en el modelo CIA en ratón.

[0171] En la figura 7 se muestran los niveles TWEAK en el modelo CIA en ratón en los diversos puntos temporales (días (D) 23, 28, 30 y 38) tras la inducción de la artritis. Los niveles de TWEAK se elevaron en comparación con los niveles en los ratones control (DBA/1).

[0172] En la figura 8 se muestran los niveles de MMP9, linfotactina, IP-10 e IL-6 en los diversos puntos temporales (días 23, 30 y 40) tras la inducción de la artritis en el modelo CIA en ratón. El tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-TWEAK (P5G9 y P5G9 (completo, también denominada pauta posológica 1) prevenía un gran aumento en los niveles de estas proteínas en comparación con los niveles en los ratones tratados con un control (mIgG2a) o en ratones no inmunizados para desarrolla artritis (DBA normal). Se observaron resultados similares en el modelo CIA en rata.

[0173] Se realizaron experimentos para demostrar que la inhibición de TWEAK con anticuerpos anti-TWEAK no afecta a la respuesta inmunitaria adaptativa. Tras la inmunización con colágeno, los ratones que se habían tratado con anticuerpos monoclonales anti-TWEAK eran capaces de desarrollar respuestas de células B y células T específicas de colágeno en un grado similar a la de los ratones tratados con un control, un anticuerpo de isotipo coincidente (mIgG2a, datos no mostrados).

[0174] Se realizaron experimentos para determinar los niveles de Fn14 (receptor de TWEAK) en los tipos celulares humanos primarios que se encuentran en la articulación: sinoviocitos similares a fibroblastos, condrocitos articulares y osteoblastos. Experimentos de selección de células activadas por fluorescencia usando un anticuerpo anti-Fn14 (ITEM-4) o un anticuerpo control (anti-mFc) demostraron que los niveles de Fn14 estaban elevados con respecto al fondo en los tres tipos celulares, con niveles más elevados en los sinoviocitos y osteoblastos que en los condrocitos.

[0175] Se realizaron experimentos para demostrar que TWEAK y TNF- α pueden estimular la producción de metaloproteasas de la matriz por parte de los condrocitos. Los niveles de MMP-1, MMP-2, MMP-3 y MMP-9 aumentaban todos ellos tras el tratamiento con TWEAK (100 ng/ml) o TNF- α (50 ng/ml).

[0176] Se realizaron experimentos para demostrar los efectos agonistas sinérgicos de TWEAK o TNF- α . Los sinoviocitos similares a fibroblastos humanos se trataron con concentraciones variables de TWEAK solo, TNF- α solo o una combinación de TWEAK y TNF- α y el nivel de producción de RANTES con cada tratamiento se midió mediante ELISA. Tanto TWEAK como TNF- α inducían la producción de RANTES. Sin embargo, cuando TWEAK y TNF- α se administraron en combinación, se producía un nivel sinérgico de la producción de RANTES. Por tanto, TWEAK y TNF- α pueden actuar de forma sinérgica para inducir la expresión de genes inflamatorios en particular.

Ejemplo 8: Genes inducidos por el tratamiento con la combinación de TWEAK y TNF- α en sinoviocitos normales

[0177] Los sinoviocitos de un donante sano se cultivaron *in vitro* y se trataron con TWEAK a 5 ng/ml y TNF- α a 0,5 ng/ml. En la tabla 3 se enumeran los genes cuya expresión se vio afectada por el tratamiento con TWEAK y TNF- α a un grado estadísticamente significativo. Los genes se agrupan por su categoría ontológica de los mismos.

Tabla 3:

Ontología génica Go	Proteína	Valor de <i>p</i>
Regulación positiva de IκB	CASP1, CFLAR, LGLAS9, Myd88, SECTM1, TNFSF10, TRIM38	5,81e-018
Respuesta inflamatoria	CCL3, CCL4, CCL7, CCL8, CXCL9, ILRN, Myd88, TLR3	9,94e-007
Quimiotaxis	CCL3, CCL4, CCL7, CCL8, CXCL9, ERG1, SOCS1	0,0003
Respuesta a interferón	IFI44, WARS, IRF2	0,001

5

[0178] Los cambios se identificaron como categorías Go estadísticamente significativas en función de la media hipergeométrica.

