

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 352**

51 Int. Cl.:

**A01N 43/54** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**C07K 16/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2008 E 08847680 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.10.2015 EP 2219452**

54 Título: **Métodos de tratamiento de la esclerodermia**

30 Prioridad:

**05.11.2007 US 996175 P**

**26.09.2008 US 100454 P**

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

**25.01.2016**

73 Titular/es:

**MEDIMMUNE, LLC (100.0%)  
ONE MEDIMMUNE WAY  
GAITHERSBURG, MD 20878, US**

72 Inventor/es:

**COYLE, ANTHONY**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 557 352 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

Métodos de tratamiento de la esclerodermia

5 Esta solicitud reivindica prioridad a la Solicitud de las Patentes Estadounidenses Nº 60/996.175 y 61/100.545.

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a un antagonista de interferón de tipo I (IFN), y composiciones de los mismos, para su uso en métodos para tratar/mejorar la esclerodermia y síntomas asociados, en el que el antagonista es un anticuerpo IFN $\alpha$ R o un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ .

Antecedentes de la invención

15 La esclerodermia, o esclerosis sistémica (SSC), es un trastorno autoinmune debilitante progresivo caracterizado por el exceso de deposición de proteínas en la matriz extracelular mediante fibroblastos dérmicos, también denominado fibrosis dérmica. Los pacientes con enfermedad cutánea difusa a menudo presentan marcadores únicos tales como la sobrerregulación de los genes inducidos por el interferón (IFN) de tipo I en la piel así como anticuerpos antinucleares séricos específicos para la topoisomerasa I. Respaldao la idea de que el IFN desempeña un papel  
20 en la fibrosis dérmica, están apareciendo recientes informes de esclerodermia en pacientes que reciben terapia de IFN para la infección viral crónica. Para una revisión de la esclerosis sistémica, véase Varga & Abraham, 2007, *J. Clin. Invest.*, 117:557-567.

25 Los IFN de tipo I,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\theta$ ,  $\kappa$ , y  $\omega$ , son citoquinas expresadas a partir de 13 genes de IFN- $\alpha$  funcional, un gen de IFN- $\beta$ , un gen de IFN- $\theta$ , un gen de IFN- $\kappa$ , y un gen de IFN- $\omega$ . (Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B, Kono DH. *Type I Interferons ( $\alpha/\beta$ ) in immunity and autoimmunity*. Immunol Rev. abril, 2005; 204:9-26). Existen al menos 28 subtipos de IFN- $\alpha$  potenciales, entre los cuales cabe mencionar los siguientes:  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2a,  $\alpha$ 2b,  $\alpha$ 4,  $\alpha$ 5,  $\alpha$ 6,  $\alpha$ 7,  $\alpha$ 8,  $\alpha$ 10,  $\alpha$ 16,  $\alpha$ 17 y  $\alpha$ 21. En ciertos casos, la referencia al subtipo de interferón alfa  $\alpha$ 2 abarca tanto  $\alpha$ 2a como  $\alpha$ 2b.

30 Todos los interferones de tipo I humano se unen a un receptor de la superficie celular (receptor IFN alfa, IFNAR) que consiste en dos proteínas transmembranales, IFNAR-1 e IFNAR-2 (Uze *et al.* (1990) *Cell* 60:225; Novick *et al.* (1994) *Cell* 77:391). La unión a este receptor da como resultado la activación de las vías de transducción de señales intracelulares (Stark GR, Kerr IM, Williams BR, Silverman RH, Schreiber RD. *Annu Rev Biochem* 1998; 67:227-64), iniciada por la activación de las quinasas Jak, Jak1 y Tyk2. Estas quinasas fosforilan posteriormente las proteínas de transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT), STATs 1 y 2. Las proteínas STAT fosforiladas  
35 forman el complejo del factor de transcripción, el factor génico 3 estimulado por IFN (ISGF3) que, junto con p48, se transloca en el núcleo. Estos complejos activan el elemento de respuesta estimulado por IFN (ISRE) que induce la expresión de los genes inducibles por IFN.

40 Además de las funciones antivirales específicas, los IFN de tipo I desempeñan un papel crítico en la regulación del sistema inmunitario. (Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B, Kono DH. *Type I Interferons (a/b) in immunity and autoimmunity*. Immunol Rev. abril, 2005; 204:9-26 y Belardelli F, Gresser I. *The neglected role of type I interferon in the T-cell response: implications for its clinical use*. Immunol Today 1996; 17:369-72). Diversos tipos de células, incluyendo monocitos, macrófagos, DCs, y linfocitos, así como otras células hematológicas, producen IFN de tipo I  
45 en respuesta a las citoquinas proinflamatorias, así como componentes de varios patógenos. Estas células también responden al IFN de tipo I y mejoran la expresión de moléculas inmunológicamente importantes tales como MHC de clase I, CD38, interleuquinas (BLyS, IL-6, IL-10 e IL-15), y quimioquinas (IL-8, MCP-1, MCP-2, MIG, MIP1a, MIP1b e, IP10). Además, los IFN de tipo I inducen múltiples funciones biológicas en los componentes clave del sistema inmunológico incluyendo células dendríticas, T, B y asesinas naturales (NK). Por ejemplo, los IFN de tipo I favorecen la maduración de DC, la proliferación de linfocitos T CD8 + de memoria, la inhibición de la apoptosis de linfocitos T CD4 +, la activación de las células NK, y la diferenciación de células B. (Banchereau J, Pascual V, Palucka AK. *Autoimmunity through cytokine-induced dendritic cell activation*. Immunity, Vol. 20, 539-550, mayo, 2004 y Taki S. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 13 (2002) 379-391 y Mailliard RB, Son YI, Redlinger R, Coates PT, Giermasz A, Morel PA, Storkus WJ, Kalinski P. *J Immunol*. 1 de sep de 2003; 171(5):2366-73).  
50

55 Aunque casi todas las células pueden producir IFN de tipo I en respuesta a la estimulación por componentes virales y bacterianos, las células dendríticas plasmocitoides (pDCs), o "células productoras de IFN natural" producen hasta 1000 veces más IFN de tipo I que otros tipos de células. La producción de IFN de tipo I puede inducirse mediante la estimulación de receptores de tipo toll endosomales (TLR), tales como TLR7 y TLR9, con ARN monocatenario (ssRNA), CpG hipometilados en el ADN bacteriano, o inmunocomplejos de autoantígeno-anticuerpo.  
60

Existe una necesidad para una mejor comprensión del papel de los interferones de tipo I en la patogénesis de la esclerodermia y para la identificación de nuevos tratamientos para esta enfermedad y sus manifestaciones clínicas.

65

## Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un antagonista del IFN de tipo I, y composiciones de los mismos, para su uso en métodos de tratamiento de la esclerodermia y los síntomas asociados con la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento. La presente divulgación proporciona además un antagonista de IFN de tipo I, y composiciones de los mismos, para su uso en métodos de reducción de la expresión del gen inducido por el interferón de tipo I asociado con la esclerodermia. El antagonista de IFN de tipo I de la invención es un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R o un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ .

## Breve descripción de las figuras

Con el fin de ilustrar la invención, se representan en los dibujos ciertas realizaciones de la invención. Sin embargo, la invención no se limita a las disposiciones e instrumentalidades precisas de las realizaciones representadas en los dibujos.

La Figura 1 muestra un diagrama de la producción de un modelo de esclerosis sistémica (SSc) en ratones, es decir, inducción de la enfermedad, en la que los ratones RAG2  $-/-$  se injertan con esplenocitos totales mal apareados de histocompatibilidad menor (miHag), y desarrollan con el tiempo síntomas de SSc tales como la deposición de colágeno dérmico y autoanticuerpos.

Las Figuras 2A y B son gráficos de los signos clínicos de la esclerodermia medidos con el tiempo en ratones sin inducción de la enfermedad (control), con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo contra el receptor del interferón alfa (IFNAR) (SSc +  $\alpha$ IFNAR), o con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (SSc + Isotipo de Ig; Fig. 2A) o (SSc + isotipo de Ig; Fig. 2B). En los ejes Y se muestra la puntuación de la piel (Fig. 2A) y la puntuación de la proteinuria (Fig. 2B). La Figura 2C presenta fotos de ratones tras la inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo contra el receptor del interferón alfa ( $\alpha$ IFNAR; panel superior), o en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (control de Ig; panel superior).

La Figura 3 A es una gráfica de barras que representa el análisis histopatológico de la piel con SSc en ratones RAG2  $-/-$  sin inducción de la enfermedad (sin injerto) (control), con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo contra el receptor del interferón alfa (SSc +  $\alpha$ IFNAR), o con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (SSc + isotipo de Ig). En el eje Y se muestra las puntuaciones de aditivos para la inflamación (0 = normal; 1 = infiltrado celular escaso; 2 = infiltrado moderado, 3 = infiltrado dérmico generalizado) y deposición de colágeno (0 = normal, 1 = leve, 2 = moderada; 3 = grave). La Figura 3B muestra la inmunohistoquímica de H & E representativo (panel izquierdo) y tinciones del tricrómico de Masson (panel derecho) de la piel de los ratones sin inducción de la enfermedad (control), con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo contra el receptor del interferón alfa (SSc +  $\alpha$ IFNAR), o con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (SSc + isotipo de Ig).

Las Figuras 4A-4F muestran la inmunohistoquímica de las secciones de piel teñidas con un anticuerpo de Ig de cabra anti-ratón conjugado con FITC (verde) o anticuerpo policlonal de rata anti-ratón C1q-PE (rojo) y montado en DAPI (azul). Las secciones de piel procedían de ratones de control de injerto singénico (Figs. 4A y 4D), ratones con inducción de SSc en presencia del control de isotipo de Ig (Figs. 4B y 4E), y ratones con inducción de SSc en presencia del anticuerpo anti-IFNAR (Figs. 4C y 4F).

La Figura 5A es un gráfico de barras que representa los autoanticuerpos anti-Scl-70 y anti-SSA séricos (IgG, IgA, IgM) detectados por ELISA de los sueros de los ratones sin inducción de la enfermedad (control), con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo contra el receptor del interferón alfa (SSc +  $\alpha$ IFNAR), o con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (SSc + isotipo de Ig). La Figura 5B presenta 3 gráficos de barras que representan las cantidades de IgG1 anti-Scl-70 (superior), IgG2 anti-Scl-70 (centro), y IgG1 anti-SSA (inferior), en sueros de ratones con inducción de la enfermedad (sin GVH), con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo contra el receptor del interferón alfa (10 mpk A53), o con inducción de la enfermedad en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (10 mpk 1A7). La Figura 5C muestra la inmunohistoquímica de secciones del bazo de los ratones de control de injerto singénico (paneles a y d), ratones con inducción de la SSc en presencia del control del isotipo de Ig (paneles b y e), y ratones con inducción de SSc en presencia del anticuerpo anti-IFNAR (paneles c y f), teñidos por CD45R/B220 (marrón) y aglutinina de cacahuete (rojo) para identificar los centros germinales (GC).

La Figura 6A es un gráfico de barras que representa el análisis cuantitativo mediante la clasificación celular por citometría de flujo (FACS) del número de células dendríticas plasmocitoides esplénicas (pDC) (B220 +/Gr-1lo/CD11c +/CD11b-) en los receptores del injerto mal apareado 2 semanas post-injerto (SSc) o controles RAG2  $-/-$  sin injerto (control). La Figura 6B presenta gráficos de la evolución temporal de la puntuación de la piel (izquierda) y proteinuria (derecha) en ratones RAG2  $-/-$  que se injertaron con esplenocitos totales mal apareados de miHag (esplenocitos totales) o con esplenocitos mal apareados de miHag deplecionados con Gr-1 (es decir, deplecionados con pDC) (esplenocitos Gr-1 (-)).

La Figura 7 es una presentación de un "mapa de riego" del análisis de los datos de la matriz del genoma completa (WGA) de genes que se reprimen o inducen en la piel de ratones sin inducción de la enfermedad de SSc (control), con inducción de la enfermedad de SSc en presencia de un anticuerpo de control del isotipo de Ig (control Ig), o con inducción de la enfermedad de SSc en presencia de un anticuerpo contra el receptor del

interferón alfa (α-IFNAR). Las puntuaciones clínicas de la piel, determinadas según se describe en la Figura 3A, muestran a continuación las columnas para cada muestra analizada de WGA.

Las Figuras 8A-8D resumen una serie de experimentos dirigidos al análisis de la expresión temporal de los IFN de tipo I en la piel GVH-SSc. La Figura 8A resume el análisis por qPCR de IFNα2, α5, α9 e inducción de ARNm β. Las Figuras 8B y 8C resumen el análisis por qPCR de IFNγ e IFNλ-2, respectivamente (los datos son representativos de 2 estudios, n = 4/intervalos de tiempo). La Figura 8D muestra la tinción inmunohistoquímica de IFNλ-3 en las células epiteliales dérmicas en GVH-SSc (panel inferior) y sin SSc (panel superior) (ampliación, 400x).

Las figuras 9A-9C resumen los datos del modelo animal de SSc inducida por GVH. El análisis de Fluidigm (qPCR) se realizó en muestras cutáneas de ratones tratados dos veces por semana con 10 mg/kg de peso corporal del anticuerpo murino anti-IFNAR1 5A3 (barras rayadas) o Ig de control (barras negras), y se comparó con la piel sin SSc (barras claras). La Figura 9A resume los resultados de expresión de cuatro genes inducibles por IFN (IFI44, MX1, OASL, OAS2) en dos intervalos de tiempo, y los datos indican que la expresión temprana es independiente de IFNAR1 y que la expresión crónica es dependiente de IFNAR-1. La Figura 9B resume los resultados que demuestran que la expresión génica inflamatoria (MPO, TNFα, IL-6, INOS) en la piel se reduce con el tratamiento de anticuerpo anti-IFNAR1. La Figura 9C resume los resultados que demuestran que la expresión de genes relacionados con el remodelado tisular (KLF10, TIMP, EPGN, MMP9) se reduce con el tratamiento de anticuerpo anti-IFNAR1.

20 Descripción detallada de la invención

#### TERAPIA DE ESCLERODERMIA

25 La presente invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en métodos de tratamiento de la esclerodermia o esclerosis sistémica así como un antagonista de IFN de tipo I para su uso en métodos de tratamiento de los síntomas de esclerodermia o esclerosis sistémica, en el que dicho antagonista es un anticuerpo anti-IFNαR o un anticuerpo anti-IFNα.

30 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "dosis terapéuticamente eficaz" de un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFNαR de la invención da como resultado preferentemente a una reducción de la severidad de los síntomas de la enfermedad, un aumento en la frecuencia y duración de los periodos libres de los síntomas de la enfermedad, o una prevención de la alteración o discapacidad debido a la afección de la enfermedad. En el caso de, por ejemplo, esclerodermia, una cantidad terapéuticamente eficaz o dosis preferentemente evita un mayor deterioro de los síntomas físicos asociados con esclerodermia o esclerosis sistémica, tales como, por ejemplo, fibrosis dérmica, lesiones cutáneas, alopecia, inflamación, engrosamiento dérmico, deposición de colágeno, proteinuria, producción de autoanticuerpos, y deposición del complemento. Una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz previene o retrasa preferentemente también la aparición de la esclerodermia o esclerosis sistémica, tal como puede desearse cuando los signos tempranos o preliminares de la enfermedad están presentes. Asimismo se incluye retrasar la progresión crónica asociada con esclerodermia o esclerosis sistémica. Las pruebas de laboratorio utilizadas en el diagnóstico de esclerodermia o esclerosis sistémica incluyen químicos, hematología, histopatología, serología y radiología. Por consiguiente, cualquier ensayo clínico o bioquímico que controla cualquiera de los anteriores puede utilizarse para determinar si un tratamiento en particular es una dosis terapéuticamente eficaz para el tratamiento de la esclerodermia o esclerosis sistémica. Un experto en la materia será capaz de determinar tales cantidades basándose en factores tales como el tamaño del sujeto, la gravedad de los síntomas del sujeto, y la composición o vía particular de administración seleccionada.

Como se utiliza en el presente documento, el término "tratar" se refiere a aliviar, mejorar, y/o disminuir la gravedad de la esclerodermia o esclerosis sistémica y síntomas asociados.

50 En algunas realizaciones, se proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en métodos de tratamiento de uno o más de los síntomas de la esclerodermia, que incluyen fibrosis dérmica, lesiones cutáneas, alopecia, inflamación, engrosamiento dérmico, deposición de colágeno, proteinuria, producción de autoanticuerpo, y deposición del complemento.

55 La gravedad, la progresión, la respuesta al tratamiento, y otras medidas clínicas de los síntomas de la esclerodermia generalmente incluyen una evaluación del paciente utilizando puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan, puntuación de la condición de Raynaud, medidas de la capacidad vital forzada como parte de las pruebas de función pulmonar, estudio hemodinámico por cateterismo cardíaco derecho, mediciones de creatina sérica, presión sanguínea y hemograma completo, y mediciones de los niveles séricos de creatinina fosfoquinasa (véase, por ejemplo, Furst, 2008, *Rheumatology*, 47:v29-v30 y Furst *et al.*, 2007, *J. of Rheumatology*, 34:5, 1194-1200).

60 La puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan es una puntuación clínica de la esclerodermia que utiliza palpación establecida para estimar el grosor de la piel en un paciente, utilizando mediciones en diecisiete sitios de la piel en el paciente y clasificando cada sitio con 0 = piel normal, 1 = engrosamiento de la piel, 2 = engrosamiento de la piel e imposible de pellizcar, y 3 = piel engrosada e incapaz de moverse, para un total de 51 puntos (véase Czirik

*et al.*, 2007, *Ann Rheum Dis.*; 66(7):966-9. Epub 18 de enero de 2007 y Brennan *et al.*, 1992, *Br J Rheumatol.*; 31(7):457-60).

Por consiguiente, en ciertas realizaciones, se proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora en los síntomas según la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan (es decir, una reducción en el valor de la puntuación de la piel modificado total).

En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho paciente tiene un pretratamiento con una puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan de 1 a 51 y un post-tratamiento con una puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan de  $x$  (1 a 51), en el que  $x = 1$  a 51 y el post-tratamiento con una puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan no es inferior a 0.

En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho paciente tiene un pretratamiento con una puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, o 51, y un post-tratamiento con una puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan de 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, o 0.

En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan en al menos 1. En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan en al menos 5. En una realización, la invención proporciona un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan en al menos 10. En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan en al menos 25.

En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27, al menos 28, al menos 29, al menos 30, al menos 31, al menos 32, al menos 33, al menos 34, al menos 35, al menos 36, al menos 37, al menos 38, al menos 39, al menos 40, al menos 41, al menos 42, al menos 43, al menos 44, al menos 45, al menos 46, al menos 47, al menos 48, al menos 49, al menos 50, o 51.

En ciertas realizaciones, se proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según la puntuación de la condición de Raynaud (RCS). El RCS es una autoevaluación diaria de la actividad de fenómeno de Raynaud que utiliza una escala de 0 a 10, con un número cada vez mayor que indica un empeoramiento de los síntomas asociados con la esclerodermia (véase, por ejemplo, Merkel *et al.*, 2002, *Arthritis & Rheumatism*, 46: 9, págs 2410-2420).