Ejemplo 9: Genes inducidos por el tratamiento con la combinación de TWEAK y TNF-α en sinoviocitos de AR

10

[0179] Los sinoviocitos de un paciente con artritis reumatoide se cultivaron *in vitro* y se trataron con TWEAK a 5 ng/ml y TNF-α a 0,5 ng/ml. En la tabla 4 se enumeran los genes cuya expresión se vio afectada por el tratamiento con TWEAK y TNF-α a un grado estadísticamente significativo. Los genes se agrupan por su categoría ontológica de los mismos

15

Tabla 4:

Ontología génica Go	Proteína	Valor de <i>p</i>
Respuesta inflamatoria	CXCL10, CXCL3, PTGS2, APOL3	4,26e-005
Respuesta al estrés	CXCL10, CXCL3, PTGS2, APOL3, MDA5, MX1, PTGES, Rig-1	5,56e-006
Respuesta a estímulos bióticos	CXCL10, CXCL3, PTGS2, APOL3, MDA5, MX1, PTGES, Rig-1, GBp1	3,69E-009

20

[0180] Los cambios se identificaron como categorías Go estadísticamente significativas en función de la media hipergeométrica.

Ejemplo 10

25

[0181] P2D10 es un ejemplo de anticuerpo murino anti-TWEAK. La secuencia del dominio variable de la cadena pesada de P2D10 murino (SEQ ID NO: 3), con las CDR subrayadas es:

1 EVQLVESGGG LVRPGGSLKL FCAASGFTFS RYAMSWVRQS PEKRLEWVAE
51 ISSGGSPYY PDTVIGRFTI SRDNAKNTLY LEMSSLKSED TAMYCARVL
101 YYDYGDRIE VMDYWGQGTAV VIVSS

30

[0182] Este es un dominio variable de la cadena pesada del subgrupo 3D murino.

[0183] La secuencia del dominio variable de la cadena ligera de P2D10 murino (SEQ ID NO: 4), con las CDR subrayadas es:

1 DVVMTQSPLS LSVSLGDQAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPK
51 FLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSQTDFTLKI SRVAAEDLGV YFCSQSTHFP
101 RTFGGGTTLE IK

35

[0184] Este es una cadena ligera kappa del subgrupo 2 murino.

[0185] Este es un ejemplo de la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de IgG1 H1 madura de huP2D10 (SEQ ID NO: 5):

40

```

1  EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RYAMSWVRQA PGKGLEWVAE
51  ISSGGSYPPY PDTVTGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARVL
101 YYDYDGDRIE VMDYWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL
151 GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS
201 LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KKVEPKSCDK THTCPPCPAP ELLGGPSVFL
251 FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR
301 EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ
351 PREPQVYTLF PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK
401 TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMEAL HNHYTKSLS
451 LSPG

```

[0186]
NO: 6):

Este es un ejemplo de la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera L1 madura de huP2D10 (SEQ ID

5

```

1  DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPQ
51  FLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YPCSQSTHFP
101 RTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
151 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE

201 VTHQGLSSPV TKSFNREGC

```

[0187]
NO: 7):

Este es un ejemplo de la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera L2 madura de huP2D10 (SEQ ID

10

```

1  DVVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV SSKGNTYLHW YLQKPGQSPQ
51  LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEVGV YYCSQSTHFP
101 RTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
151 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
201 VTHQGLSSPV TKSFNREGC

```

REIVINDICACIONES

1. Uso de un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R, para la producción de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio, en el que el tratamiento comprende la administración de dicho agente bloqueante de TWEAK y la administración de un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de TNF- α o un TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R.
2. Uso de un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad del TNF- α o TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R, para la producción de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio, en el que el tratamiento comprende la administración de dicho agente bloqueante de TNF- α y la administración de un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de TWEAK o un TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R.
3. El uso de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el trastorno inflamatorio se selecciona entre el grupo compuesto por artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad intestinal inflamatoria, psoriasis, miositis inflamatoria, artritis reumatoide juvenil, psoriasis pediátrica e inflamación articular.
4. El uso de la reivindicación 3, en el que el trastorno inflamatorio es enfermedad intestinal inflamatoria.
5. El uso de la reivindicación 3, en el que el trastorno inflamatorio es miositis inflamatoria.
6. El uso de la reivindicación 3, en el que el trastorno inflamatorio es artritis reumatoide.
7. El uso de la reivindicación 6, en el que el tratamiento comprende administrar el agente bloqueante de TWEAK:
- a) al mismo tiempo que el agente bloqueante de TNF- α ;
 - b) dentro de un intervalo de tiempo desde la administración del agente bloqueante de TNF- α ;
 - c) como coformulación con el agente bloqueante de TNF- α ;
 - d) a un sujeto que ya está recibiendo el agente bloqueante de TNF- α o
 - e) a un sujeto que está abandonando o ha abandonado el tratamiento con el agente bloqueante de TNF- α .
8. El uso de las reivindicaciones 6 o 7, en el que el tratamiento es eficaz para:
- a) inhibir TWEAK y TNF- α en sinoviocitos, condrocitos, osteoclastos u osteoblastos;
 - b) reducir la transcripción de un conjunto de genes inducidos por programas celulares de TWEAK y TNF- α en sinoviocitos, condrocitos, osteoclastos u osteoblastos y/o
 - c) reducir la transcripción de uno o más genes enumerados en la tabla 1 en sinoviocitos, condrocitos, osteoclastos u osteoblastos.
9. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en el que el tratamiento no comprende la administración de metotrexato.
10. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que el tratamiento no comprende la administración de ningún otro fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FARME).
11. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en el que el tratamiento comprende la administración de un FARME adicional.
12. El uso de la reivindicación 11 en el que el FARME adicional es metotrexato.
13. El uso de la reivindicación 6, en el que el tratamiento se administra a:
- a) un sujeto que ya está recibiendo un FARME;
 - b) un sujeto que está abandonando o ha abandonado el tratamiento con un FARME;

- c) un sujeto que presenta una respuesta inadecuada a un FARME o
- d) un sujeto que presenta una respuesta inadecuada a un agente bloqueante de TNF- α seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une al TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R.
14. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13, en el que el tratamiento tiene como resultado una reducción estadísticamente significativa del daño articular determinado mediante la puntuación de la erosión de Sharp.
15. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 13, en el que el tratamiento además comprende evaluar al sujeto usando la puntuación de Sharp total (TSS), la puntuación de la erosión de Sharp, el índice de discapacidad de HAQ o un procedimiento radiológico.
16. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que el agente bloqueante de TWEAK es una forma soluble del receptor de TWEAK fusionado con una región Fc de un anticuerpo.
17. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el agente bloqueante de TNF- α comprende un anticuerpo que se une a TNF- α , TNFR-I o TNFR-II
18. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el agente bloqueante de TNF- α es infliximab o adalimumab.
19. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que el agente bloqueante de TNF- α es etanercept.
20. Un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R, para su uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio, en el que el tratamiento comprende la administración de dicho agente bloqueante de TWEAK y la administración de un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de TNF- α o un TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R.
21. Un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad del TNF- α o un TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R, para su uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio, en el que el tratamiento comprende la administración de dicho agente bloqueante de TNF- α y la administración de un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de TWEAK o un TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R.
22. El agente bloqueante de TWEAK para su uso según la reivindicación 20, o el agente bloqueante de TNF- α para su uso según la reivindicación 21, en el que el trastorno inflamatorio es artritis reumatoide.
23. El agente bloqueante de TWEAK para su uso según la reivindicación 20, o el agente bloqueante de TNF- α para su uso según la reivindicación 21, que tiene cualquiera de las características de las reivindicaciones 3 a 19.
24. Un kit que comprende un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R y un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad del TNF- α o un TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R, en el que los agentes se proporcionan como composiciones farmacéuticas independientes o como una única composición farmacéutica.
25. Una composición farmacéutica que incluye:
 un agente bloqueante de TWEAK que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de un TWEAK o TWEAK-R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TWEAK, un anticuerpo que se une a TWEAK-R y una forma soluble de TWEAK-R y
 un agente bloqueante de TNF- α que inhibe al menos parcialmente una interacción o actividad de TNF- α o un TNF- α -R seleccionado entre el grupo compuesto por un anticuerpo que se une a TNF- α , un anticuerpo que se une a TNF- α -R y una forma soluble de TNF- α -R.

Figura 1: Efecto de la combinación del bloqueo de TWEAK y TNF en mCIA (medición de la puntuación clínica)