En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho paciente tiene un pretratamiento con una puntuación de RCS de 1 a 10 y un post-tratamiento con una puntuación de RCS de  $x$  (1 a 10), en el que  $x = 1$  a 10 y el post-tratamiento con una puntuación de RCS no es inferior a 0.

En una realización, la invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho paciente tiene un pretratamiento con una puntuación de RCS de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10, y un post-tratamiento con una puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, o 0.

La invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso en los siguientes métodos desvelados.

Se desvela en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 1. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 2. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 3. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 5. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 6. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 7. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 8. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 9. Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en 10.

Se desvela también en el presente documento un método de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce el valor de la puntuación de RCS en al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o 10.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según las mediciones clínicas de creatinina sérica.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según mediciones de los niveles de creatinina fosfoquinasa sérica.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según mediciones clínicas de la capacidad vital forzada como parte de las pruebas de función pulmonar.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según el estudio hemodinámico por cateterismo cardíaco derecho.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según la presión arterial y hemograma completo.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según el análisis histopatológico de las muestras cutáneas del paciente. Esta mejora puede medirse como una reducción en la inflamación según el infiltrado celular inflamatorio en la muestra del tejido, la deposición de colágeno, o el engrosamiento general de la dermis. El tratamiento con un antagonista de interferón de tipo I reduce la inflamación 2 veces. El tratamiento con un antagonista de interferón de tipo I reduce la inflamación 3 veces. El tratamiento con un antagonista de interferón de tipo I reduce la inflamación 5 veces.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento da lugar a una mejora de los síntomas según el análisis por qPCR realizado en las muestras cutáneas del paciente. Véase, por ejemplo, la Publicación de la Solicitud de la Patente Internacional WO/08070137A2, titulada *Interferon Alpha-Induced Pharmacodynamic Markers*.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce la expresión génica inflamatoria que incluye, pero no se limita a, MPO, TNF $\alpha$ , IL-6, e INOS. Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que el pretratamiento de dicho paciente exhibe un aumento de la expresión génica inflamatoria que incluye, pero no se limita a, MPO, TNF $\alpha$ , IL-6, e INO, y el post-tratamiento de dicho paciente exhibe una reducción de la expresión génica inflamatoria, que incluye, pero no se limita a MPO, TNF $\alpha$ , IL-6, e INOS. Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento proporciona una reducción en la expresión génica inflamatoria en al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, o al menos 10 veces según qPCR. Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento proporciona una reducción de al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 7 %, al menos 8 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, o al menos 90 % de la expresión génica inflamatoria según qPCR.

Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento reduce la expresión génica relacionada con el remodelado tisular, que incluye, pero no se limita a, KLF10, TIMP, EPGN, y MMP9. Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que el pretratamiento de dicho paciente exhibe un aumento de la expresión génica relacionada con el remodelado tisular que incluye, pero no se limita a, KLF10, TIMP, EPGN, y MMP9, y el post-tratamiento de dicho paciente exhibe una reducción en la expresión génica relacionada con el remodelado del tejido, que incluye, pero no se limita a, KLF10, TIMP, EPGN, y MMP9. Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento proporciona una reducción en la expresión génica relacionada con el remodelado tisular en al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, o al menos 10 veces según qPCR. Se desvelan también en el presente documento métodos de tratamiento de la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de interferón de tipo I, en el que dicho tratamiento proporciona una reducción de al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 7 %, al menos 8 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, o al menos 90 % de la expresión génica relacionada con el remodelado tisular según qPCR.

Los marcadores farmacodinámicos (PD) pueden utilizarse en métodos de tratamiento de pacientes con un agente terapéutico que se une a y antagoniza la actividad de IFN de tipo I, más particularmente, la actividad de IFN $\alpha$ , o la actividad de IFN $\alpha$ R, métodos que identifican a los pacientes como candidatos para un agente terapéutico que se une a y antagoniza la actividad de IFN de tipo I, más particularmente, la actividad de IFN $\alpha$ , o la actividad de IFN $\alpha$ R, métodos de diagnóstico de un paciente que tiene un trastorno asociado con un aumento de IFN de tipo I o, más particularmente, los niveles de IFN $\alpha$ , o la actividad de IFN $\alpha$ R, métodos de control de la progresión de la enfermedad de un paciente que recibe tratamiento con un agente terapéutico que se une a y antagoniza la actividad de IFN de tipo I, más particularmente, la actividad de IFN $\alpha$ , o la actividad de IFN $\alpha$ R, y métodos de identificación de un candidato terapéutico para el tratamiento de IFN de tipo I y, más particularmente, los trastornos mediados por IFN $\alpha$ , o mediados por IFN $\alpha$ R.

En un aspecto, la presente invención proporciona un antagonista de IFN de tipo I para su uso métodos de tratamiento para un paciente que tiene un trastorno o enfermedad mediado por IFN de tipo I que comprende administrar un antagonista de la actividad de IFN de tipo I; en el que el paciente comprende un perfil de la expresión del marcador de PD inducible por IFN de tipo I; y en el que el antagonista neutraliza el perfil de la expresión del marcador de PD inducible por IFN de tipo I del sujeto. El trastorno o enfermedad es esclerodermia o esclerosis sistémica.

Se desvelan también en el presente documento métodos de identificación, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la progresión de la enfermedad en los pacientes. Los pacientes incluyen cualquier animal que tiene una enfermedad, trastorno o afección inducible por un IFN de tipo I o IFN $\alpha$ . El paciente puede tener la enfermedad, trastorno, o afección como resultado de la investigación experimental, por ejemplo, puede ser un modelo experimental desarrollado para la enfermedad, trastorno, o afección. Alternativamente, el paciente puede tener la enfermedad, trastorno, o afección en ausencia de la manipulación experimental. Los pacientes incluyen seres humanos, ratones, ratas, caballos, cerdos, gatos, perros, y cualquier animal utilizado para la investigación.

Los métodos de identificación, diagnóstico, tratamiento, y seguimiento de la progresión de la enfermedad en los pacientes que utilizan perfiles de expresión del marcador de PD inducibles por IFN de tipo I o inducibles por IFN $\alpha$  y/o que utilizan un antagonista que neutraliza el perfil de expresión de marcador de PD inducible por IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$  del paciente se desvelan en la Solicitud de la Patente Internacional N<sup>o</sup> WO/08070137A2 titulada "*Interferon Alpha-induced Pharmacodynamic Markers*".

Un antagonista de IFN de tipo I que se une a y bloquea la actividad de IFN de tipo I o IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R puede neutralizar un perfil de IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$ . La neutralización del perfil de IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$  es una reducción en al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cinco, al menos siete, al menos ocho, al menos diez, al menos doce, al menos quince, al menos veinte, al menos veinticinco, al menos treinta, al menos treinta y cinco, al menos cuarenta, al menos cuarenta y cinco, o al menos cincuenta genes inducidos por IFN de tipo I o IFN $\alpha$ . Los genes inducidos por IFN de tipo I o IFN $\alpha$  pueden ser cualquier grupo de genes desvelados en la Solicitud de la Patente Internacional N<sup>o</sup> WO/08070137A2 titulada "*Interferon Alpha-induced Pharmacodynamic Markers*". La neutralización del perfil de IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$  es una reducción de al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 7 %, al menos 8 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, o al menos 90 % de cualquiera de al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cinco, al menos siete, al menos ocho, al menos diez, al menos doce, al menos quince, al menos veinte, al menos veinticinco, al menos treinta, al menos treinta y cinco, al menos cuarenta, al menos cuarenta y cinco, o al menos cincuenta genes en cualquier perfil de IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$ . Alternativamente, la neutralización del perfil de IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$  se refiere a una reducción de la expresión génica de IFN de tipo I o inducible por IFN $\alpha$  que está dentro de a lo sumo 50 %, a lo sumo 45 %, a lo sumo 40 %, a lo sumo 35 %, a lo sumo 30 %, a lo sumo 25 %, a lo sumo 20 %, a lo sumo 15 %, a lo sumo 10 %, a lo sumo 5 %, a lo sumo 4 %, a lo sumo 3 %, a lo sumo 2 %, o a lo sumo 1 % de los niveles de expresión de los genes de IFN de tipo I o inducibles por IFN $\alpha$  en una muestra de control. El agente puede neutralizar el perfil de IFN de tipo I o IFN $\alpha$  en dosis de 0,3 a 30 mg/kg, 0,3 a 10 mg/kg, 0,3 a 3 mg/kg, 0,3 a 1 mg/kg, 1 a 30 mg/kg, 3 a 30 mg/kg, 5 a 30 mg/kg, 10 a 30 mg/kg, 1 a 10 mg/kg, 3 a 10 mg/kg, o 1 a 5 mg/kg.

El agente que se une a y modula, más particularmente, antagoniza la actividad de IFN de tipo I o IFN $\alpha$  puede además o alternativamente neutralizar la expresión de uno o más subtipos de IFN de tipo I o IFN $\alpha$ . Los subtipos de IFN $\alpha$  o de IFN de tipo I pueden incluir más de uno, más de dos, más de tres, más de cuatro, más de cinco, más de seis, más de siete, más de ocho, más de nueve o más diez subtipos de IFN $\alpha$  o IFN de tipo I. Estos subtipos pueden incluir IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 6, IFN $\alpha$ 7, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, IFN $\alpha$ 14, IFN $\alpha$ 17, IFN $\alpha$ 21, IFN $\beta$  o IFN $\omega$ . Estos subtipos pueden incluir todos los IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 8, e IFN $\alpha$ 14. Alternativamente, estos subtipos pueden incluir IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, IFN $\alpha$ 21. La neutralización de los subtipos de IFN $\alpha$  o IFN de tipo I pueden ser una reducción de al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 7 %, al menos 8 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, o al menos 90 % de cualquiera de al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cinco, al menos siete, al menos ocho, o al menos diez de los subtipos. La neutralización de los subtipos de IFN $\alpha$  o IFN de tipo I puede ser una reducción en la expresión de los genes del subtipo de IFN $\alpha$  o IFN de tipo I que está dentro de a lo sumo 50 %, a lo sumo 45 %, a lo sumo 40 %, a lo sumo 35 %, a lo sumo 30 %, a lo sumo 25 %, a lo sumo 20 %, a lo sumo 15 %, a lo sumo 10 %, a lo sumo 5 %, a lo sumo 4 %, a lo sumo 3 %, a lo sumo 2 %, o a lo sumo 1 % de los niveles de expresión de los subtipos de IFN $\alpha$  o IFN de tipo I en una muestra de control. El agente puede neutralizar los subtipos del IFN $\alpha$  o IFN de tipo I en dosis de 0,3 a 30 mg/kg, 0,3 a 10 mg/kg, 0,3 a 3 mg/kg, 0,3 a 1 mg/kg, 1 a 30 mg/kg, 3 a 30 mg/kg, 5 a 30 mg/kg, 10 a 30 mg/kg, 1 a 10 mg/kg, 3 a 10 mg/kg, o 1 a 5 mg/kg.

El agente que se une a y modula, más particularmente, antagoniza la actividad del IFN tipo I o IFN $\alpha$  puede además o alternativamente neutralizar la expresión de los receptores de IFN $\alpha$ , IFNAR1 o IFNAR2, o ambos, o TNF $\alpha$ , o IFN $\gamma$ , o receptores IFN $\gamma$  (IFNGR1, IFNGR2, o tanto IFNGR1 como IFNGR2). La neutralización de la expresión de

los receptores de IFN $\alpha$ , IFNAR1 o IFNAR2, o ambos, o TNF, o IFN $\gamma$ , o receptores de IFN $\gamma$  (IFNGR1, IFNGR2, o tanto IFNGR1 como IFNGR2) puede ser una reducción de al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 7 %, al menos 8 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, o al menos 90 % de cualquiera de al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cinco, o al menos seis de estos genes. La neutralización de la expresión de los receptores de IFN $\alpha$ , IFNAR1 o IFNAR2, o TNF $\alpha$ , o IFN $\gamma$  o receptores de IFN $\gamma$  (IFNGR1, IFNGR2, o tanto IFNGR1 como IFNGR2) es una reducción de la expresión de a lo sumo 50 %, a lo sumo 45 %, a lo sumo 40 %, a lo sumo 35 %, a lo sumo 30 %, a lo sumo 25 %, a lo sumo 20 %, a lo sumo 15 %, a lo sumo 10 %, a lo sumo 5 %, a lo sumo 4 %, a lo sumo 3 %, a lo sumo 2 %, o a lo sumo 1 % de los niveles de expresión de estos genes en una muestra de control. El agente puede neutralizar la expresión de los receptores de IFN $\alpha$ , IFNAR1 o IFNAR2, o TNF $\alpha$ , o IFN $\gamma$ , o receptores de IFN $\gamma$ , IFNGR1 o IFNGR2 en dosis de 0,3 a 30 mg/kg, 0,3 a 10 mg/kg, 0,3 a 3 mg/kg, 0,3 a 1 mg/kg, 1 a 30 mg/kg, 3 a 30 mg/kg, 5 de 30 mg/kg, 10 a 30 mg/kg, 1 a 10 mg/kg, 3 a 10 mg/kg, o 1 a 5 mg/kg.

#### 15 Dosificación y administración

La cantidad de la composición de la invención que será eficaz en el tratamiento, la prevención o la gestión de la esclerodermia/esclerosis sistémica y los síntomas de la enfermedad se puede determinar mediante técnicas de investigación convencional. La selección de la dosis eficaz preferente puede determinarse (por ejemplo, a través de ensayos clínicos) por un experto en la materia basándose en la consideración de varios factores que conocerán los expertos en la materia. Tales factores incluyen los síntomas implicados, la masa corporal del paciente, el estado inmunitario del paciente y otros factores conocidos por el experto en la materia para reflejar la precisión de las composiciones farmacéuticas administradas.

25 La dosis precisa que se va a emplear en la formulación también dependerá de la vía de administración, y la gravedad de los síntomas de la esclerodermia que aparecen, y debe decidirse según el juicio del médico y las circunstancias de cada paciente. Las dosis eficaces se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta obtenidas a partir de sistemas de prueba de modelo *in vitro* o animal.

30 Para los anticuerpos, la dosificación administrada a un paciente es típicamente 0,1 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal del paciente. En una realización, la dosificación administrada a un paciente es entre 0,1 mg/kg y 20 mg/kg de peso corporal del paciente. En otra realización, la dosificación administrada a un paciente es entre 1 mg/kg y 10 mg/kg de peso corporal del paciente. En otra realización, la dosificación administrada a un paciente es entre 0,3 mg/kg y 30 mg/kg de peso corporal del paciente. En otra realización, la dosificación administrada a un paciente es entre 0,3 mg/kg y 3,0 mg/kg. En otra realización, la dosificación administrada a un paciente es 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 3,0 mg/kg, 4,0 mg/kg, 5,0 mg/kg, 6,0 mg/kg, 7,0 mg/kg, 8,0 mg/kg, 9,0 mg/kg, 10,0 mg/kg, 11,0 mg/kg, 12,0 mg/kg, 13,0 mg/kg, 14,0 mg/kg, 15,0 mg/kg, 16,0 mg/kg, 17,0 mg/kg, 18,0 mg/kg, 19,0 mg/kg, 20,0 mg/kg, o 25 mg/kg. En una realización específica, la dosificación administrada a un paciente se selecciona entre el grupo que consiste en 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg, 10 mg/kg, y 30 mg/kg del peso corporal del paciente.

45 En realizaciones específicas, las dosificaciones de un anticuerpo (opcionalmente en un transportador farmacéuticamente aceptable como parte de una composición farmacéutica) son al menos aproximadamente 0,0005, 0,001, 0,05, 0,075, 0,1, 0,25, 0,375, 0,5, 1, 2,5, 5, 10, 20, 37,5 o 50 mg/m<sup>2</sup> y/o menos de aproximadamente 500, 475, 450, 425, 400, 375, 350, 325, 300, 275, 250, 225, 200, 175, 150, 125, 100, 75, 60, 50, 37,5, 20, 15, 10, 5, 2,5, 1, 0,5, 0,375, 0,1, 0,075 o 0,01 mg/m<sup>2</sup>. En ciertas realizaciones, la dosificación es de entre aproximadamente 0,0005 a aproximadamente 200 mg/m<sup>2</sup>, entre aproximadamente 0,001 y 150 mg/m<sup>2</sup>, entre aproximadamente 0,075 y 125 mg/m<sup>2</sup>, entre aproximadamente 0,375 y 100 mg/m<sup>2</sup>, entre aproximadamente 2,5 y 75 mg/m<sup>2</sup>, entre aproximadamente 10 y 75 mg/m<sup>2</sup>, y entre aproximadamente 20 y 50 mg/m<sup>2</sup>. En realizaciones relacionadas, la dosificación de un anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R utilizada es al menos aproximadamente 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,5, 15, 15,5, 16, 16,5, 17, 17,5, 18, 18,5, 19, 19,5, 20, 20,5 mg/kg de peso corporal de un paciente.

55 En realizaciones específicas, la dosis de un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o anti-IFN $\alpha$ R utilizada es al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 10, aproximadamente 5 a aproximadamente 15, aproximadamente 10 a aproximadamente 20, o aproximadamente 15 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal de un paciente. En ciertas realizaciones, la dosis de un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o anticuerpo IFN $\alpha$ R utilizada es al menos aproximadamente 1 a aproximadamente 20, aproximadamente 3 a aproximadamente 15, o aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal de un paciente. En otras realizaciones, la dosis de un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R utilizada es al menos aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal de un paciente. En ciertas realizaciones, una unidad de dosificación única del anticuerpo (opcionalmente en un transportador farmacéuticamente aceptable como parte de una composición farmacéutica) puede ser al menos aproximadamente 0,5, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 4, aproximadamente 6, aproximadamente 8, aproximadamente 10, aproximadamente 12, aproximadamente 14, aproximadamente 16, aproximadamente 18, aproximadamente 20, aproximadamente 22, aproximadamente 24, aproximadamente 26, aproximadamente 28,

aproximadamente 30, aproximadamente 32, aproximadamente 34, aproximadamente 36, aproximadamente 38, aproximadamente 40, aproximadamente 42, aproximadamente 44, aproximadamente 46, aproximadamente 48, aproximadamente 50, aproximadamente 52, aproximadamente 54, aproximadamente 56, aproximadamente 58, aproximadamente 60, aproximadamente 62, aproximadamente 64, aproximadamente 66, aproximadamente 68, 5 aproximadamente 70, aproximadamente 72, aproximadamente 74, aproximadamente 76, aproximadamente 78, aproximadamente 80, aproximadamente 82, aproximadamente 84, aproximadamente 86, aproximadamente 88, aproximadamente 90, aproximadamente 92, aproximadamente 94, aproximadamente 96, aproximadamente 98, aproximadamente 100, aproximadamente 102, aproximadamente 104, aproximadamente 106, aproximadamente 108, aproximadamente 110, aproximadamente 112, aproximadamente 114, aproximadamente 116, 10 aproximadamente 118, aproximadamente 120, aproximadamente 122, aproximadamente 124, aproximadamente 126, aproximadamente 128, aproximadamente 130, aproximadamente 132, aproximadamente 134, aproximadamente 136, aproximadamente 138, aproximadamente 140, aproximadamente 142, aproximadamente 144, aproximadamente 146, aproximadamente 148, aproximadamente 150, aproximadamente 152, aproximadamente 154, aproximadamente 156, aproximadamente 158, aproximadamente 160, aproximadamente 162, 15 aproximadamente 164, aproximadamente 166, aproximadamente 168, aproximadamente 170, aproximadamente 172, aproximadamente 174, aproximadamente 176, aproximadamente 178, aproximadamente 180, aproximadamente 182, aproximadamente 184, aproximadamente 186, aproximadamente 188, aproximadamente 190, aproximadamente 192, aproximadamente 194, aproximadamente 196, aproximadamente 198, aproximadamente 200, aproximadamente 204, aproximadamente 206, aproximadamente 208, aproximadamente 20 aproximadamente 210, aproximadamente 212, aproximadamente 214, aproximadamente 216, aproximadamente 218, aproximadamente 220, aproximadamente 222, aproximadamente 224, aproximadamente 226, aproximadamente 228, aproximadamente 230, aproximadamente 232, aproximadamente 234, aproximadamente 236, aproximadamente 238, aproximadamente 240, aproximadamente 242, aproximadamente 244, aproximadamente 246, aproximadamente 248, o aproximadamente 250 microgramos/m<sup>2</sup>. En otras realizaciones, la dosis es de hasta 25 aproximadamente 1 g por unidad de dosificación única.