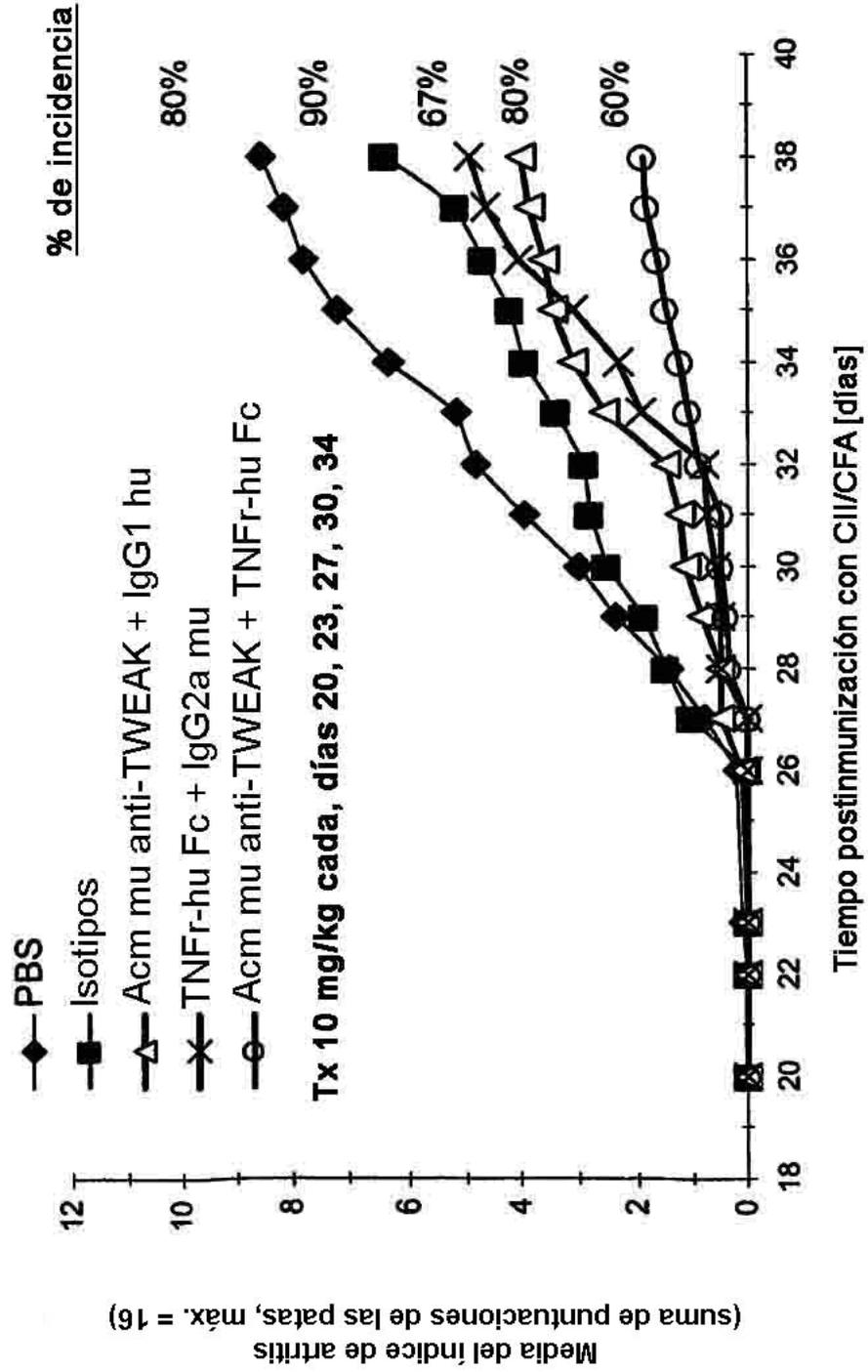


Figura 2: Efecto de la combinación del bloqueo de TWEAK y TNF en mCIA (medición de la altura metatarsiana a día 38)

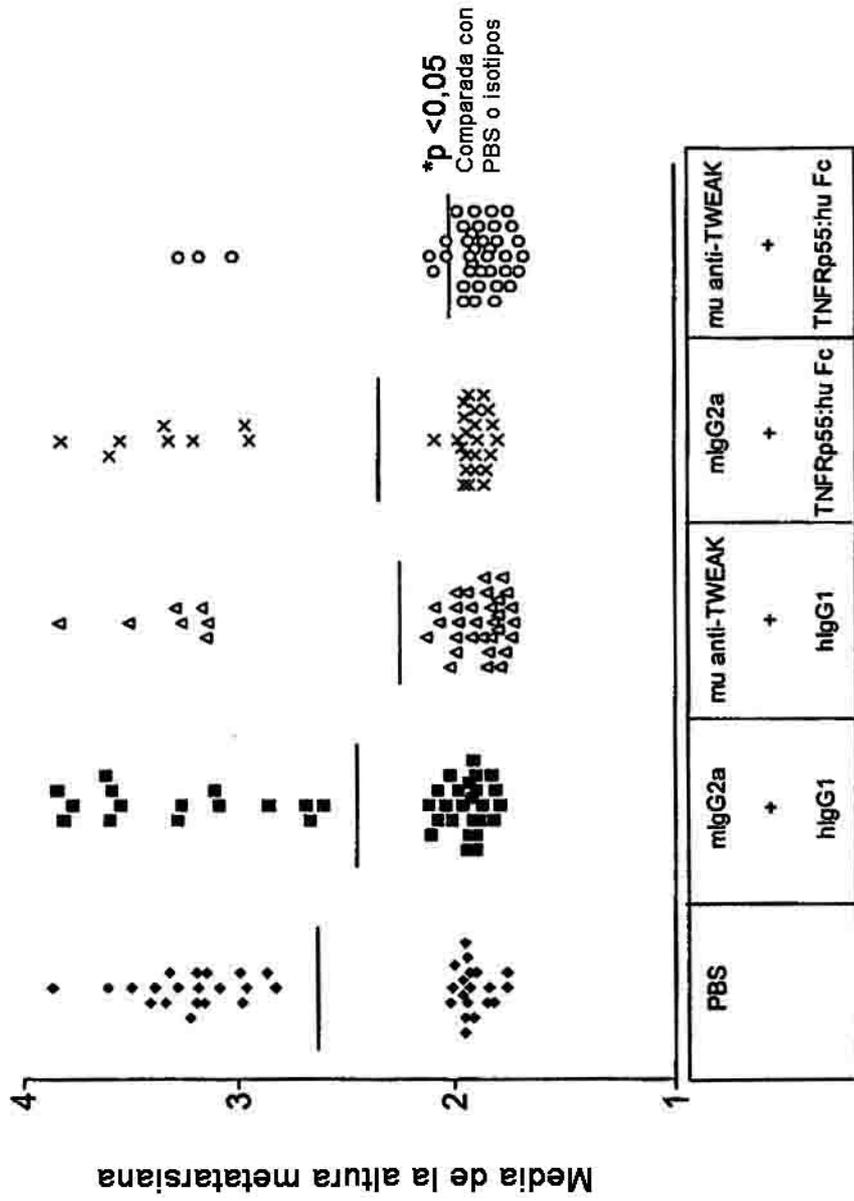


Figura 3: Efecto de la combinación de TWEAK y TNF en mCIA (medición del peso corporal)

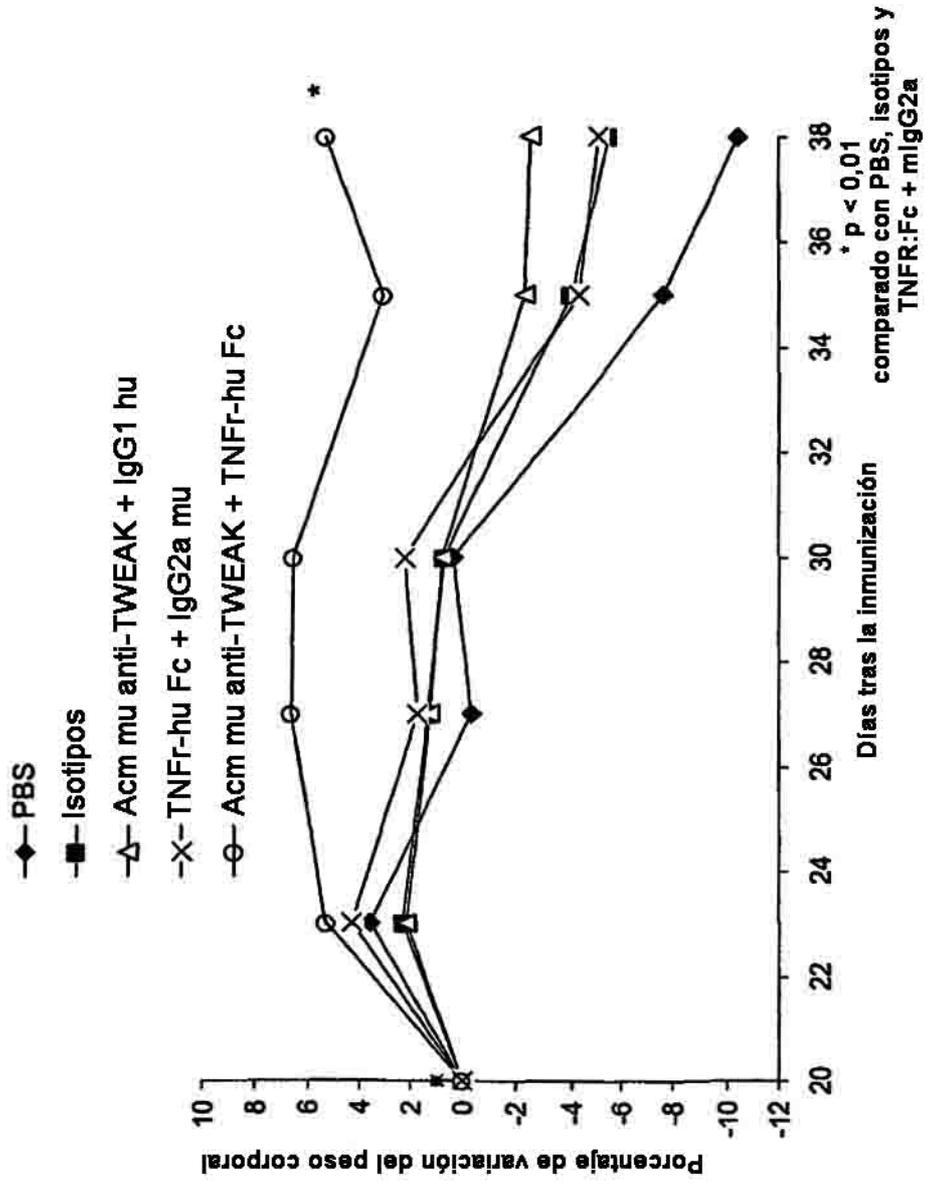
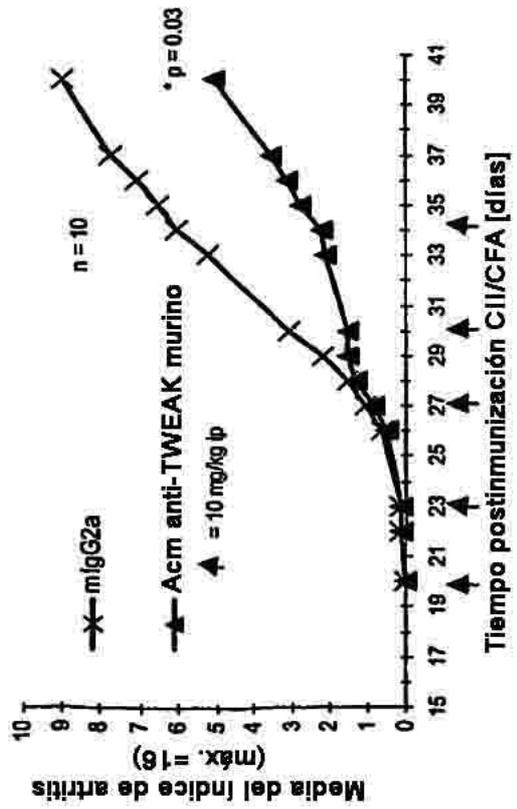
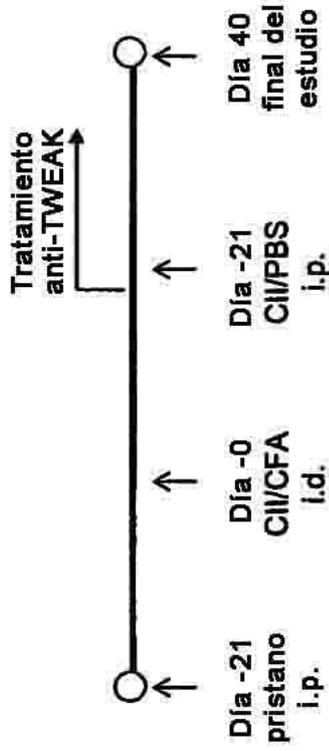