La administración de composiciones de la invención a un paciente humano puede realizarse por cualquier vía de administración, que incluye, pero no se limita a, intravenosa, intradérmica, transdérmica, subcutánea, intramuscular, inhalación (por ejemplo, a través de un aerosol), bucal (por ejemplo, sublingual), tópica (es decir, piel y superficies 30 mucosas, incluyendo superficies de las vías respiratorias), intratecal, intraarticular, intraplural, intracerebral, intraarterial, intraperitoneal, oral, intralinfática, intranasal, rectal o vaginal, mediante perfusión a través de un catéter regional, o mediante inyección intralesional directa. En una realización, las composiciones de la invención se administran por inyección en bolo o infusión intravenosa administrada durante un periodo definido (por ejemplo, 0,5 a 2 horas). Las composiciones de la invención pueden administrarse por medios peristálticos o en forma de un 35 depósito, aunque la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá, como se conoce bien en la materia, de factores tales como la especie, la edad, el género y la condición general del sujeto, la naturaleza y la gravedad de la afección a tratar y/o de la naturaleza de la composición particular (es decir, dosificación, formulación) que se está administrando. En realizaciones particulares, la vía de administración se realiza a través de una infusión en bolo o continua durante un periodo de tiempo, una o dos veces por semana. En otras realizaciones particulares, la vía de 40 administración se realiza por inyección subcutánea, opcionalmente una vez o dos veces por semana. En una realización, las composiciones, y/o métodos de la invención se administran en una paciente ambulatorio. En otra realización, las composiciones y/o métodos de la invención se administran utilizando jeringas precargadas.

En ciertas realizaciones, la dosis de una composición que comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R se mide en unidades de mg/kg de peso corporal del paciente. En otras realizaciones, la dosis de una composición que comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R se mide en unidades de mg/kg de peso corporal magro del paciente (es decir, el peso corporal menos el contenido de grasa corporal). En otras realizaciones, la dosis de una composición que comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R se mide en unidades de mg/m<sup>2</sup> de área de superficie corporal del 45 paciente. En otras realizaciones, la dosis de una composición que comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R se mide en unidades de mg por dosis administrada a un paciente. Cualquier medida de la dosis puede utilizarse junto con composiciones y métodos de la invención y las unidades de dosificación pueden convertirse por medios convencionales en la materia. 50

Los expertos en la materia apreciarán que las dosificaciones pueden seleccionarse en base a una serie de factores que incluyen la edad, el sexo, la especie y la afección del sujeto (por ejemplo, la etapa de la esclerodermia), el grado deseado de depleción celular, la enfermedad a tratar y/o el anticuerpo particular o fragmento de unión al anticuerpo que se está utilizando y puede determinarse por un experto en la materia. Por ejemplo, las cantidades eficaces de las composiciones de la invención pueden extrapolarse a partir de curvas de dosis-respuesta obtenidas a partir de sistemas de ensayo *in vitro* o de sistemas de prueba de modelo animal (por ejemplo, rata algodónera o mono). Se conocen en la materia modelos y métodos para la evaluación de los efectos de los anticuerpos (Wooldridge *et al.*, 60 *Blood*, 89 (8): 2994 2998 (1997)).

Los ejemplos de regímenes de dosificación que se pueden utilizar en los métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, diario, tres veces por semana (intermitente), semanal, o cada 14 días. En ciertas realizaciones, los regímenes de dosificación incluyen, pero no se limitan a, dosificación mensual o dosificación cada 6-8 semanas, o 65

semanalmente durante un período de tiempo definido. En una realización, la dosificación puede tener lugar semanalmente durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,8, 9, 10, 11, o 12 semanas.

5 Los expertos en la materia apreciarán que las dosificaciones son generalmente más altas y/o frecuencia de administración mayor para el tratamiento inicial en comparación con los regímenes de mantenimiento. Todas las dosis anteriores son ejemplares y se pueden utilizar junto con las composiciones y métodos de la invención, sin embargo, cuando se utiliza un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R junto con un agente antiinflamatorio se pueden utilizar las dosis más bajas descritas previamente.

10 En ciertas realizaciones, la dosificación y la velocidad de administración pueden ajustarse y/o la velocidad de infusión puede reducirse en base a la respuesta inmunogénica del paciente a composiciones y métodos de la invención. Según otro aspecto de los métodos de la invención, un paciente puede pretratarse con las composiciones y métodos de la invención para detectar, minimizar la respuesta inmunogénica, o minimizar los efectos adversos de las composiciones y métodos desvelados en el presente documento.

15 **ANTAGONISTAS DE INTERFERÓN DE TIPO I**

20 Como se utiliza en el presente documento, el término "antagonista de IFN de tipo I" se refiere a cualquier anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R o anticuerpo anti-IFN $\alpha$  que bloquea, inhibe, suprime, neutraliza, disminuye o de otra manera interfiere con o abroga la señalización a través y/o la activación del receptor de interferón alfa (IFNAR). Los antagonistas de IFN de tipo I pueden actuar interfiriendo con la interacción entre cualquier IFN de tipo I e IFNAR. De este modo, los antagonistas de IFN de tipo I pueden actuar uniéndose y antagonizando un IFN de tipo I o uniéndose y antagonizando el IFNAR. Los antagonistas de IFN de tipo I pueden unirse a la cadena de IFNAR 1 del IFNAR o a la cadena de IFNAR 2 del IFNAR, o pueden unirse a epítomos resultantes de la combinación de las dos cadenas. En realizaciones particulares, los antagonistas de IFN de tipo I son anticuerpos que se unen a la cadena de IFNAR 1 del IFNAR, tales como los desvelados en las Publicaciones de las Solicitudes de las Patentes Estadounidenses N<sup>o</sup> 2006/0029601, 2006/0020118, y en la Patente Estadounidense N<sup>o</sup> 6.713.609.

30 En ciertas realizaciones, la divulgación proporciona anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno que se unen selectivamente a uno o más interferones de tipo 1 o se unen a IFNAR de tal modo que interfieren con la unión al ligando, tal como, por ejemplo, mediante inhibición competitiva, no competitiva o acompetitiva. Las realizaciones alternativas proporcionan antagonistas que interfieren con la transducción de señales por el IFNAR. En otras realizaciones se proporcionan antagonistas que antagonizan los efectos corriente abajo de los interferones de tipo 1.

35 Un antagonista de interferón de tipo I puede administrarse a un paciente o un paciente puede identificarse como un candidato para la administración de un agente o un agente terapéutico. En algunas realizaciones, un antagonista de interferón de tipo I es cualquier molécula que se une a y bloquea la actividad de IFN de tipo I, IFN $\alpha$ , o IFNAR.

40 **Anticuerpos antagonistas de Interferón de tipo I**

45 Los antagonistas de interferón de tipo 1 incluyen anticuerpos anti-IFNAR y/o sus fragmentos que se unen a un receptor de interferón de tipo 1 y por lo tanto bloquean la unión de su ligando (es decir, interferón alfa, interferón beta o interferón omega). Alternativa o adicionalmente, los antagonistas de interferón de tipo 1 pueden ser anticuerpos de interferón de anti-tipo 1 y/o sus fragmentos que se unen a un interferón de tipo 1 (es decir, interferón alfa, interferón beta o interferón omega) y por lo tanto bloquean su unión a su receptor (es decir, IFN $\alpha$ R). La inhibición mediada por el anticuerpo de la unión al ligando puede ocurrir a través de la inhibición competitiva, no competitiva o acompetitiva. Alternativamente, los antagonistas basados en anticuerpos pueden actuar previniendo la señalización intracelular a través del receptor de interferón de tipo 1.

50 Por consiguiente, se incluyen dentro del alcance de la presente invención, anticuerpos quiméricos, primatizados, revestidos, humanizados, desimmunizados, anti-IFNAR humano, de interferón de anti-tipo 1 y/o sus fragmentos de unión al antígeno. Los antagonistas de anticuerpos adecuados para su uso en los métodos terapéuticos de la presente invención incluyen anticuerpos monoclonales tales como, por ejemplo, anticuerpos no humanos, quiméricos, primatizados, humanizados, desimmunizados y/o humanos completos o sus fragmentos de unión al antígeno. Los antagonistas de anticuerpos pueden comprender adicionalmente una o más modificaciones químicas para aumentar la semivida en la circulación del anticuerpo, o su fragmento de unión al antígeno, tal como, por ejemplo, reticulación en polietilenglicol (es decir, PEGilación).

60 En una realización, el anticuerpo puede ser específico para cualquier subtipo(s) de IFN de tipo I o IFN $\alpha$ . Por ejemplo, el anticuerpo puede ser específico para uno cualquiera de IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 6, IFN $\alpha$ 7, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, IFN $\alpha$ 14, IFN $\alpha$ 17, IFN $\alpha$ 21, IFN $\beta$ , o IFN $\omega$ . Alternativamente, el anticuerpo puede ser específico para dos cualquiera, tres cualquiera, cuatro cualquiera, cinco cualquiera, seis cualquiera, siete cualquiera, ocho cualquiera, nueve cualquiera, diez cualquiera, once cualquiera, doce cualquiera de los subtipos de IFN de tipo I de IFN $\alpha$ . Si el anticuerpo es específico para más de un subtipo de IFN de tipo I, el anticuerpo puede ser específico para IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 8, IFN $\alpha$ 10, y IFN $\alpha$ 21; o puede ser específico para IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 8, y IFN $\alpha$ 10; o puede ser específico para IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 8, y IFN $\alpha$ 21; o puede ser específico para

IFN $\alpha$ 1, IFN $\alpha$ 2, IFN $\alpha$ 4, IFN $\alpha$ 5, IFN $\alpha$ 10, y IFN $\alpha$ 21; o cualquier combinación de estos subtipos. Los anticuerpos específicos para el IFN de tipo I o IFN $\alpha$  incluyen MEDI-545, cualquier biológico o anticuerpo distinto a MEDI-545, los anticuerpos se describen en las Solicitudes de las Patentes Estadounidenses 11/009.410 presentada el 10 de diciembre de 2004 y 11/157.494 presentada el 20 de junio de 2005, 9F3 (y sus variantes humanizadas) y otros anticuerpos se describen en la Patente Estadounidense N° 7.087.726, NK-2 y YOK5/19 (documento WO 84/03105), LO-22 (Patente Estadounidense N° 4.902.618), 144 BS (Patente Estadounidense N° 4.885.166), y EBI-1, EBI-2, y EBI-3 (documento EP 119 476).

En una realización, el anticuerpo antagonista es MEDI-545. MEDI-545 es un anticuerpo monoclonal (Mab) de IgG1k totalmente humano de 147000 Dalton que se une a los múltiples subtipos del interferón alfa (IFN- $\alpha$ ). MEDI-545 se fabrica a partir de secuencias de proteínas humanas al 100 %, por lo tanto es un anticuerpo monoclonal totalmente humano. Los anticuerpos monoclonales totalmente humanos pueden tener ventajas sobre otras formas de anticuerpos monoclonales, tales como anticuerpos quiméricos y humanizados, ya que pueden tener un perfil de seguridad más favorable y pueden eliminarse con menos rapidez del cuerpo humano, por lo tanto, es posible reducir la frecuencia de dosificación. MEDI-545 se obtiene a partir de un anticuerpo IgG4k, 13H5, que se seleccionó en base a ensayos funcionales que tienen las propiedades más deseables para un agente terapéutico potencial. 13H5 se convirtió posteriormente a un isotipo de anticuerpo IgG1, producido en células CHO, y se seleccionó para su posterior caracterización y desarrollo preclínico con una designación inicial de MDX-1103, actualmente se denomina MEDI-545. Véanse también la Publicación de Solicitud de Patente Estadounidense N° 2007/0014724, la Solicitud Provisional Estadounidense N° 60/909.232 titulada "*Antibodies with Decreased Deamidation Profiles*", la Solicitud Provisional Estadounidense N° 60/909.117 titulada "*Antibody Formulation*", la Publicación de la Solicitud de la Patente Internacional N° WO/08070137A2 titulada "*Interferon Alpha-induced Pharmacodynamic Markers*", y la Solicitud de la Patente Internacional N° WO/08070135A2 titulada "*Methods of Treating Systemic Lupus Erythematosus*". En una realización específica, el anticuerpo no es MEDI-545.

Los anticuerpos de la invención incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos sintéticos, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos producidos de forma recombinante, intracuerpos, anticuerpos multiespecíficos (incluidos anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos sintéticos, Fv de cadena sencilla (scFv) (incluyendo scFv biespecíficos), moléculas BiTE, fragmentos Fab de anticuerpos de cadena sencilla, fragmentos F(ab'), Fvs unidos por disulfuro (sdFv), anticuerpos anti-idiotipo (anti-Id), y fragmentos de unión al epítipo de cualquiera de los anteriores. En particular, los anticuerpos de la presente invención incluyen moléculas de inmunoglobulina y partes inmunológicamente activas de las moléculas de inmunoglobulina. Además, los anticuerpos de la invención pueden ser de cualquier isotipo. En una realización, los anticuerpos de la invención son del isotipo de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Los anticuerpos de la invención pueden ser anticuerpos de longitud completa que comprenden regiones variables y constantes, o pueden ser sus fragmentos de unión a antígeno, tales como un anticuerpo de cadena sencilla, o un fragmento Fab o Fab'2.

La divulgación también proporciona un inmunoconjugado que comprende un anticuerpo de la invención, o su parte de unión al antígeno, unido a un agente terapéutico, tal como una citotoxina o un isótopo radioactivo. La invención también proporciona una molécula biespecífica que comprende un anticuerpo, o su parte de unión al antígeno de la invención, unida a un segundo resto funcional que tiene una especificidad de unión diferente a dicho anticuerpo, o su parte de unión al antígeno.

Se proporcionan también composiciones que comprenden un anticuerpo, o su parte de unión al antígeno, o inmunoconjugado o molécula biespecífica de la invención y un transportador farmacéuticamente aceptable.

Se conocen en la materia los anticuerpos que se unen a IFN $\alpha$ R. Los ejemplos no limitantes de estos anticuerpos se pueden hallar, por ejemplo, en la Publicación de la Solicitud de la Patente Estadounidense N° 2006/0029601. Se conocen en la materia los anticuerpos que se unen a los interferones de tipo I. Los ejemplos no limitantes de estos anticuerpos se pueden hallar, por ejemplo, en las Solicitudes Provisionales de las Patentes Estadounidenses N° 61/006.962 presentada el 8 de febrero de 2008, 61/034.618 presentada el 7 de marzo de 2008, y 61/049.970 presentada el 2 de mayo de 2008, cada una de las cuales se titula "*Anti-IFNAR1 Antibodies with Reduced Fc Ligand Affinity*". Se conocen en la materia los anticuerpos que se unen a múltiples subtipos de interferón  $\alpha$ . Los ejemplos no limitantes de estos anticuerpos se pueden hallar, por ejemplo, en la Patente Estadounidense N° 7.087.726 y la Publicación de la Solicitud de la Patente Estadounidense N° 2007/0014724.

En ciertas realizaciones, como se ha discutido previamente, puede ser deseable alterar la actividad de los subtipos específicos, o combinaciones de los subtipos de interferón  $\alpha$ .

En ciertas realizaciones, puede ser deseable alterar la semivida del interferón de anti-tipo I, anticuerpos anti-interferón  $\alpha$  o anticuerpos anti-IFNAR. En una realización, puede ser deseable para disminuir la semivida *in vivo* de los anticuerpos. En otra realización, puede ser deseable aumentar la semivida *in vivo* de los anticuerpos. Véase, por ejemplo, la Publicación de la Solicitud de la Patente Estadounidense N° 2006/0198840 A1.

Los anticuerpos o sus fragmentos pueden producirse por cualquiera de los numerosos métodos bien conocidos en la materia para la generación, síntesis, y producción de anticuerpos, en particular, por síntesis química o por técnicas de expresión recombinantes. Véanse, por ejemplo, Brinkman *et al.*, 1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50; Ames *et al.*, 1995, *J. Immunol. Methods* 184:177-186; Kettleborough *et al.*, 1994, *Eur. J. Immunol.* 24:952-958; Persic *et al.*, 1997, *Gene* 187:9-18; Burton *et al.*, 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280; Solicitud Internacional N° PCT/GB91/01134; Publicaciones Internacionales N° WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, WO 95/20401, WO97/13844; Patentes Estadounidenses N° 5.698.426, 5.223.409, 5.403.484, 5.580.717, 5.427.908, 5.750.753, 5.821.047, 5.571.698, 5.427.908, 5.516.637, 5.780.225, 5.658.727, 5.733.743 5.969.108, Publicación Internacional N° WO 92/22324; Mullinax *et al.*, 1992, *BioTechniques* 12(6):864-869; Sawai *et al.*, 1995, *AJRI* 34:26-34, Better *et al.*, 1988, *Science* 240:1041-1043, Patentes Estadounidenses N° 4.444.887 4.716.111, Publicaciones Internacionales N° WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, WO 91/1074, Publicaciones Internacionales N° WO 98/24893, WO 96/34096, WO 96/33735, Patentes Estadounidenses N° 5.413.923, 5.625.126, 5.633.425, 5.569.825, 5.661.016, 5.545.806, 5.814.318, 5.939.598, Morrison, 1985, *Science* 229:1202, Oi *et al.*, 1986, *BioTechniques* 4:214; Gillies *et al.*, 1989, *J. Immunol. Methods* 125:191-202, Patentes Estadounidenses N° 5.807.715, 4.816.567, 4.816.397, 6.311.415, Patente Europea N° EP 239.400, Publicación Internacional N° WO 91/09967, Patentes Estadounidenses N° 5.225.539, 5.530.101, 5.585.089, Patentes Europeas EP 592.106, EP 519.596, Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498, Studnicka *et al.*, 1994, *Protein Engineering* 7(6):805-814, Roguska *et al.*, 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:969-973), Patente Estadounidense N° 5.565.332, Patentes Estadounidenses N° 6.407.213, 5.766.886, WO 9317105, Tan *et al.*, *J. Immunol.* 169:1119-25 (2002), Caldas *et al.*, *Protein Eng.* 13(5):353-60 (2000), Morea *et al.*, *Methods* 20(3):267-79 (2000), Baca *et al.*, *J. Biol. Chem.* 272(16):10678-84 (1997), Roguska *et al.*, *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996), Couto *et al.*, *Cancer Res.* 55 (23 Supp): 5973s-5977s (1995), Couto *et al.*, *Cancer Res.* 55(8):1717-22 (1995), Sandhu J S, *Gene* 150(2):409-10 (1994), y Pedersen *et al.*, *J. Mol. Biol.* 235(3):959-73 (1994), Queen *et al.*, Patente Estadounidense N° 5.585.089; Riechmann *et al.*, 1988, *Nature* 332:323, Kutmejer *et al.*, 1994, *BioTechniques* 17:242), Publicación Internacional N° WO 86/05807, Publicación Internacional N° WO 89/01036, Patente Estadounidense N° 5.122.464, y Patente Estadounidense N° 5.807.715.