Figura 4 Los Acm que bloquean TWEAK son eficaces en ambos modelos CIA en ratón y en rata

CIA en ratón (DBA/1 macho)



CIA en rata (DA hembra)

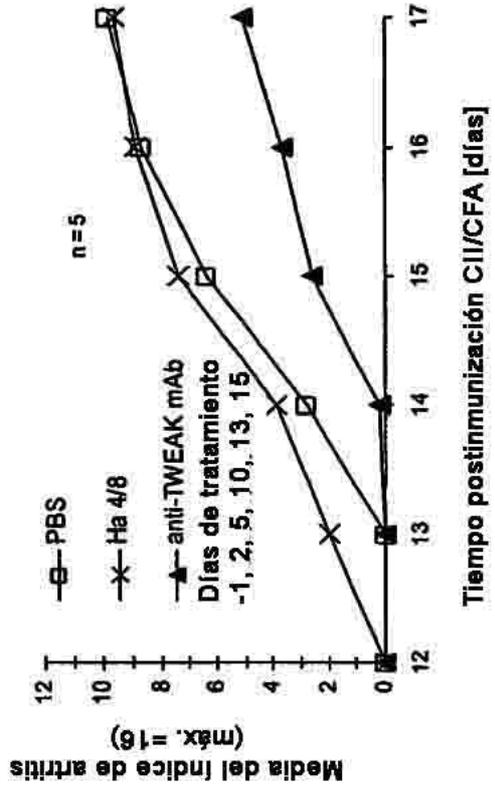
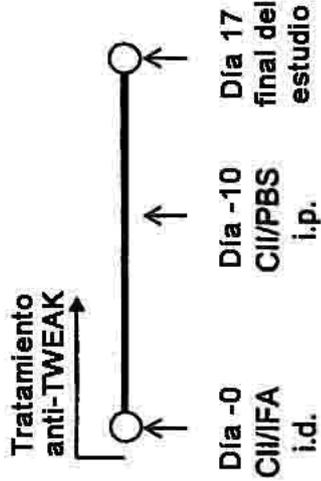
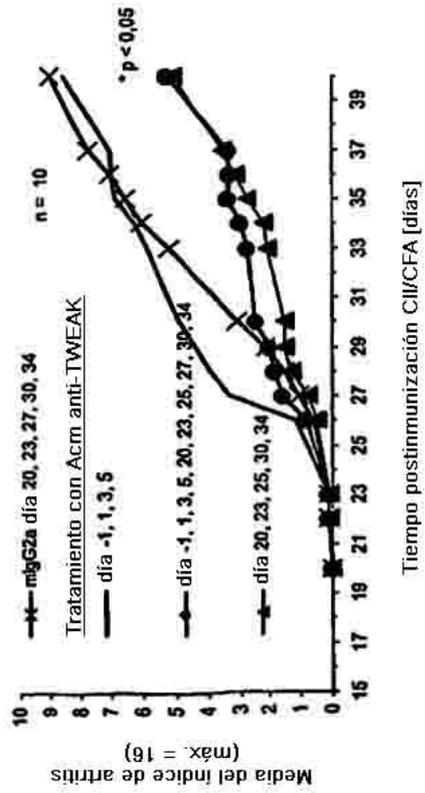
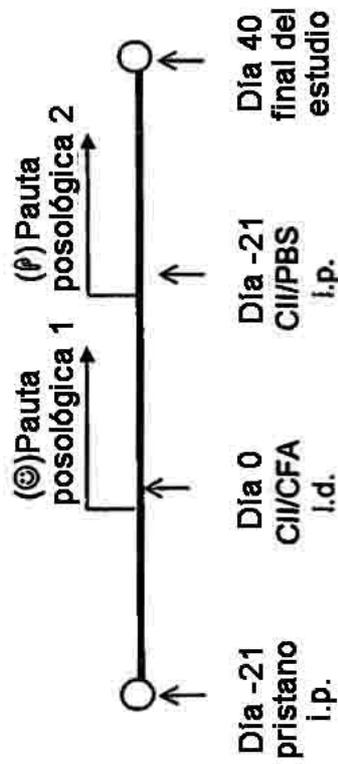


Figura 5: El efecto de la inhibición se produce durante o después de la fase de estimulación

CIA en ratón (DBA/1 macho)



CIA en rata (DA hembra)

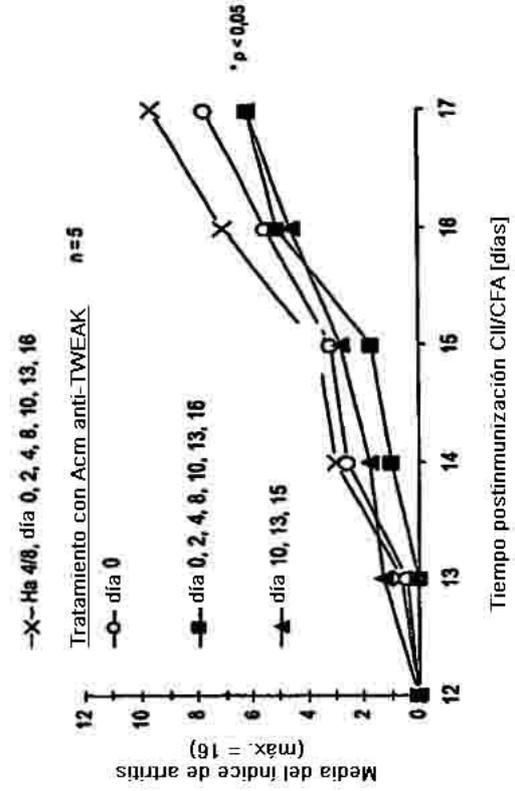
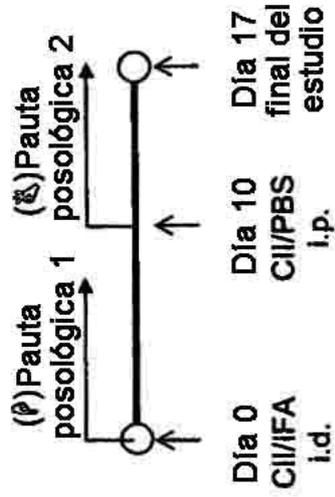


Figura 6: Los Acm anti-TWEAK inhiben la inflamación y la pérdida de cartílago/hueso en el modelo CIA en rata