#### Terapia de combinación

En algunas realizaciones, se puede administrar al paciente un segundo agente diferente al agente que se une a y antagoniza la actividad de IFN de tipo I o, más particularmente, la actividad de IFN $\alpha$ . Los segundos agentes incluyen, pero no se limitan a los fármacos antiinflamatorios no esteroideos tales como ibuprofeno, naproxeno, sulindac, diclofenac, piroxicam, ketoprofeno, diflunisal, nabumetona, etodolac, y oxaprozina, indometacina; fármacos contra la malaria tal como hidroxicloroquina; hormonas corticosteroides, tal como prednisona, hidrocortisona, metilprednisolona y dexametasona; metotrexato; agentes inmunosupresores, tales como azatioprina y ciclofosfamida; y agentes biológicos que, por ejemplo, tienen por diana linfocitos T tales como Alefacept y Efalizumab, o tienen por diana TNF $\alpha$ , tal como, Enbrel, Remicade, y Humira.

En otras realizaciones, un segundo agente que se utiliza para contrarrestar la influencia negativa de la enfermedad vascular en la esclerodermia puede utilizarse en combinación con los antagonistas de la invención. Por ejemplo, se informa que los bloqueadores de los canales de calcio ayudan al riego sanguíneo en la piel y el corazón; los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) invierten el vasoespasmo de la crisis renal en la esclerodermia; y bosentan (un nuevo inhibidor del receptor de endotelina-1) o epoprostenol (prostaciclina) pueden mejorar el riego sanguíneo en el pulmón. Además, los fármacos que invierten el vasoespasmo (bloqueadores de los canales de calcio, bosentan, prostaciclina, u óxido nítrico) tienen el potencial de modificar el curso de la enfermedad. El resultado final de la enfermedad vascular en la esclerodermia sin tratar es la oclusión de los vasos ya sea por la formación de trombos o fibrosis avanzada de la íntima. Por consiguiente, se puede utilizar la terapia antiplaquetaria en forma de dosis bajas de aspirina en combinación con los antagonistas de la invención. Se pueden utilizar los agentes antifibróticos que incluyen, pero no se limitan a, colchicina, ácido para-aminobenzoico (PABA), dimetilsulfóxido, y D-penicilamina en combinación con los antagonistas de la invención.

Se prevé que las composiciones de la presente invención comprendan uno o más antagonistas de interferón de tipo 1, tal como, por ejemplo, anticuerpos de IFN anti-tipo 1 o sus fragmentos, y anticuerpos anti-IFNAR o sus fragmentos.

#### Composiciones farmacéuticas

Los ejemplos no limitantes de las composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos anti-interferón  $\alpha$  para su uso en la presente invención se pueden hallar en la Solicitud de la Patente Estadounidense N° 60/909.117 titulada "*Antibody Formulation*". Los ejemplos de las composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos de interferón de anti-tipo I se pueden hallar en la Publicación de la Solicitud de la Patente N° 2006/0029601.

En una realización, una formulación de la invención es para administración parenteral. En una realización, una formulación de la invención es una formulación inyectable. En una realización, una formulación de la invención es para administración intravenosa, subcutánea o intramuscular. En una realización específica, una formulación de la invención comprende un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R, en el que dicha

formulación es para inyección subcutánea. En una realización específica, un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R se formula para administración subcutánea en una jeringa precargada.

5 En una realización, una formulación de la invención es para administración intravenosa, en la que dicha formulación comprende entre aproximadamente 20 mg/ml y aproximadamente 40 mg/ml de anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R o su fragmento. En una realización específica, una formulación de la invención es para administración intravenosa, en la que dicha formulación comprende entre aproximadamente 20 mg/ml y aproximadamente 40 mg/ml de un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R.

10 En una realización, una formulación es para administración subcutánea, en la que dicha formulación comprende entre aproximadamente 70 mg/ml y aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R o su fragmento. En una realización específica, una formulación de la invención es para administración subcutánea, en la que dicha formulación comprende entre aproximadamente 70 mg/ml y aproximadamente 250 mg/ml de un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R.

15 En una realización, una formulación de la invención es para administración en aerosol.

La presente divulgación también proporciona una forma de dosificación unitaria farmacéutica adecuada para la administración parenteral a un ser humano que comprende una formulación de anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R en un recipiente adecuado. En una realización, una dosificación unitaria farmacéutica comprende un anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R. En una realización, dosificación unitaria farmacéutica de la invención comprende una formulación de anticuerpo de IFN de anti-tipo I, anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R administrada por vía intravenosa, subcutánea, o intramuscular. En otra realización, una dosificación unitaria farmacéutica comprende una una formulación de anticuerpo de IFN de anti-tipo I o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R administrada por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular. En una realización específica, una dosificación unitaria farmacéutica comprende una formulación de anticuerpo de IFN de anti-tipo o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R administrada por vía subcutánea. En otra realización, una dosificación unitaria farmacéutica comprende una formulación de anticuerpo de IFN anti-tipo o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R administrada en un aerosol. En una realización adicional, una dosificación unitaria farmacéutica comprende una formulación de anticuerpo de IFN anti-tipo o anti-interferón alfa o anti-IFN $\alpha$ R administrada por vía intranasal.

20 En una realización, se proporciona una formulación en un recipiente sellado.

35 Se desvela también un kit que comprende un antagonista de la formulación de interferón de tipo I de la invención.

Una composición de anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R puede formularse con un transportador farmacéuticamente aceptable. El término "farmacéuticamente aceptable" significa uno o más materiales no tóxicos que no interfieren con la eficacia de la actividad biológica de los principios activos. Tales preparaciones pueden contener rutinariamente sales, agentes tamponantes, conservantes, transportadores compatibles, y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Tales preparaciones farmacéuticamente aceptables pueden contener también rutinariamente materiales de cargas sólidos o líquidos compatibles, diluyentes o sustancias encapsulantes que son adecuadas para la administración en un ser humano. Cuando se utiliza en medicina, las sales deben ser farmacéuticamente aceptables, pero las sales farmacéuticamente no aceptables pueden utilizarse convenientemente para preparar sus sales farmacéuticamente aceptables y no se excluyen del alcance de la invención. Tales sales farmacológicamente y no farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, las preparadas a partir de los siguientes ácidos: clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, cítrico, bórico, fórmico, malónico, succínico, y similares. Además, las sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, tales como sales de sodio, potasio o calcio. El término "transportador" denota un ingrediente orgánico o inorgánico, natural o sintético, con el que el principio activo se combina para facilitar la aplicación. Los componentes de las composiciones farmacéuticas también son capaces de mezclarse con los anticuerpos de la presente invención, y entre sí, de tal manera que no hay interacción alguna que altere sustancialmente la eficacia farmacéutica deseada.

Según ciertos aspectos de la divulgación, las composiciones de anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R pueden prepararse para el almacenamiento mezclando el anticuerpo o inmunoconjugado que tiene el grado deseado de pureza con los transportadores, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables opcionales (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16<sup>a</sup> edición, Osol, A. Ed. (1999)), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los transportadores, excipientes o estabilizadores no son tóxicos para los receptores en las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; parabenos de alquilo tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3 pentanol; y m cresol); polipéptido de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina de suero, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o

sorbitol; contraiones formadores de sal tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de proteínas Zn); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

Las composiciones de anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R pueden contener también, opcionalmente, conservantes adecuados, tales como cloruro de benzalconio; clorobutanol; parabenos y timerosal.

Las composiciones de anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la materia de farmacia. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el agente activo con un transportador que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones de anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R se preparan asociando uniforme e íntimamente el compuesto activo con un transportador líquido, un transportador sólido finamente dividido, o ambos, y a continuación, si es necesario, dando forma al producto.

En una realización, las composiciones están sustancialmente libres de pirógenos.

Las composiciones adecuadas para la administración parenteral comprenden convenientemente una preparación acuosa o no acuosa estéril de un anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R, que es preferentemente isotónica con la sangre del receptor. Esta preparación puede formularse según métodos conocidos utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se incluyen agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un medio disolvente o de suspensión. Con este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo blando incluyendo mono- o di- glicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico se pueden utilizar en la preparación de inyectables. La formulación del transportador adecuado para la administración oral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, etc. se puede hallar en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA. En ciertas realizaciones, la formulación del transportador adecuado para diversas vías de administración puede ser la misma o similar a la descrita para RITUXAN™. Véase, *Physicians' Desk Reference* (Medical Economics Company, Inc., Montvale, NJ, 2005), pág. 958-960 y 1354-1357. En ciertas realizaciones de la invención, las composiciones de un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R se formulan para la administración intravenosa con cloruro de sodio, citrato de sodio dihidrato, polisorbato 80, y agua estéril, en el que el pH de la composición se ajusta a aproximadamente 6,5. Los expertos en la materia son conscientes de que la inyección intravenosa proporciona un modo útil de administración debido a la rigurosidad de la circulación en la rápida distribución de anticuerpos. Sin embargo, la administración intravenosa, se somete a alguna limitación por una barrera vascular que comprende células endoteliales de la vasculatura y la matriz subendotelial. En ciertas realizaciones, los anticuerpos anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R de las composiciones y métodos de la invención se autoadministran por vía subcutánea. En tales realizaciones, la composición se formula como un fármaco liofilizado o en un tampón líquido (por ejemplo, PBS y/o citrato) en aproximadamente 50 mg/ml.

La formulación en el presente documento también puede contener más de un compuesto activo según sea necesario para la indicación particular que se está tratando, preferentemente aquellos con actividades complementarias que no se afectan de manera adversa entre sí. Por ejemplo, puede ser deseable proporcionar además un agente inmunosupresor adicional. Tales moléculas están presentes adecuadamente en combinación en cantidades que son eficaces para el fin previsto.

Los principios activos también pueden atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli(metilmacrilato), respectivamente, en sistemas de liberación de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Estas técnicas se describen en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16ª edición, Osol, A. Ed. (1980).

Las formulaciones que se utilizarán para la administración *in vivo* son típicamente estériles. Esto se consigue fácilmente mediante la filtración a través de membranas de filtración estéril. En una realización, estéril se refiere a que está sustancialmente libre de pirógenos.

Se pueden realizar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R, que son las matrices en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2 hidroxietil metacrilato), o poli(alcohol vinílico)), polilactidas (Patente Estadounidense N° 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y etil-L-glutamato, etileno acetato de vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico y glicólico degradables tales como el LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico y ácido glicólico y acetato de leuprolide), y ácido poli D (3 hidroxibutírico). Aunque polímeros tales como etileno acetato de vinilo y ácido glicólico-ácido láctico permiten la liberación de las moléculas durante más de 100 días, algunos hidrogeles liberan proteínas durante períodos de tiempo más cortos. Cuando los anticuerpos encapsulados permanecen en el cuerpo durante un largo tiempo, pueden desnaturalizarse o agregarse como resultado de la

exposición a la humedad a 37 °C, dando lugar a una pérdida de actividad biológica y posibles cambios en la inmunogenicidad. Se pueden concebir estrategias racionales para la estabilización en función del mecanismo implicado. Por ejemplo, si se descubrió que el mecanismo de agregación forma una unión S S intermolecular a través del intercambio de tio disulfuro, la estabilización puede conseguirse mediante la modificación de los residuos de sulfhidrilo, liofilización a partir de soluciones acídicas, el control del contenido de humedad, utilizando aditivos apropiados, y el desarrollo de composiciones de matriz polimérica específicas. En ciertas realizaciones, los transportadores farmacéuticamente aceptables utilizados en las composiciones de la invención no afectan a ADCC o CDC humano.

Las composiciones del anticuerpo anti-IFN $\alpha$  o IFN $\alpha$ R desveladas en el presente documento también pueden formularse como inmunoliposomas. Un "liposoma" es una vesícula pequeña compuesta de diversos tipos de lípidos, fosfolípidos y/o un tensioactivo que es útil para la administración de un fármaco (tal como anticuerpos anti-IFN $\alpha$  o anti-IFN $\alpha$ R desvelados en el presente documento) a un ser humano. Los componentes del liposoma se disponen comúnmente en una formación bicapa, similar a la disposición de los lípidos de las membranas biológicas. Los liposomas que contienen los anticuerpos de la invención se preparan por métodos conocidos en la materia, tales como los descritos en Epstein *et al*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 82:3688 (1985); Hwang *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 77:4030 (1980); y las Patente Estadounidenses N° 4.485.045 y 4.544.545. Los liposomas con tiempo de circulación mejorado se desvelan en la Patente Estadounidense N° 5.013.556. Los liposomas particularmente útiles pueden generarse mediante el método de evaporación en fase inversa con una composición lipídica que comprende fosfatidilcolina, colesterol y PEG obtenida a partir de fosfatidiletanolamina (PEG PE). Los liposomas se extruden a través de filtros de tamaño de poro definido para producir liposomas con el diámetro deseado. El anticuerpo de la presente invención puede conjugarse a los liposomas descritos en Martin *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 257: 286 288 (1982) a través de una reacción de intercambio disulfuro. Un agente terapéutico también puede contenerse dentro del liposoma. Véase, Gabizon *et al.*, *J. National Cancer Inst.*, (19) 1484 (1989).

## Ejemplos

La invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos se proporcionan sólo con fines ilustrativos y la invención no debe interpretarse como limitada a estos ejemplos.

Ejemplo 1. Inducción de modelo de ratón de esclerosis sistémica (SSc) por injerto contra huésped (GVH).

Para comprender mejor el papel de los interferones de tipo I (IFN) en la fibrosis dérmica, se utilizó un anticuerpo monoclonal dirigido contra IFNAR-1 para bloquear las señales de IFN de tipo I en un modelo murino de esclerosis sistémica descrito a continuación. Se investigó el impacto de anti-IFNAR en criterios de valoración clínicos, histológicos, serológicos y de enfermedades moleculares en la piel y riñones para identificar los mecanismos potenciales por los que la señalización de IFN puede favorecer la fibrosis dérmica.

SSc puede inducirse en ratones mediante la transferencia de células del bazo de ratones carentes de linfocitos T y B maduros a partir de ratones congénicos que no comparten antígenos de histocompatibilidad menor (miHags). Se aísla una suspensión de células individuales de esplenocitos de ratones B10.D2-Hc<sup>1</sup>H<sup>2d</sup>-T18<sup>c</sup>/nSnJ (B10.D2) hembra de 6-10 semanas y los glóbulos rojos se lisaron por incubación durante 4 minutos con una solución de cloruro de amonio al 0,8 %. Los leucocitos se peletizan por centrifugación a 200xg, se lavan ampliamente con tampón fosfato salino (PBS), y se inyectan 30 x 10<sup>6</sup> células a través de la vena lateral de la cola en ratones (RAG2<sup>-/-</sup>) 129S6(B6)-Rag<sup>2tm1Fw</sup>aN12 del huésped receptor. Para los estudios de bloqueo de la señalización de IFN, se administraron 10 mg/kg mAb anti-IFNAR o control de isotipo IgG1s 2x/semana en 0,1 ml de vehículo de PBS por vía intraperitoneal comenzando 1 día antes del injerto, y los tejidos se recogieron para el análisis a las 2 y 4 semanas.

Ejemplo 2. Bloqueo de la señalización de IFN de tipo I en la SSc. Puntuaciones clínicas de la esclerodermia y presentación.

El tratamiento profiláctico con 10mpk mAb anti-IFNAR 2/por semana redujo de manera significativa las lesiones cutáneas en ratones con SSc (\*\*p <0,001). La piel se puntuó de forma semanal de la siguiente manera: 0 = normal; 1 = lesión <1cm<sup>2</sup>; 2 = lesión 1-2cm<sup>2</sup>; 3 = lesión > 2 cm<sup>2</sup>. Las extremidades (oreja, cola, patas) que parecían escamosas se les dio una puntuación de 0,3, para una puntuación total máxima de 3,9 por animal. Los resultados representativos de 3 estudios duplicados se presentan en la Figura 2A.

Proteinuria inducida en SSc: se observó proteinuria leve tanto en grupos de control tratados con anti-IFNAR como control de Ig, pero no en receptores de injertos singénicos (véase Fig. 2B.).

Presentación clínica de SSc: los ratones representativos de grupos anti-IFNAR y tratados con Ig del control, 4 semanas post-injerto, se muestran en la Fig. 2C. Las lesiones graves y generalizadas y la alopecia eran evidentes en todos los animales tratados con Ig de control, mientras que sólo 1/5 de los animales tratados con anti-IFNAR desarrollaron lesiones graves.

Ejemplo 3. Análisis histopatológico de la piel con SSc.

La piel se recogió a las 4 semanas post-injerto de sitios dorsales idénticos en ratones con SSc y de control y se compararon con muestras cutáneas de RAG2-/- sin injertos. Se puntuaron 5 µm de secciones teñidas por H&E y tricrómico de Masson para la inflamación (0 = normal, 1 = infiltrado celular escaso; 2 = infiltrado moderado; 3 = infiltrado dérmico generalizado) y deposición de colágeno (0 = normal, 1 = leve; 2 = moderado; 3 = grave). Las puntuaciones de inflamación y deposición de colágeno se sumaron para proporcionar una puntuación histopatológica, con una puntuación máxima de 6. El tratamiento anti-IFNAR redujo la patología cutánea total en un 75 % (p <0,001). Los datos mostrados en la Figura 3A son de 3 estudios duplicados combinados (n = 20 SSc + anti-IFNAR; n = 18 SSc + control de Ig). El anticuerpo anti-IFNAR redujo la inflamación y la dermis engrosada en la piel SSc, como puede observarse en la Figura 3B, que muestra tinciones representativas de H&E (izquierda) y tricrómico de Masson (derecha) de anti-IFNAR y piel con SSc tratada con Ig de control.

Ejemplo 4. Deposición del complemento e Ig en la dermis con SSc.

Se fijaron 5µm de secciones de piel congeladas en acetona durante 10 minutos e incubadas durante 30 minutos con anticuerpo de Ig de cabra anti-ratón conjugado con FITC (verde) o anticuerpo policlonal de rata anti-ratón C1q-PE (rojo) y a continuación se monta en DAPI (azul). Los resultados se presentan en las Figuras 4A-4F. Ig y C1q fueron indetectables en los controles de injerto singénico (A y D, respectivamente), pero Ig se detectó fuertemente tanto en el control de Ig (B) como en los fibroblastos dérmicos anti-IFNAR (C). Se observó la deposición de C1q en fibroblastos dérmicos (flecha), epidermis y otras estructuras dérmicas en los animales tratados con control de Ig (E), pero era indetectable en la piel tratada con anti-IFNAR (F).

Ejemplo 5. Producción de autoanticuerpos y cambio de clase en animales con SSc.

Se detectaron anticuerpos anti-Scl-70 y anti-SSA séricos (IgG, IgA, IgM) por ELISA en animales con SSc, pero no en los controles; no se observaron diferencias significativas en la Ig total en los sueros tratados con anti-IFNAR. Los resultados se muestran en la Figura 5A. Se descubrió que el cambio de clase de Ig se mantiene intacto en los ratones tratados con anti-IFNAR. Los resultados mostrados en la Figura 5B reflejan que IgG1 era la clase predominante de autoanticuerpos anti-SSA y anti-Scl-70, y no se observó defecto en el cambio de clase tras el bloqueo de IFN. También se examinó la arquitectura esplénica en animales con SSc 4 semanas post-injerto. Los resultados se muestran en la Figura 5C. Se tiñeron 5 µm de secciones congeladas de bazo por CD45R/B220 (marrón) y aglutinina de cacahuete (rojo) para identificar los centros germinales (GC). Los GC fueron más frecuentes en los bazos de SSc que en los bazos de control, pero no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de GC o tamaño entre anti-IFNAR y grupos de control de Ig.

Ejemplo 6. Los pDC donantes son fuentes primarias de IFN de tipo I en GVH-SSc.

Se examinó la expansión de células dendríticas plasmocitoides inducida por SSc mediante la realización del análisis cuantitativo por FACS de números de pDC esplénicas (B220+/Gr-110/ CD11c+/CD11b-) en los receptores mal apareados de injerto 2 semanas post-injerto. Los resultados se muestran en la Figura 6A. Los números de pDC esplénicas en receptores de injerto singénico fueron similares a los controles de RAG2-/- sin injerto (no se muestra). Los pDC del donante demostraron ser la fuente primaria del IFN de tipo I en el modelo GVH-SSc, mediante la generación de injertos de esplenocitos de donantes deplecionados de pDC. Los resultados se muestran en la Figura 6B. Los esplenocitos GR-1(+) se eliminan por el marcado de células durante 30 minutos con un anticuerpo de rata anti-ratón anti-Gr1 (clon de RB68C5) y a continuación se incubaron 30 minutos con perlas magnéticas conjugadas con IgG de oveja anti-ratón según las instrucciones del fabricante. Después de confirmar la eliminación de las células Gr-110 por FACS, los esplenocitos restantes se injertan en los receptores de RAG2-/- (30 x 10<sup>6</sup> células/ratón). Tanto los esplenocitos totales y los huéspedes de injerto Gr-1(-) desarrollaron proteinuria leve dentro de las 4 semanas, pero sólo los injertos de esplenocitos totales indujeron lesiones cutáneas en ratones huésped (\*\*p <0,01; \*\*\*p <0,001).

Ejemplo 7. Representación del mapa de riego de los genes sobreexpresados en la piel que se suprimieron por el tratamiento de mAb anti-IFNAR.

El análisis de los datos de la matriz del genoma completo (WGA) descubrió que la expresión de 308 conjuntos de sondas se sobrerreguló al menos 2 veces (p <0,05) en el grupo tratado con Ab del control de isotipo de Ig, y se neutralizó mediante el tratamiento mAb anti-IFNAR en al menos 50 % de la piel. Los resultados se representan en la Figura 7. La adhesión celular, la vía de señalización de MAPK de onconstatina M o Jak/Stat, CCR3 se encuentran entre las vías activadas más significativas en la piel y neutralizadas por Ab IFNAR. Se sobrerregularon 10 conjuntos de sonda en el grupo tratado con Ab de control de isotipo de Ig al menos 2 veces con p <0,05, y se neutralizaron por Ab IFNAR en al menos 50 % del riñón. Los genes inducibles por el IFN de tipo I suprimidos por el mAb anti-IFNAR incluyó RSAD2, Ube216, Ube2S, Nfil3, Lysmd2. Los genes inducibles por el IFN de tipo I se determinaron previamente mediante la estimulación *ex vivo* de la sangre total del donante humano saludable con los miembros de la familia de IFN tipo I. Antes de suprimirse las vías por el tratamiento mAb anti-IFNAR estas se implicaron en la adhesión celular, la inflamación, el remodelado del citoesqueleto y la apoptosis. Por el contrario, se observó un efecto limitado del tratamiento mAb anti-IFNAR en los riñones de SSc en comparación con el tratamiento de Ig de

control (no se muestra). Todas las muestras se perfilaron utilizando matrices 430v2.0 de genoma del ratón Affymetrix. Los análisis de agrupamiento jerárquico se realizaron con SpotFire (<http://www.spotfire.com/>) y Pathway y los análisis de red de datos de expresión génica se llevaron a cabo con el paquete software integrado MetaCore™ de GeneGo, Inc. (St. Joseph, MI).

5

Ejemplo 8. Cuantificación de PCR en tiempo real de la expresión génica de SSc tras el bloqueo de IFNAR1.

El modelo de ratón con SSc inducido por GVH descrito en el Ejemplo 1 se utilizó para determinar la expresión de diversos genes asociados con la inflamación y el remodelado tisular. Los resultados de estos experimentos se resumen en las figuras 9A-9C. Las muestras cutáneas dorsales se congelaron y se generaron ADNc mediante la transcripción inversa de los ARNm purificados. Las sondas específicas para los genes IFI44, MXL, OASL, y OAS2 inducibles por IFN, genes MPO inflamatorios, TNF $\alpha$ , IL-6, e iNOS, y los genes de remodelado KLF10, TIMP, EPGN, y MMP se sembraron en un chip *Dynamic Array* con formato 48.48 de Biomark (Fluidigm Corp.), y los ADNc se analizaron para la expresión génica. El mAb 5A3 bloqueador de IFNAR1 inhibió significativamente la inducción de los cuatro genes inducibles por IFN en el intervalo de tiempo de 4 semanas (IFI44 en un 93 %,  $p < 0,006$ ; MX1 en un 85 %,  $p < 0,0001$ ; OASL en un 57 %,  $P < 0,02$ ; OAS2 en un 81 %  $p < 0,0001$ ), pero no un tuvo un impacto significativo en la expresión a las 2 semanas. Se mostraron resultados similares en la inducción génica proinflamatoria, en la que 5A3 neutralizó completamente la expresión de MPO, TNF $\alpha$ , IL-6 e iNOS a las 4 semanas, aunque también se observó una tendencia con respecto a la inhibición a las 2 semanas que no alcanzó una significación estadística. Por último, el tratamiento de 5A3 redujo la inducción de KLF10, un gen sensible a TGF-beta, un 47 % ( $P < 0,06$ ) a las 2 semanas y un 91 % ( $P < 0,0001$ ) a las 4 semanas, lo que indica una fuerte inhibición de una importante vía de fibrosis. EPGN, un mitógeno de células epiteliales, también se neutralizó  $> 95\%$  ( $P < 0,03$ ) en ambos intervalos de tiempo, mientras que los genes relacionados con la homeostasis de la matriz TIMP y MMP9 se inhibieron significativamente por 5A3 a las 4 semanas (100 %,  $P < 0,05$  y 92 %,  $P < 0,03$ , respectivamente). En conjunto, estos datos demuestran que, además de inhibir la inflamación dérmica, el bloqueo de IFNAR1 tiene un impacto dramático en el remodelado epitelial y de fibroblastos en GVH-SSc.

25

#### Sumario

Los estudios demuestran que la señalización de IFN de tipo I desempeña un papel importante en la fibrosis dérmica en un modelo murino de esclerosis sistémica. Antagonizar la señalización de IFN a través de IFN $\alpha$ R redujo significativamente tanto la incidencia como la gravedad de la inflamación cutánea y el remodelado dérmico, aunque los niveles de autoanticuerpos asociados con esclerodermia y proteinuria eran equivalentes a los observados en los controles de la enfermedad. Apoyando nuestros datos de anticuerpos se observó que la depleción previa de las poblaciones Gr-1(+) incluidas en pDC de esplenocitos del donante no provocó lesiones cutáneas en ratones huésped, sin embargo, no afectó significativamente a la proteinuria.

35

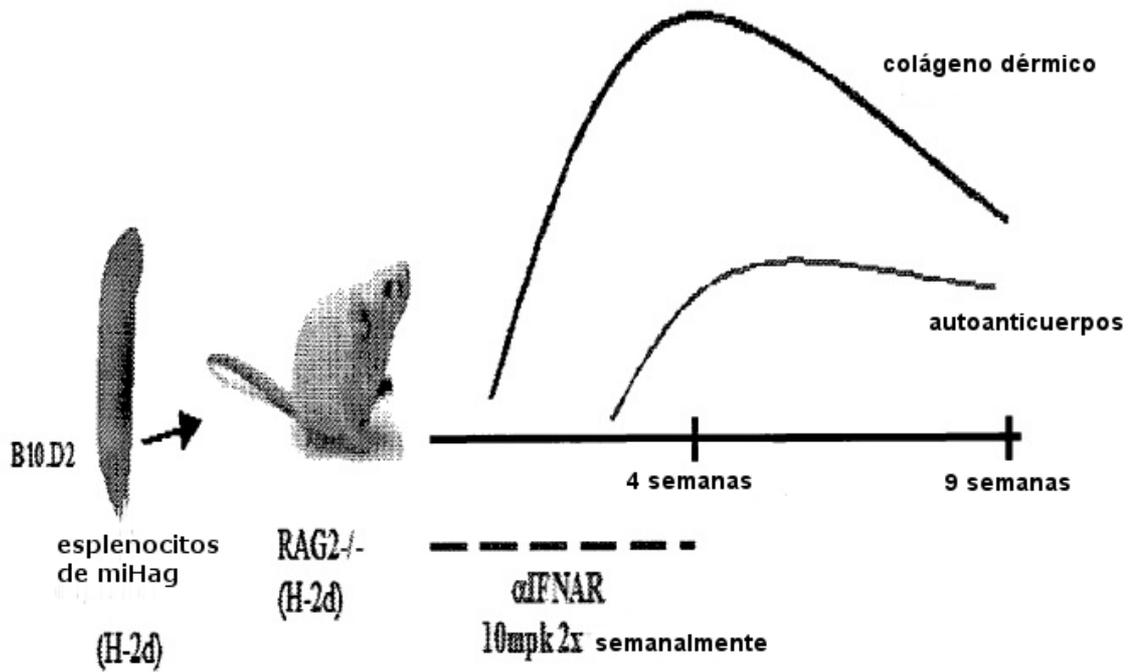
Considerando que se han descrito previamente las realizaciones particulares de la invención con fines descriptivos, los expertos en la materia apreciarán que pueden realizarse numerosas variaciones de los detalles sin apartarse de la invención según se define en las reivindicaciones adjuntas.

40

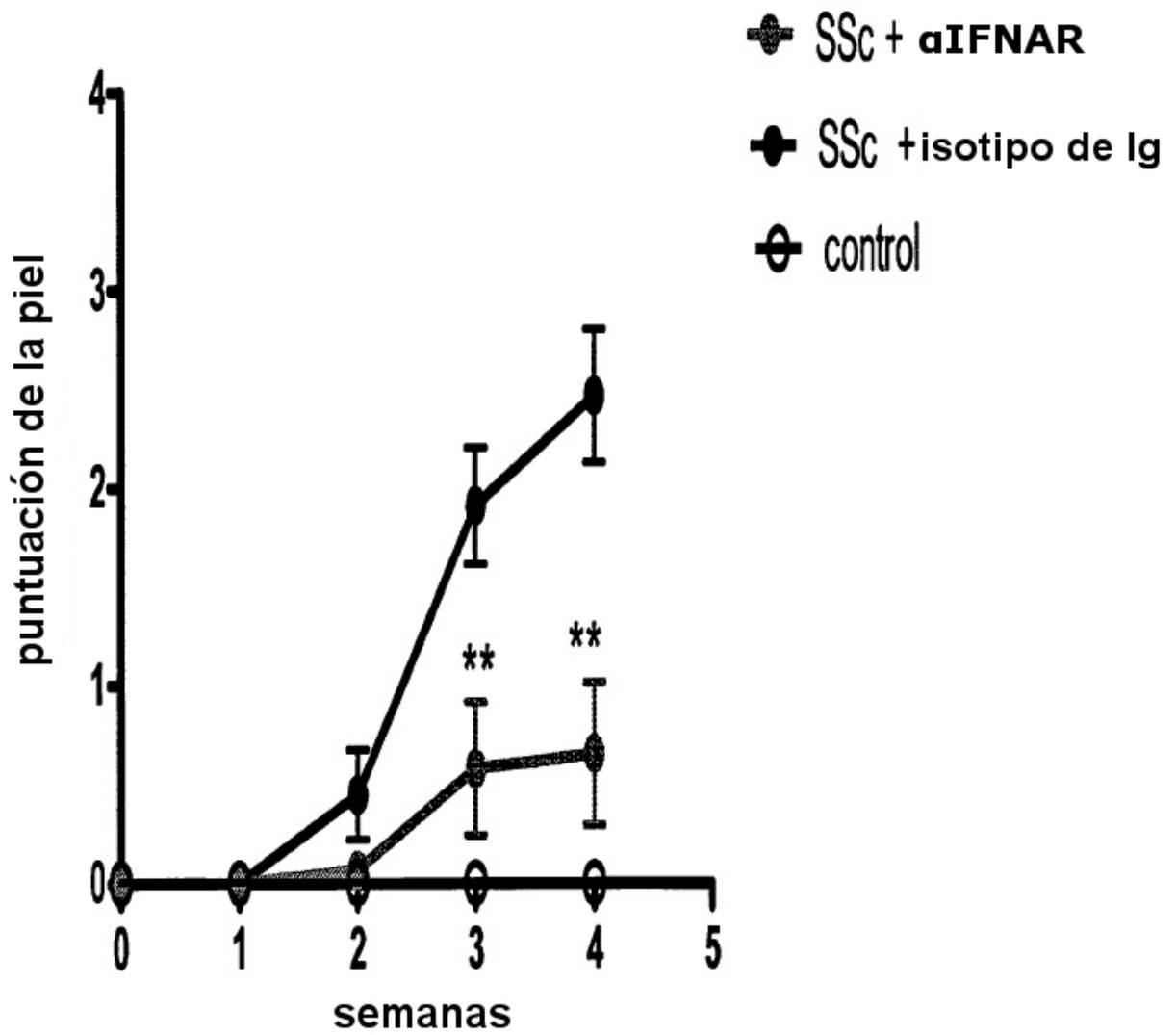
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un antagonista de interferón de tipo I (IFN) para su uso en un método para tratar la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que dicho antagonista es un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R o un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ .
2. Un antagonista de interferón de tipo I para su uso en un método para aliviar uno o más de los síntomas asociados con la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento, en el que dicho antagonista es un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R o un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ .
- 10 3. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1 o 2, en el que los síntomas de la esclerodermia se seleccionan entre el grupo que consiste en fibrosis dérmica, lesiones cutáneas, alopecia, inflamación, engrosamiento dérmico, deposición de colágeno, proteinuria, y deposición del complemento.
- 15 4. El anticuerpo para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el anticuerpo se administra en una dosis entre 0,03 mg/kg y 30 mg/kg.
5. El anticuerpo para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho uso en un método para tratar o aliviar da lugar a una mejora en los síntomas según la puntuación cutánea del índice modificado de Rodnan.
- 20 6. El anticuerpo para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho uso en un método para tratar o aliviar da lugar a una mejora en los síntomas según la puntuación de la condición de Raynaud (RCS).
7. El anticuerpo para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho uso en un método para tratar o aliviar da lugar a una mejora en los síntomas según el análisis de qPCR realizado en muestras cutáneas del paciente.
- 25 8. El anticuerpo para su uso de la reivindicación 7, en el que dicho uso en un método para tratar y aliviar reduce la expresión génica inflamatoria seleccionada entre el grupo que consiste en MPO, TNF $\alpha$ , IL-6, e INOS.
- 30 9. El anticuerpo para su uso de la reivindicación 7, en el que dicho uso en un método para tratar o aliviar reduce la expresión génica relacionada con el remodelado tisular seleccionada entre el grupo que consiste en KLF10, TIMP, EPGN, y MMP9.
- 35 10. Una composición que comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R o un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  y un transportador farmacéuticamente aceptable para su uso en un método para tratar la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento según cualquier reivindicación precedente.
- 40 11. Una composición que comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R o un anticuerpo anti-IFN $\alpha$  y un transportador farmacéuticamente aceptable para su uso en un método para aliviar uno o más de los síntomas asociados con la esclerodermia en un paciente en necesidad de tal tratamiento según cualquier reivindicación precedente.
- 45 12. La composición para su uso de la reivindicación 10 u 11, en la que la composición comprende uno o más antagonistas de interferón de tipo I, opcionalmente la composición comprende un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ R y un anticuerpo anti-IFN $\alpha$ .
- 50 13. El anticuerpo para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o la composición para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que se administra también un segundo agente.
- 55 14. El anticuerpo para su uso o la composición para su uso de la reivindicación 13, en el que el segundo agente es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo tal como ibuprofeno, naproxeno, sulindac, diclofenac, piroxicam, ketoprofeno, diflunisal, nabumetona, etodolac, y oxaprozina, indometacina; un fármaco contra la malaria, tal como la hidroxicloroquina; una hormona corticosteroide, tal como prednisona, hidrocortisona, metilprednisolona, y dexametasona; metotrexato; un agente inmunosupresor, tal como azatioprina y ciclofosfamida; o un agente biológico que, por ejemplo, tiene por diana los linfocitos T, como Alefacept y Efalizumab, o tiene por diana a TNF $\alpha$ , tal como, etanercept, infliximab y adalimumab.