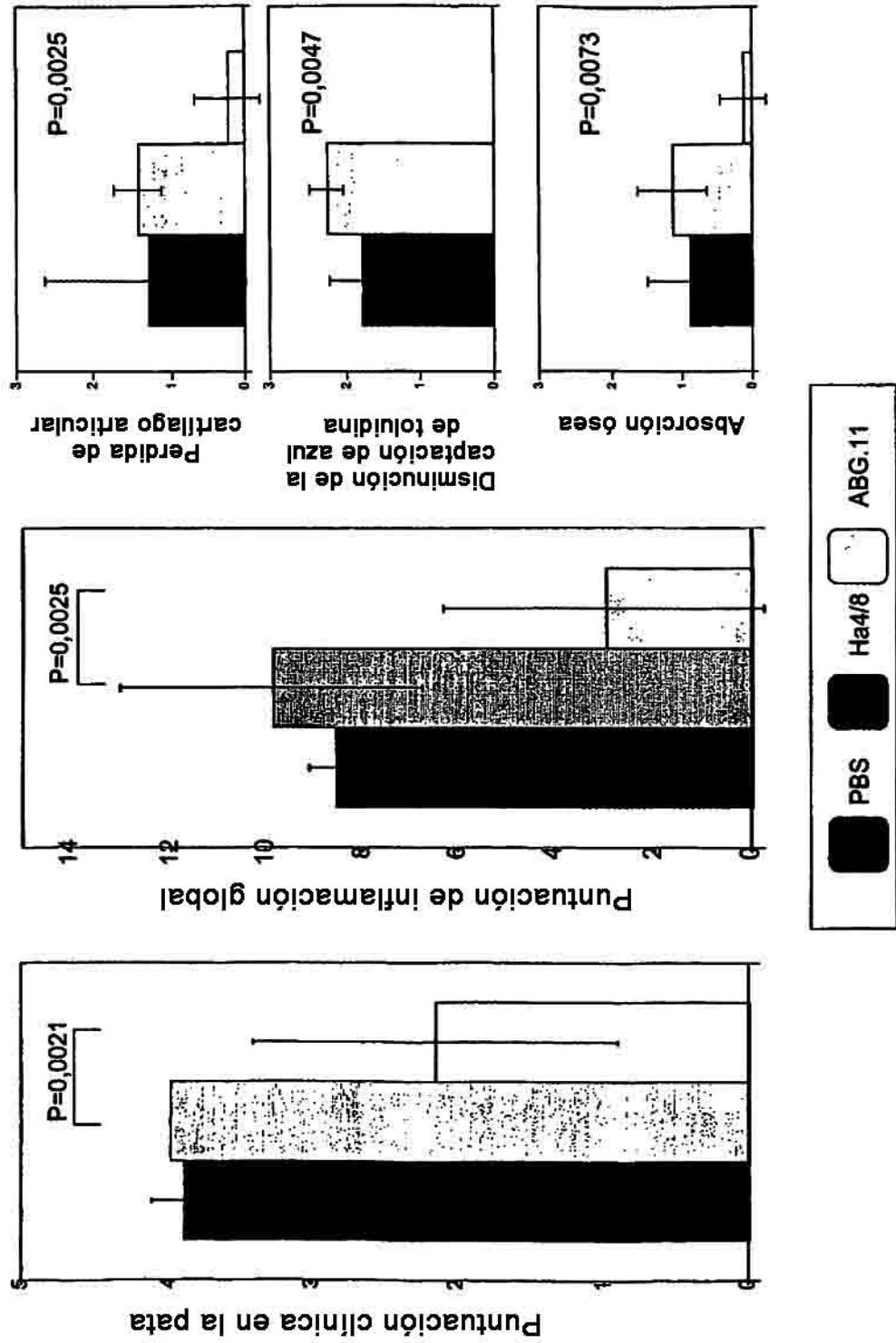


Figura 7: Niveles séricos de TWEAK durante el transcurso del mCIA

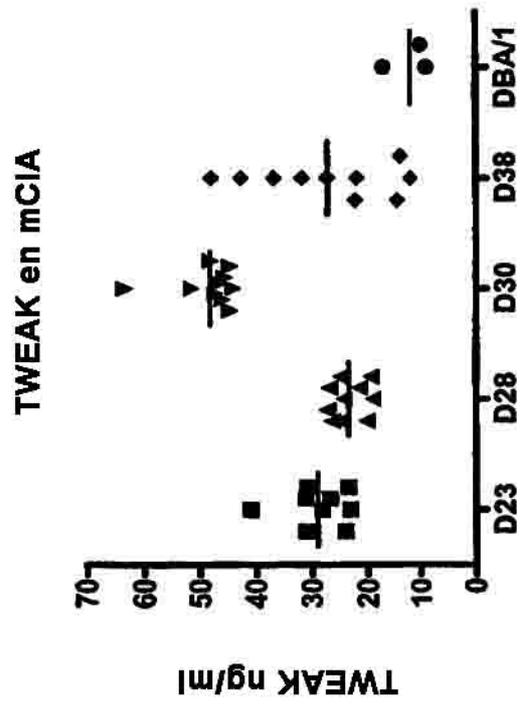


Figura 8: Los Acm anti-TWEAK modulan los niveles séricos de citocinas/quimioquinas en CIA

Modelo CIA en ratón