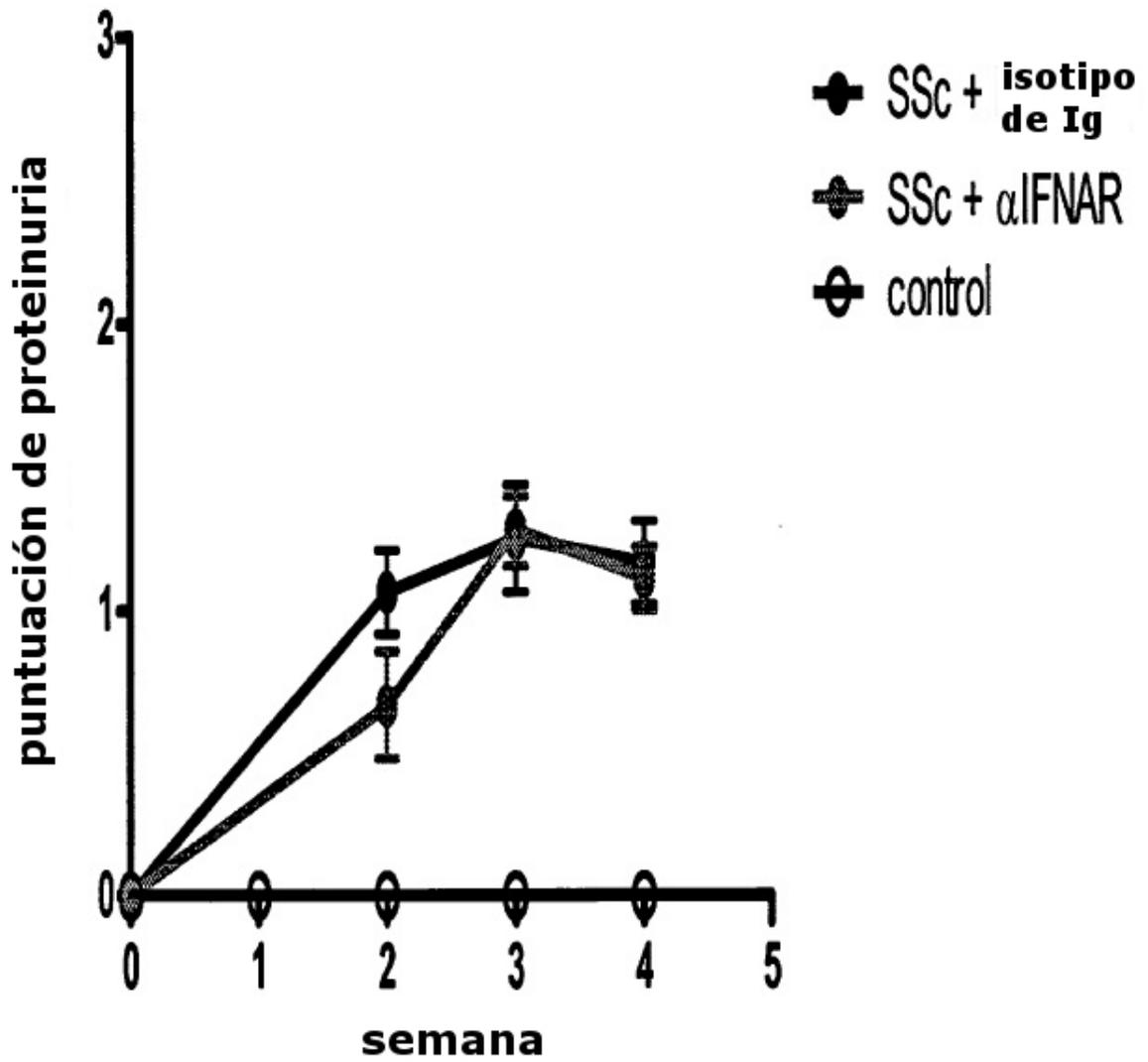
**Figura 1**



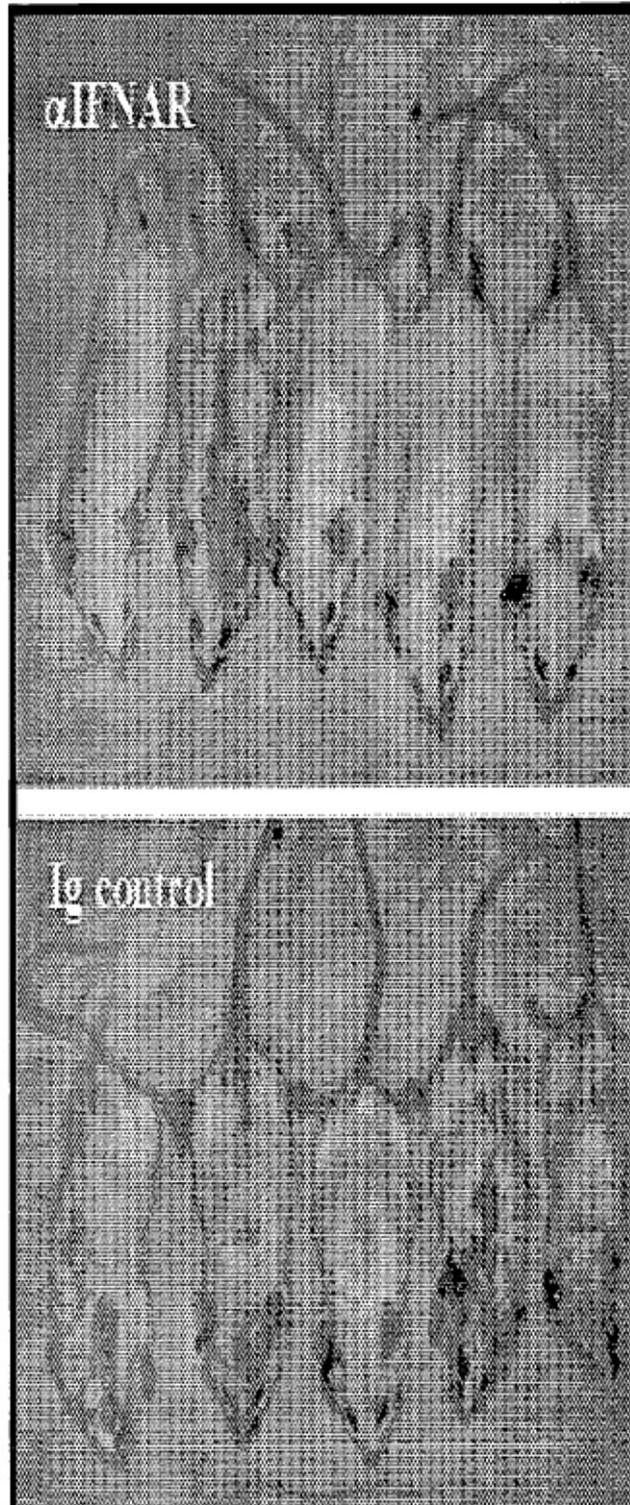
**Figura 2A**



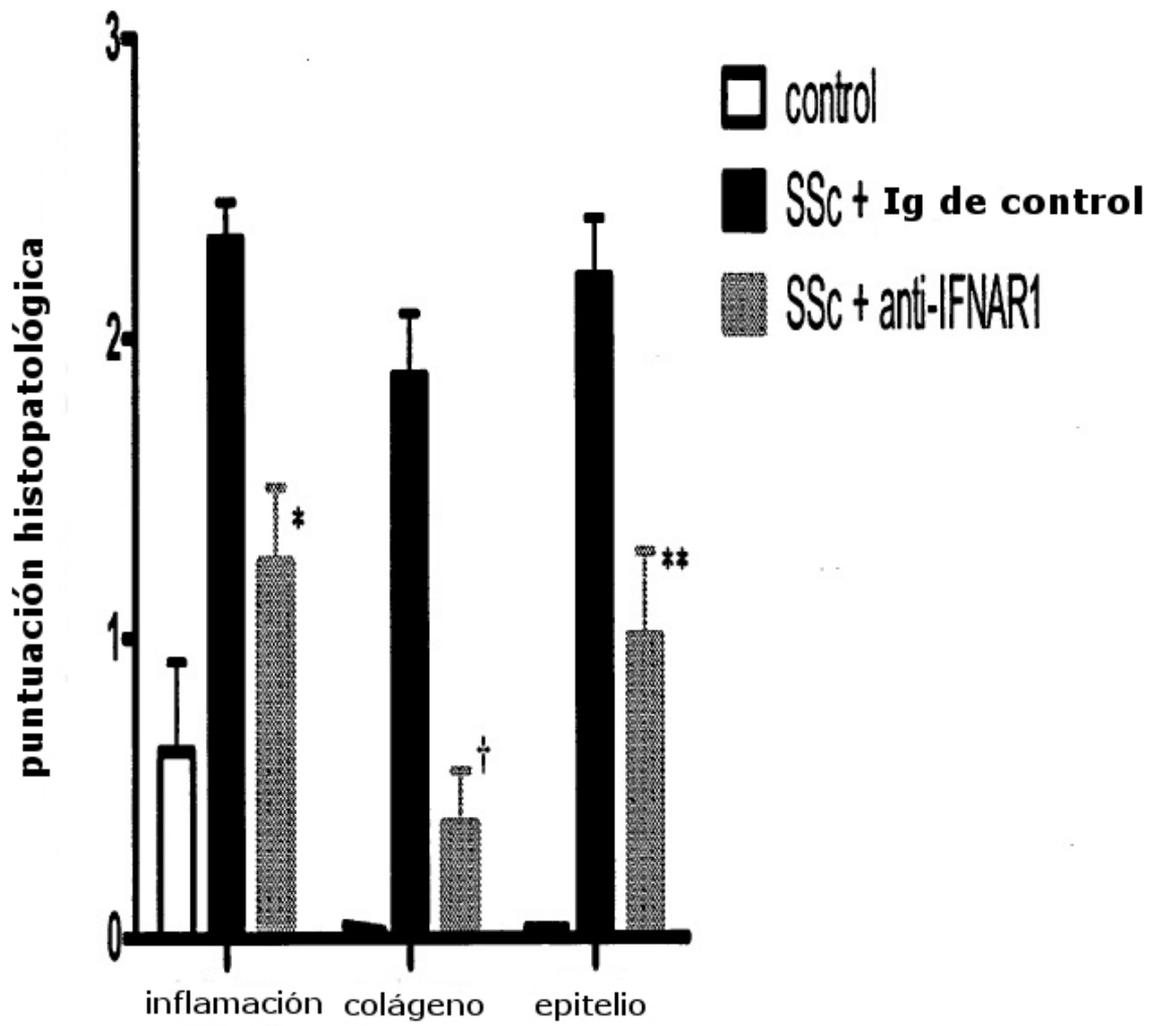
**Figura 2B**



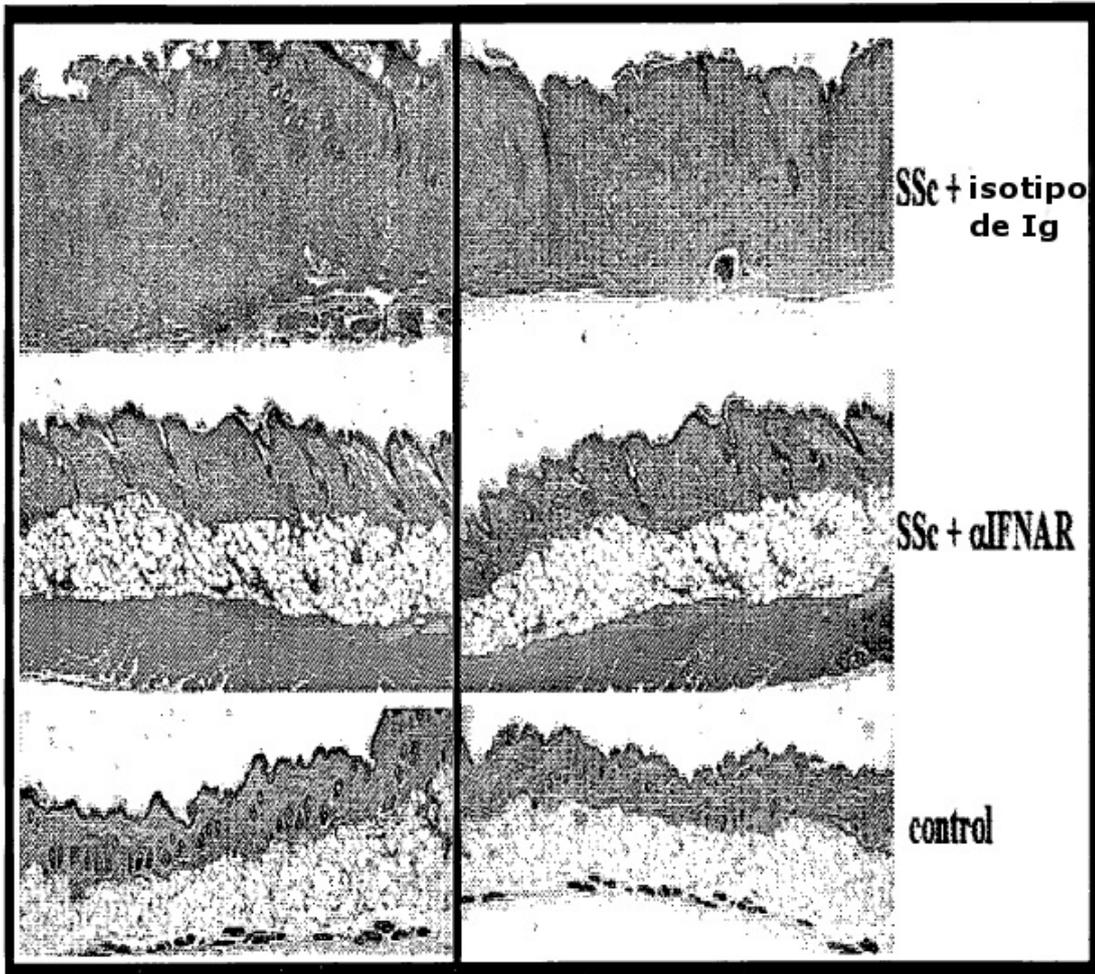
## Figura 2C



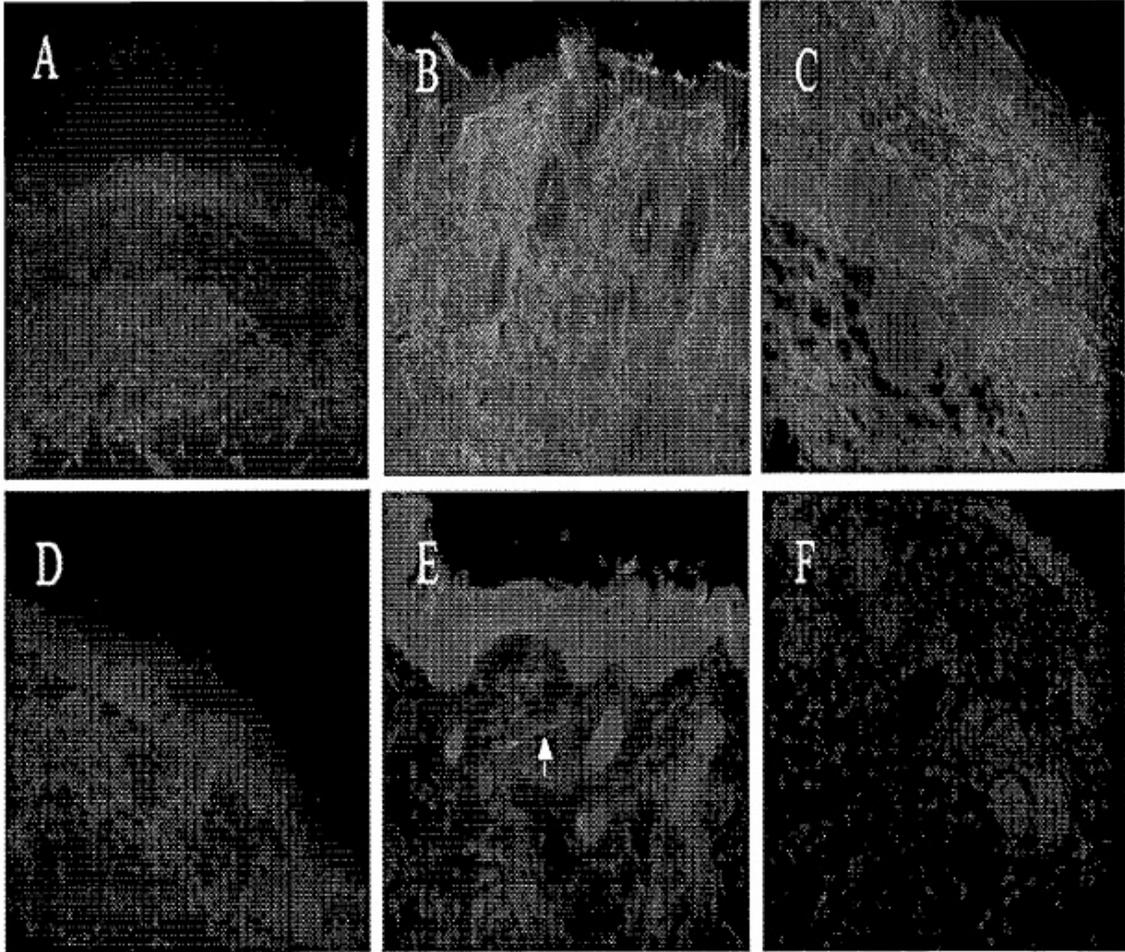
**Figura 3A**



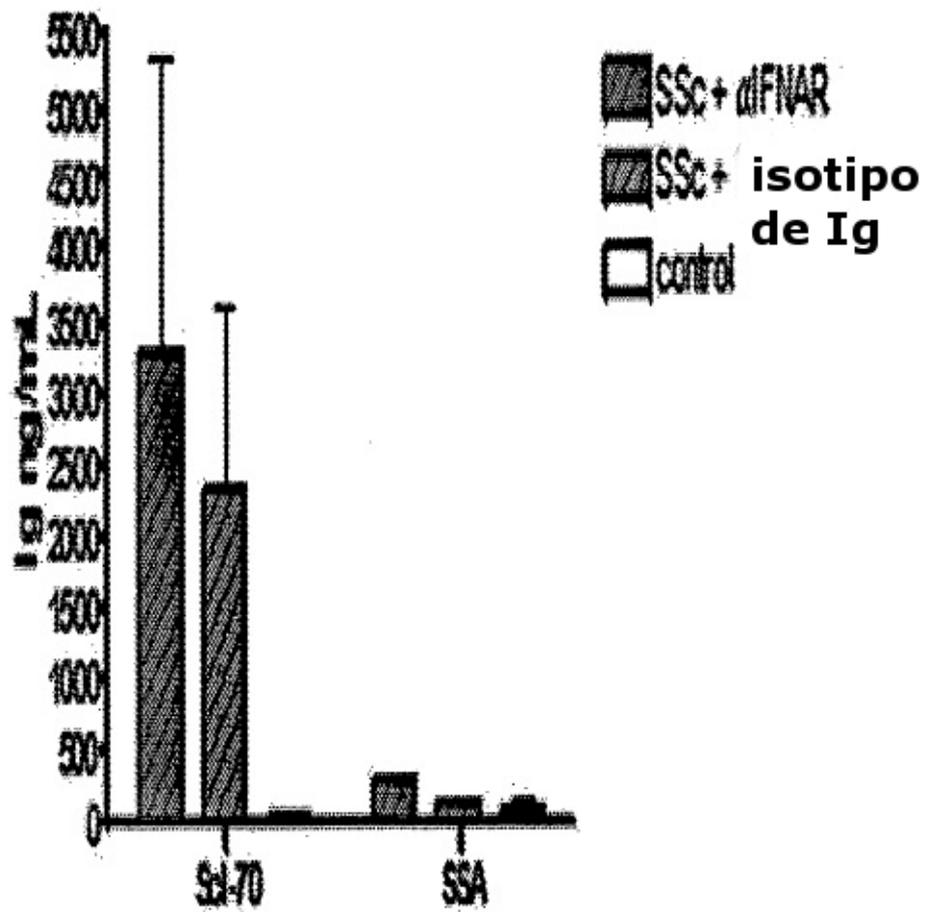
**Figura 3B**



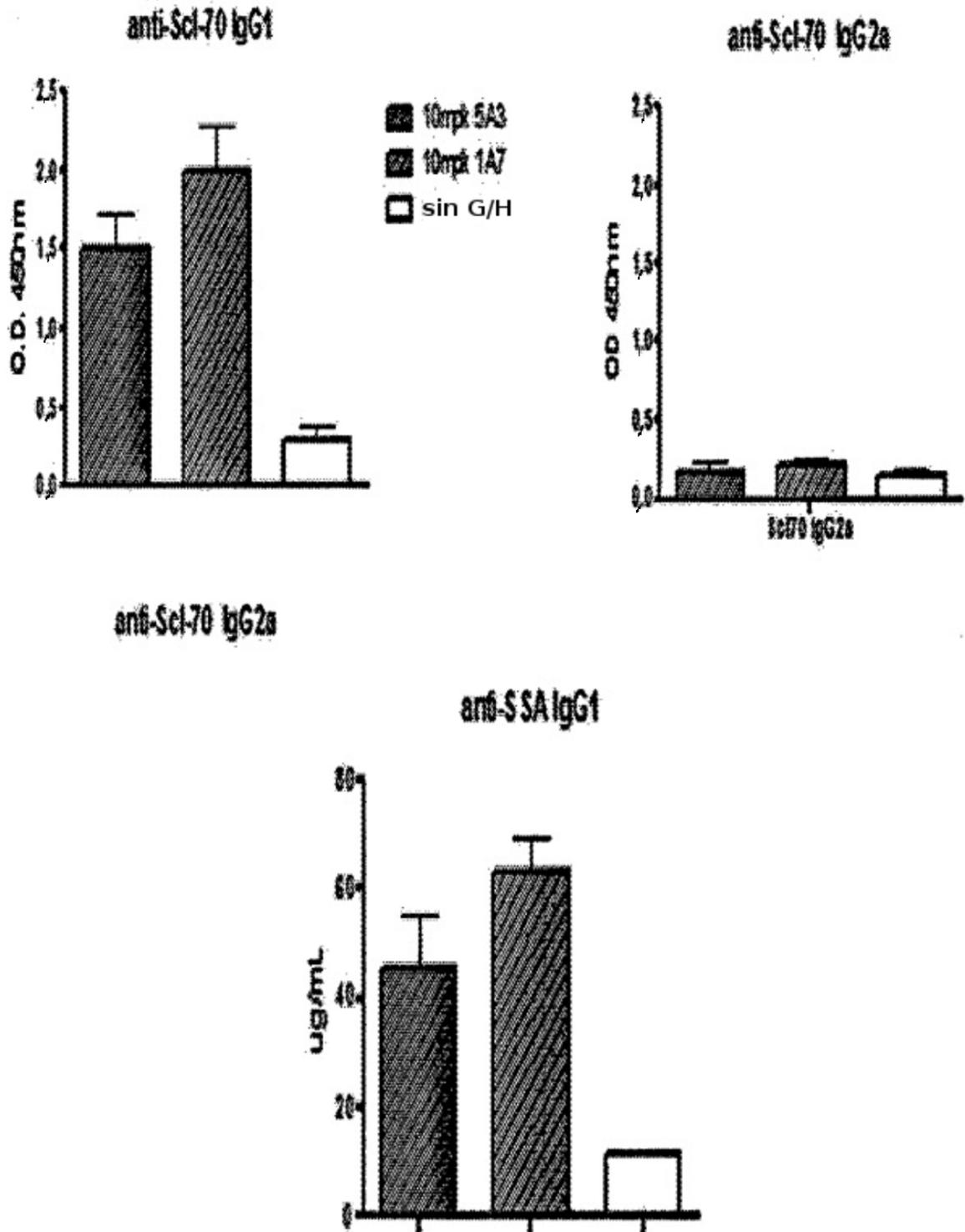
**Figuras 4A, 4B, 4C, 4D, 4E & 4F**



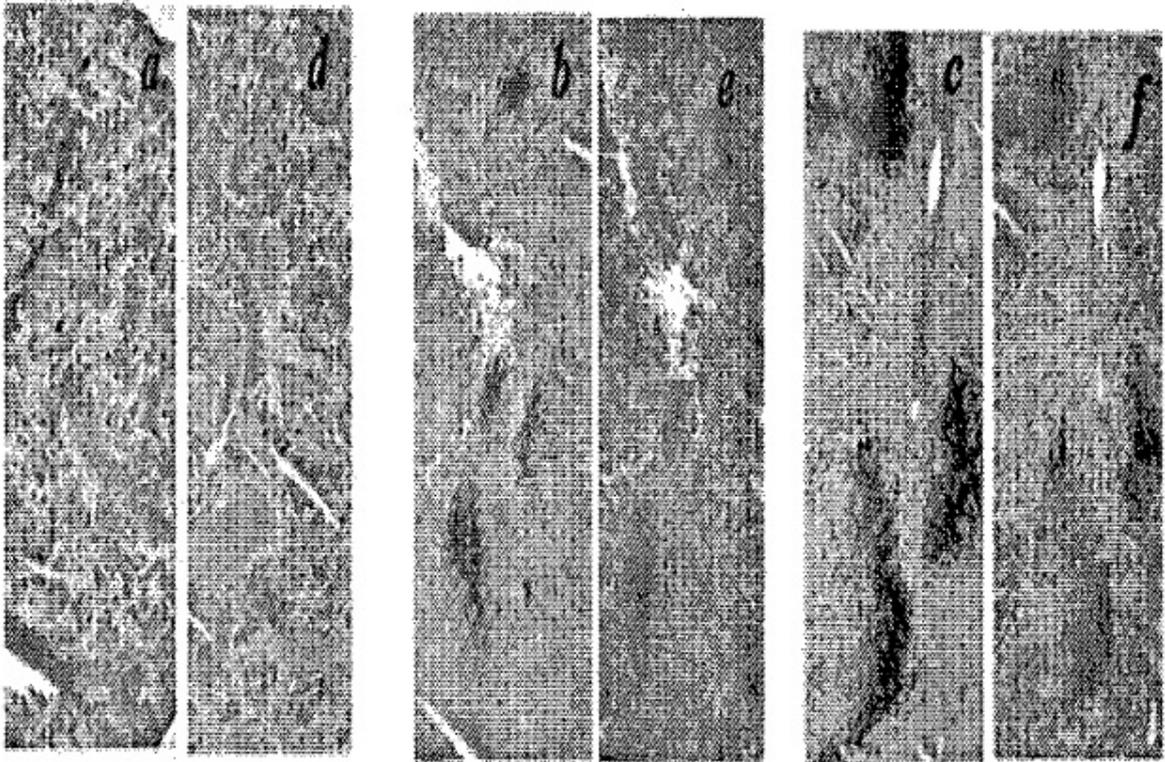
**Figura 5A**



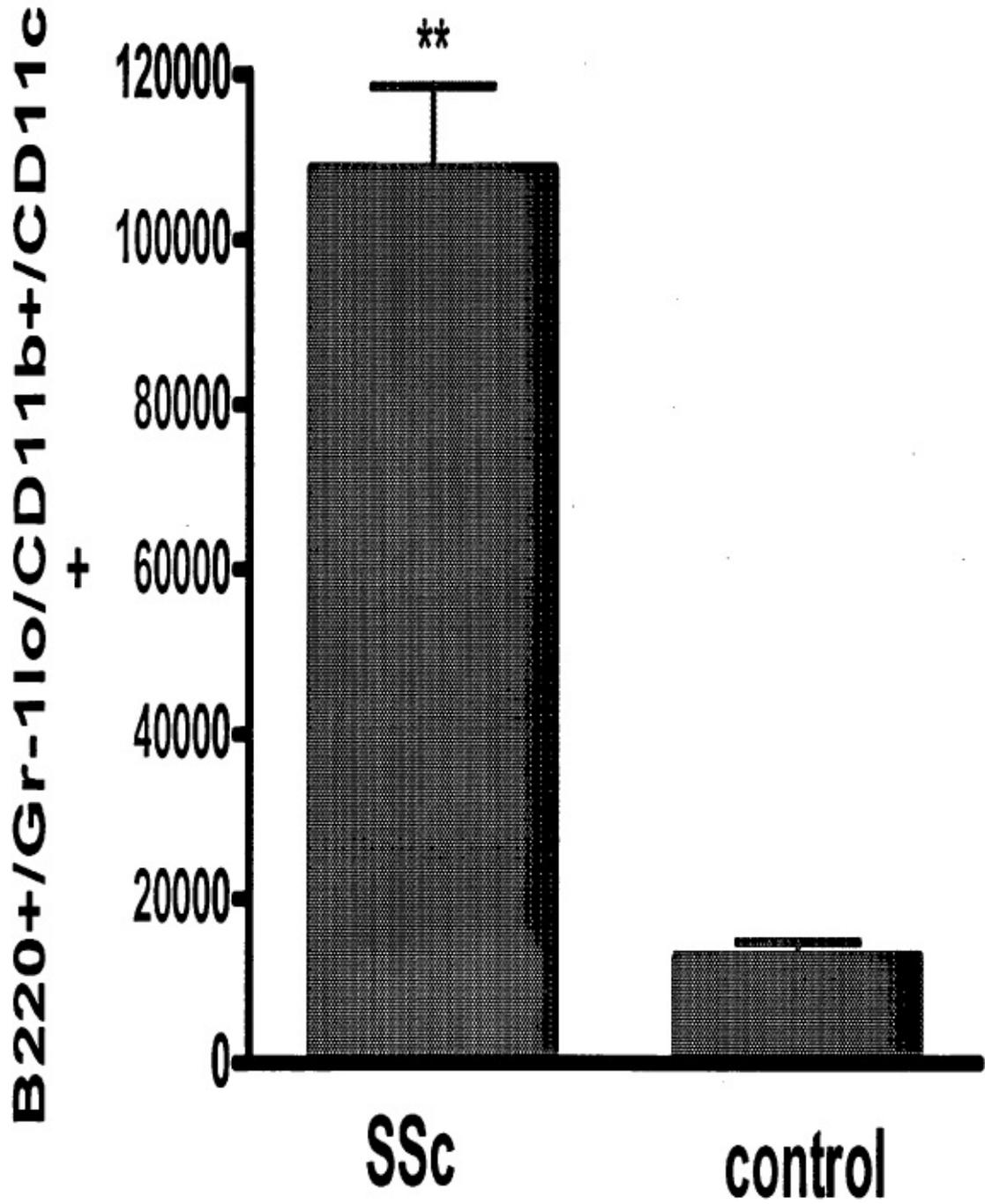
### Figura 5B



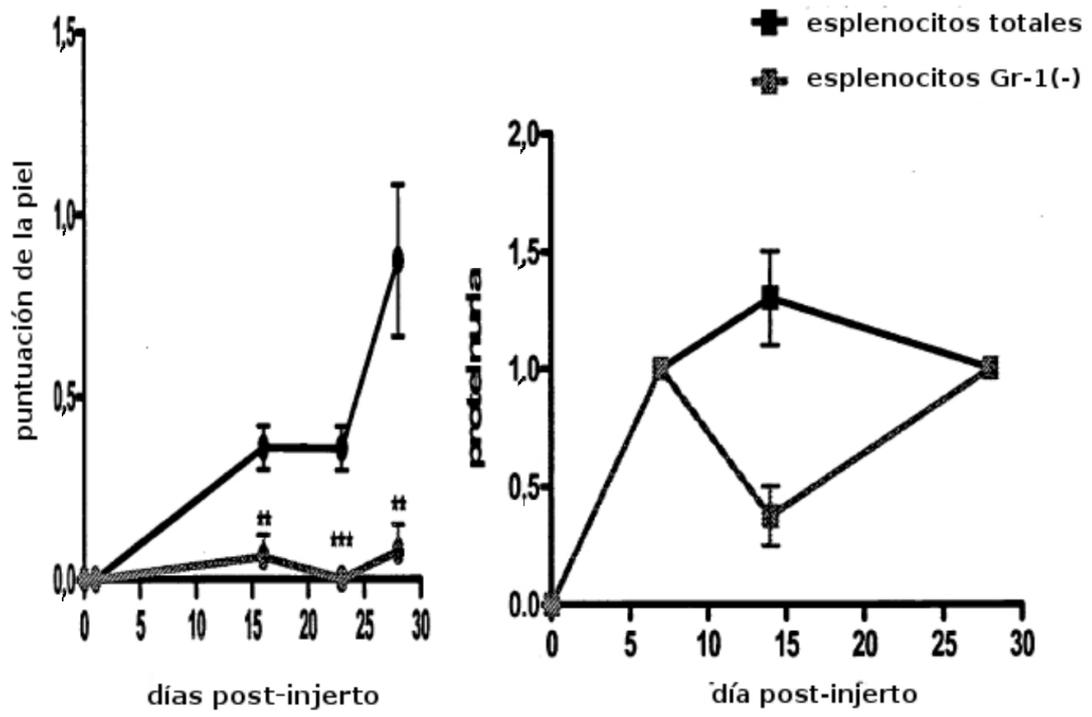
# Figura 5C



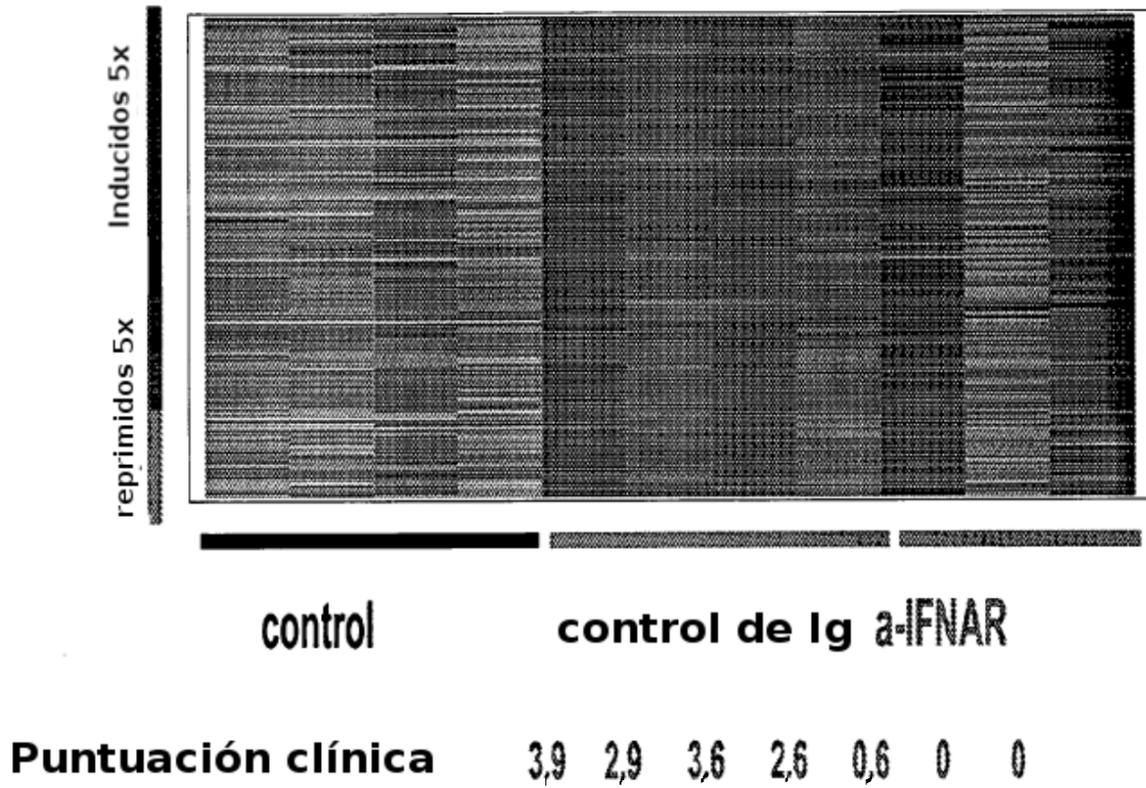
**Figura 6A**



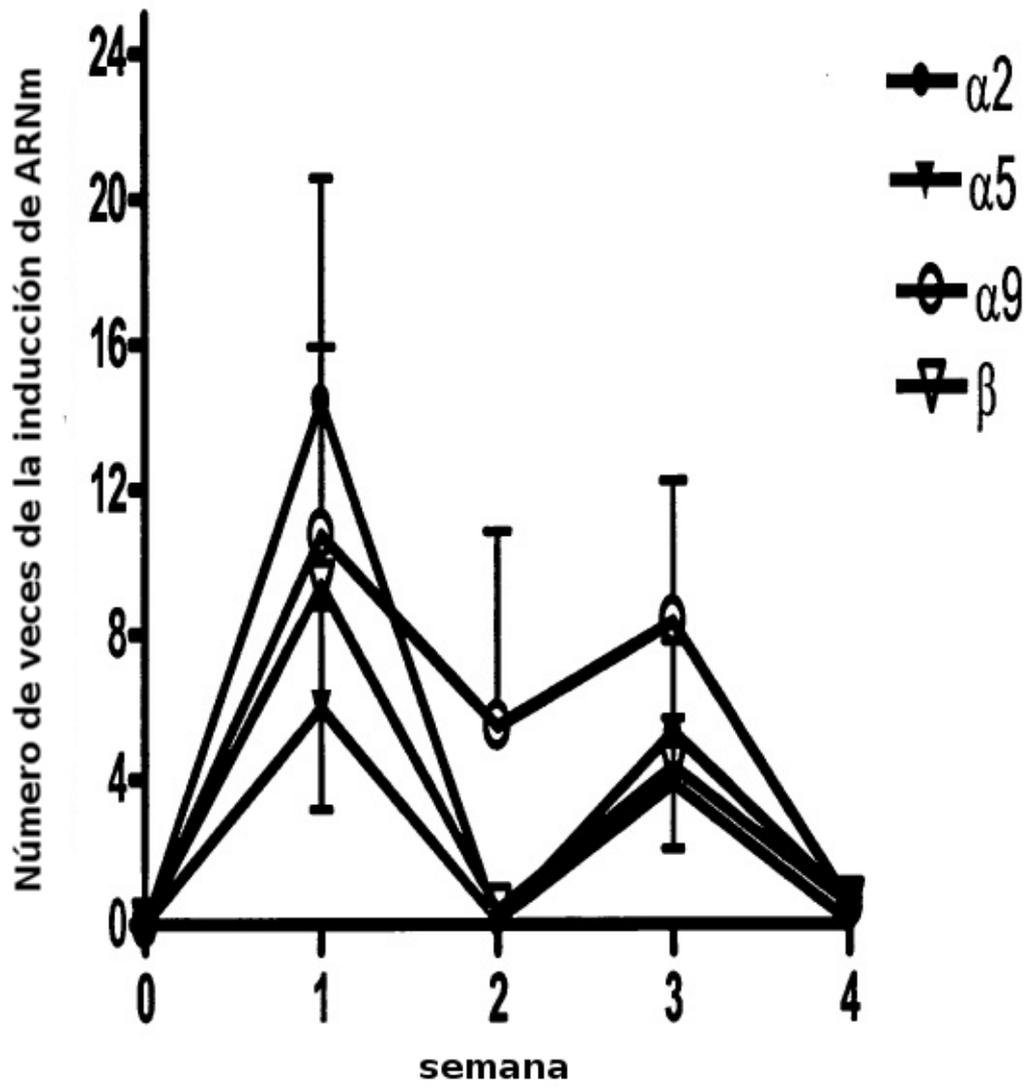
**Figura 6B**



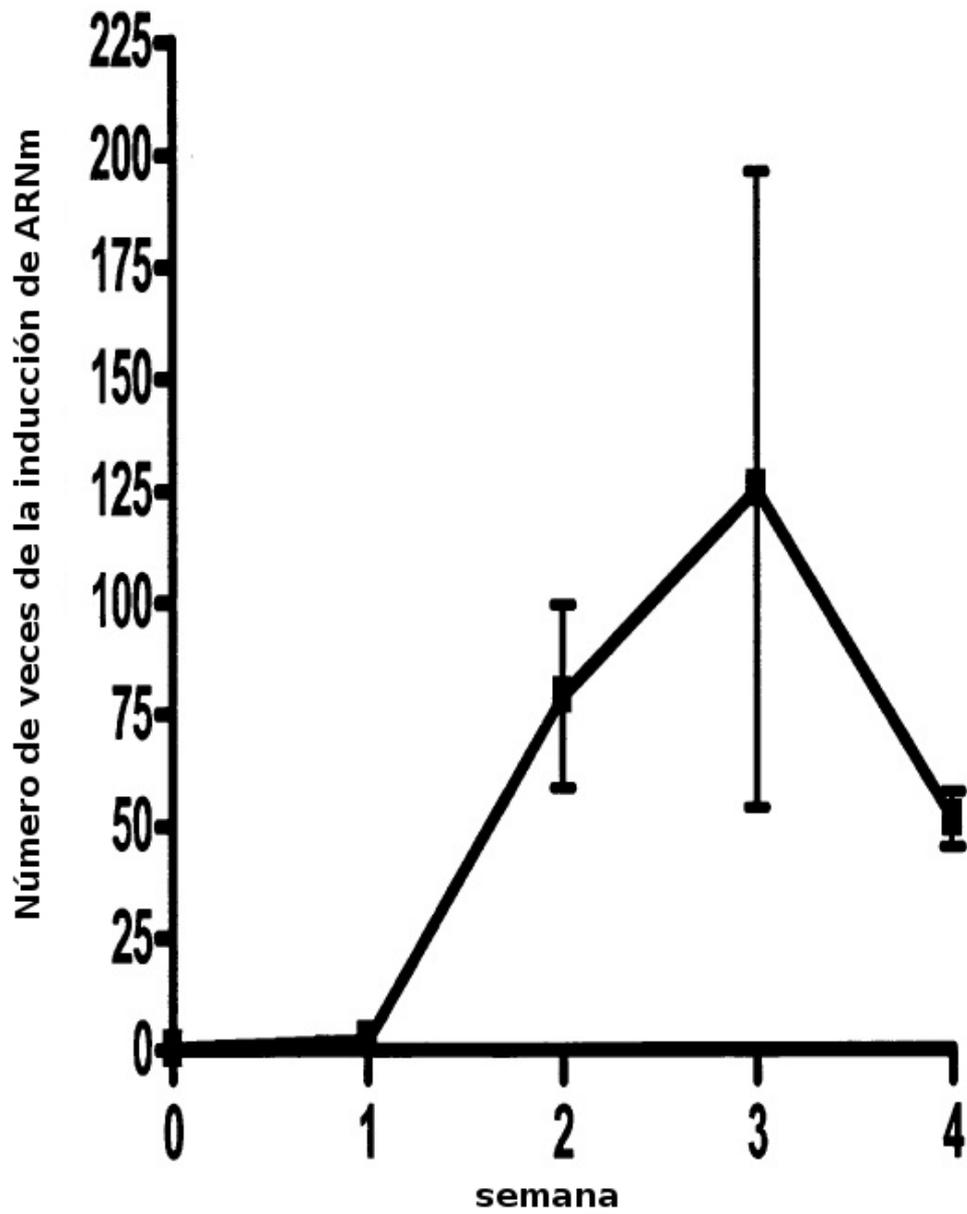
**Figura 7**



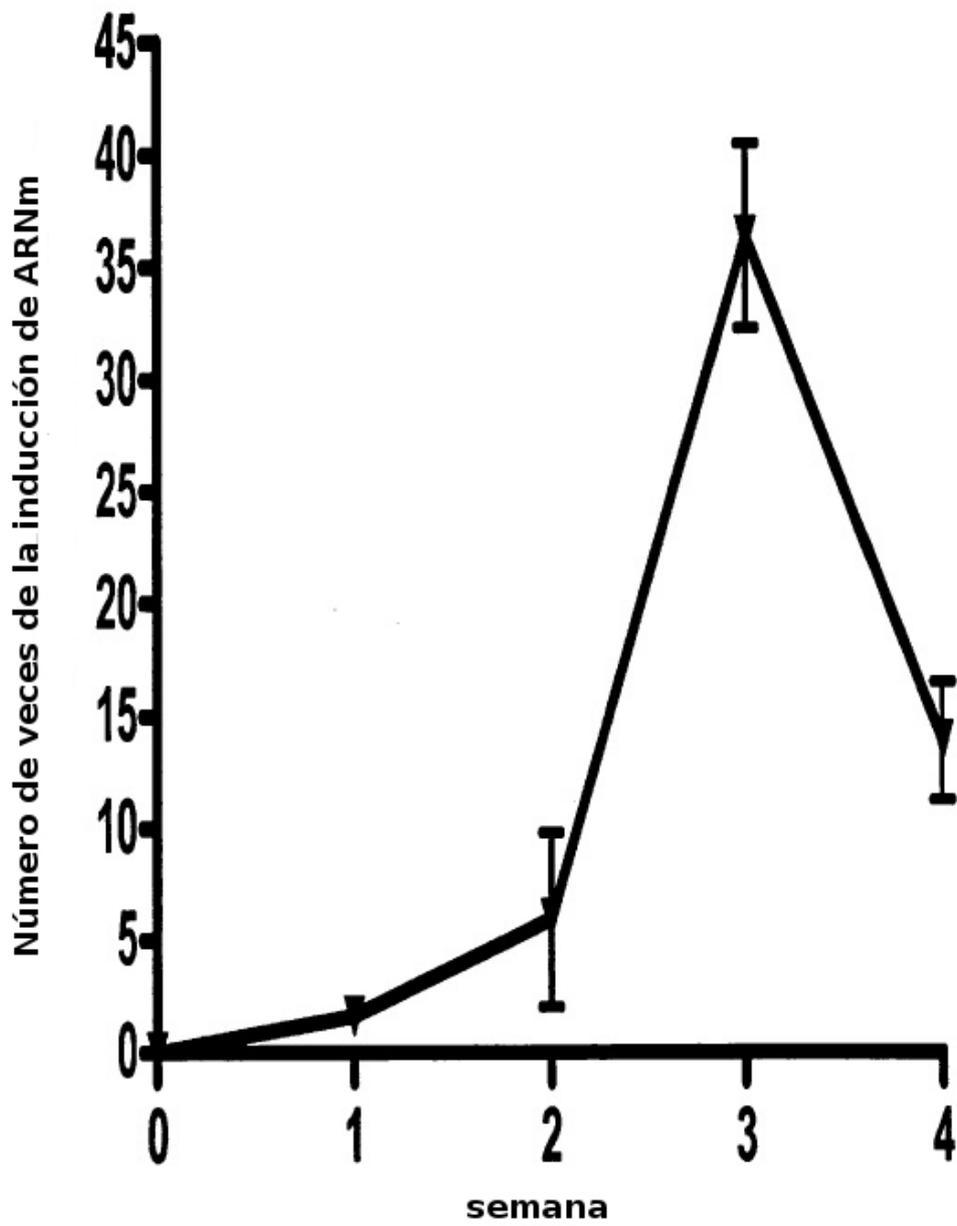
**Figura 8A**



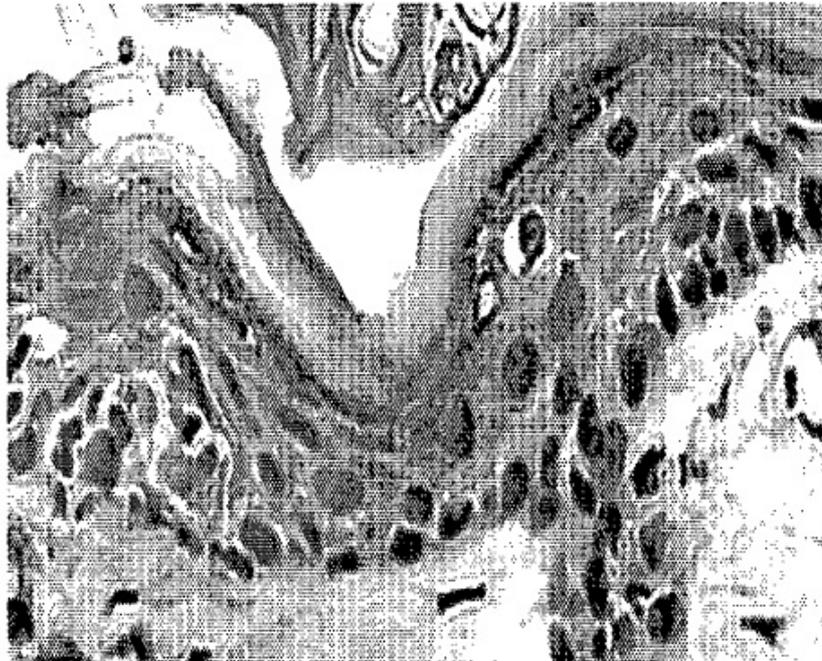
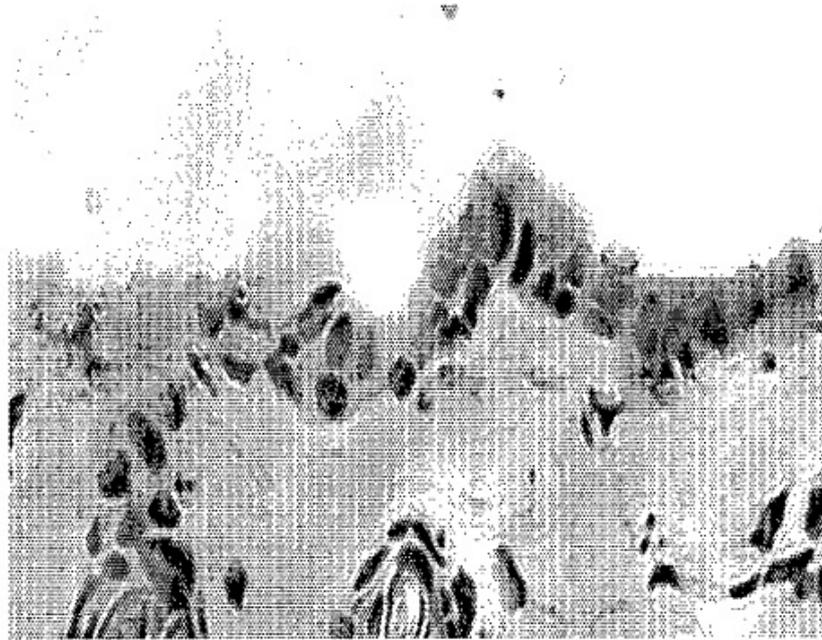
**Figura 8B**



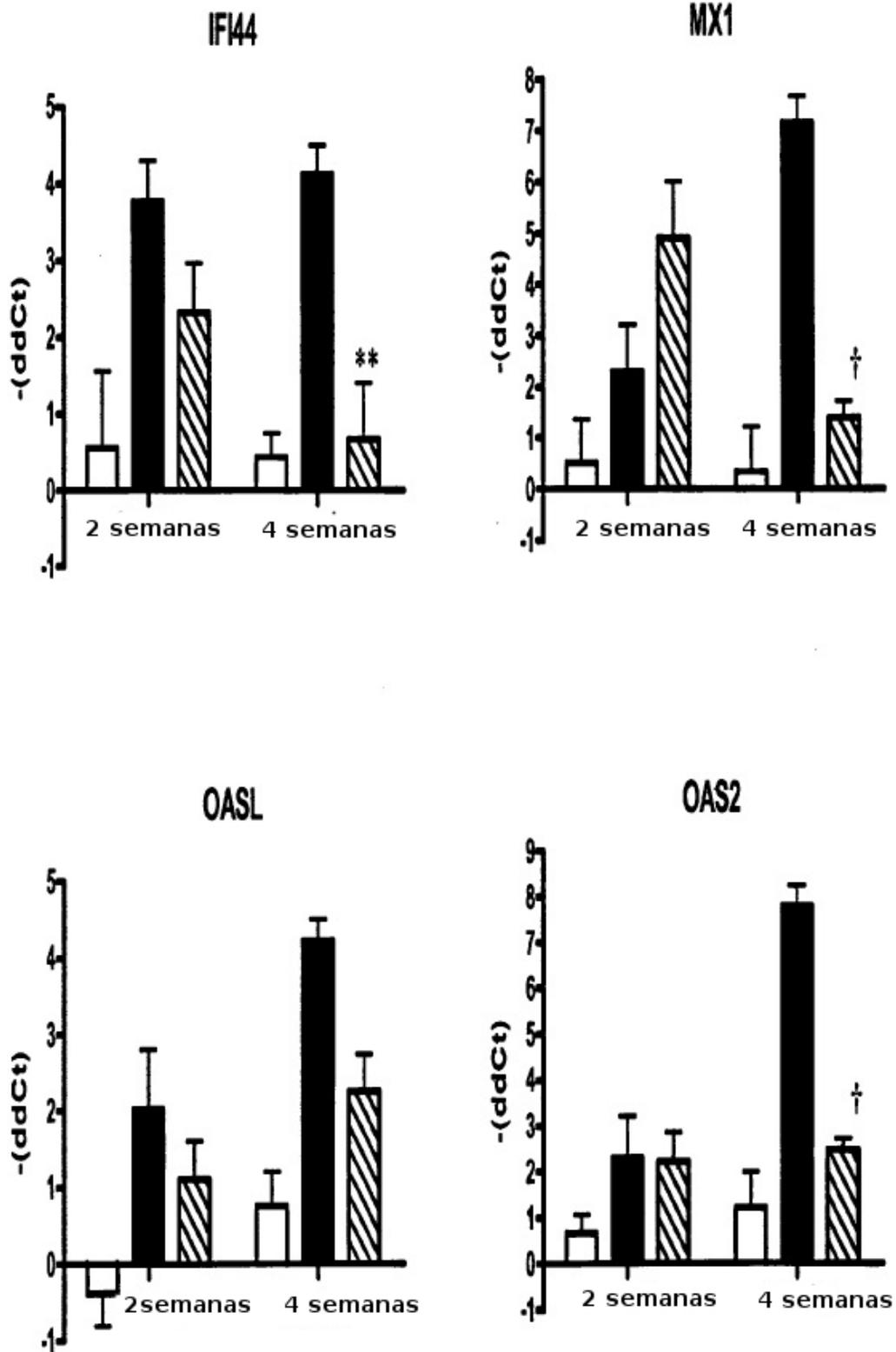
**Figura 8C**



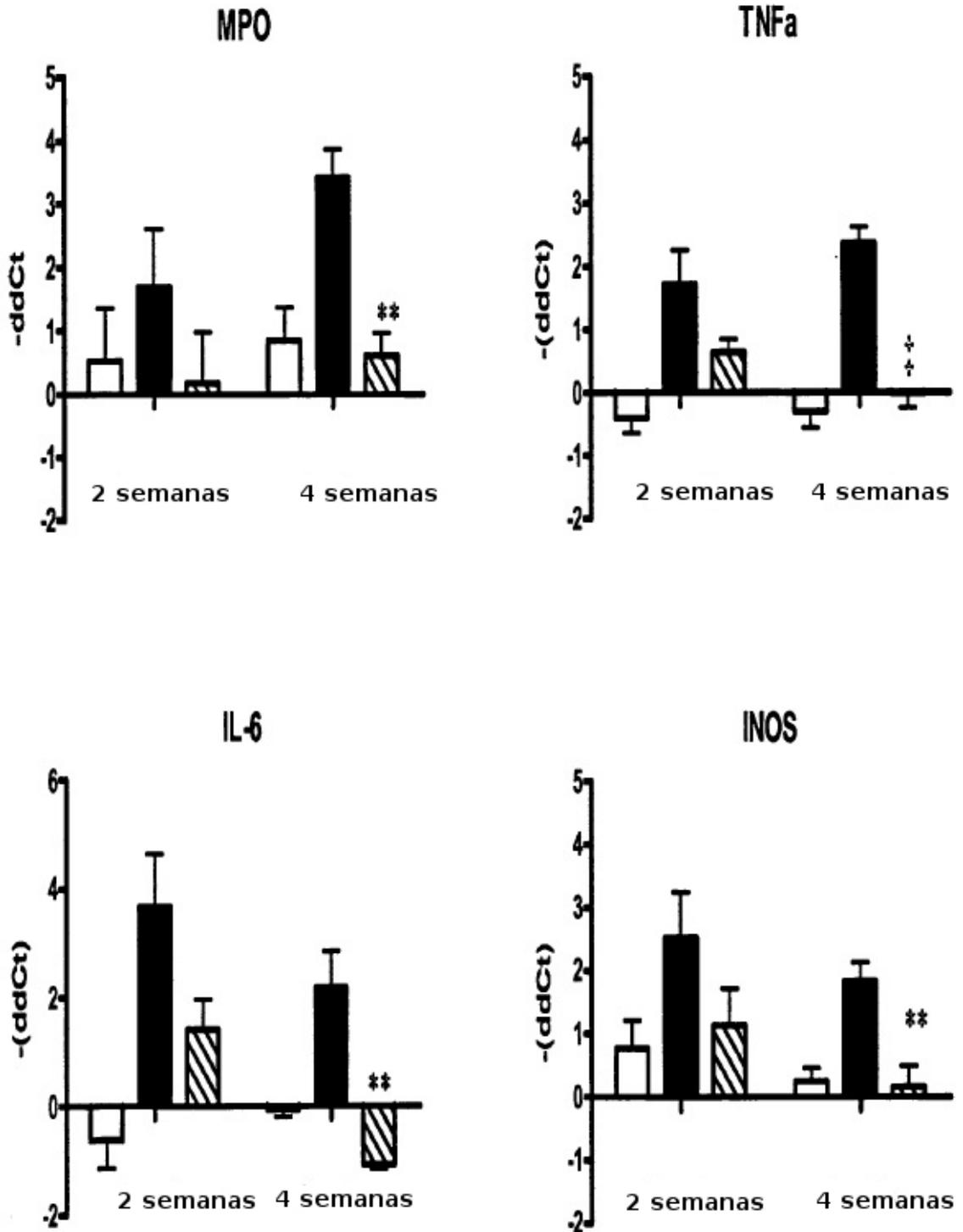
## Figura 8D



**Figura 9A**



**Figura 9B**



**Figura 9C**

