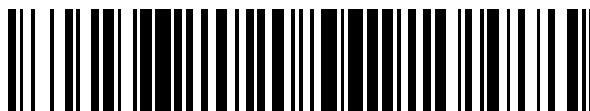


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 828**

51 Int. Cl.:

C07K 16/24	(2006.01)
A61P 19/02	(2006.01)
A61P 25/04	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)
C07K 16/28	(2006.01)
A61K 39/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2012 PCT/EP2012/063998**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO2013011021**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2012 E 12735555 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2734547**

54 Título: **Uso de antagonistas de c-Fms**

30 Prioridad:

18.07.2011 EP 11174305
18.07.2011 US 201161508717 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.06.2017

73 Titular/es:

THE UNIVERSITY OF MELBOURNE (50.0%)
205-211 Grattan Street
Parkville, VIC 3010, AU y
MORPHOSYS AG (50.0%)

72 Inventor/es:

STEIDL, STEFAN;
HAMILTON, JOHN ALLAN y
COOK, ANDREW DAVID

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 618 828 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

Uso de antagonistas de c-Fms

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere en general a un método para el tratamiento y/o la profilaxis de la artrosis (OA, también denominada osteoartritis) y/o el dolor. De acuerdo con la presente invención, un antagonista de c-Fms puede ser eficaz en el tratamiento de la artrosis y/o el dolor. Un antagonista de c-Fms incluye, pero no se limita a, un anticuerpo que es específico de c-Fms o un ligando de c-Fms, por ejemplo M-CSF o IL-34.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Artrosis

10 La artrosis (OA), también conocida como artritis degenerativa, es una enfermedad muy común en personas ancianas y obesas. La OA es una enfermedad de las articulaciones pero, a diferencia de la artritis reumatoide (AR), la enfermedad no es sistémica, afectando generalmente solo a una o unas pocas articulaciones. La enfermedad conduce a una destrucción total del cartilago articular, esclerosis de los huesos subyacentes y formación de osteofitos, lo que produce una pérdida de movimiento y dolor. El resultado final es frecuentemente una necesidad de reemplazar totalmente la articulación.

15 La OA afecta a aproximadamente ~21 millones de personas en los EE.UU., comprende el 25% de todas las consultas al médico de atención primaria y representa el 50% del total de recetas de AINEs (fármacos antiinflamatorios no esteroideos). Actualmente no se dispone de un tratamiento disponible que ralentice o detenga la progresión de la enfermedad; los fármacos actuales simplemente tratan los síntomas. La incidencia y la gravedad de la enfermedad aumentan con la edad. A una edad de 65 años, el 80% de los estadounidenses muestra una evidencia radiográfica de OA, aunque solo en el 60% de los mismos será sintomática. El 65% de todas las enfermedades articulares a la edad de 65 años es OA. En el año 2006, había 735.000 hospitalizaciones de estadounidenses relacionadas con la OA.

20 Los fármacos actuales para la OA tratan los síntomas de la OA, más que la propia enfermedad. Los fármacos usados comúnmente en el tratamiento de la OA incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), tales como diacarina, voltarén, mobic y artrotec (nombres genéricos: diclofenaco, misoprostol, meloxicam). Los AINEs son principalmente compuestos orales que actúan inhibiendo la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central (SNC). Otros fármacos que se usan comúnmente incluyen analgésicos no narcóticos, tales como ultram (tramadol), inhibidores de COX-2, como celebrax y arcoxia (celecoxib, etoricoxib), analgésicos narcóticos, tales como duragesic (dextropropoxifeno fentanilo), ácidos hialurónicos, como suparts, hyalgan, orthovisc y synvisc (Hylan G-F20), y corticosteroides, tales como predinisolona y metil predinisolona. Los tratamientos actuales para la OA pretenden evitar la necesidad de una cirugía mediante ingeniería tisular, tal como el trasplante de condrocitos; sin embargo, estos tratamientos solo son aplicables en el tratamiento de una OA de estadio final. Otras metodologías en el tratamiento de la OA que se consideran, incluyen la proloterapia, en la que un agente irritante, tal como dextrosa, se inyecta en la articulación afectada, lo que provoca una reacción inflamatoria aguda y también se espera un fortalecimiento y una curación de los tejidos, ligamentos, tendones y cartilago. Por lo tanto, existe una gran necesidad médica no cubierta para el tratamiento de la OA.

Dolor

40 El dolor de cualquier tipo es el motivo más frecuente de consulta médica en los Estados Unidos, lo que provoca que la mitad de todos los estadounidenses busquen atención médica cada año. Es un síntoma importante en muchas afecciones médicas, que interfiere significativamente con la calidad de vida y el funcionamiento general de una persona. El diagnóstico se basa en una caracterización del dolor de diversas formas, según la duración, la intensidad, el tipo (sordo, ardiente o punzante), la fuente o la ubicación en el cuerpo. Por lo general, el dolor cesa sin tratamiento o responde a medidas simples, tales como descansar o tomar un analgésico, y entonces se llama dolor agudo. Pero también puede llegar a ser intratable y se convierte en una afección conocida como dolor crónico, en la que el dolor ya no se considera un síntoma sino una enfermedad por sí misma.

45 El dolor se puede clasificar de acuerdo con muchos esquemas y circunstancias. Existen dos tipos básicos de dolor: agudo y crónico. El dolor agudo se produce durante breves períodos de tiempo y se asocia con trastornos temporales. Sin embargo, siempre es una señal de alarma de que algo anda mal. El dolor crónico es continuo y recurrente. Se asocia con enfermedades crónicas y es uno de sus síntomas. La intensidad del dolor no solo depende del tipo de estímulo que lo provoca, sino también de la percepción subjetiva del dolor. A pesar de los múltiples tipos de percepción subjetiva, diversos tipos de dolor se han clasificado según:

- El estímulo que provoca el dolor.
- La duración del dolor.

- Las características del dolor (intensidad, ubicación, etc.).

Otro sistema de clasificación es el siguiente:

- Dolor persistente. Continuo con intensidad constante. Por lo general, empeora con el movimiento.
- Dolor pulsátil. Este es típico del dolor de la migraña. Está causado por una dilatación y estrechamiento de los vasos sanguíneos cerebrales.
- Dolor punzante. Intenso y grave. Está causado por estímulos mecánicos.
- Dolor urente. Una sensación constante de ardor como, por ejemplo, el tipo de dolor causado por el ardor de estómago.
- Dolor opresivo. Causado por el estrechamiento de los vasos sanguíneos o los músculos.

También existen tipos específicos de dolor:

- Dolor muscular. También conocido como mialgia, este dolor afecta a los músculos y se produce después de un esfuerzo excesivo o durante una inflamación.
- Dolor de tipo cólico. Causado por contracciones musculares de ciertos órganos, tales como el útero durante el período menstrual. Generalmente de naturaleza cíclica.
- Dolor referido. Se produce cuando la sensación de dolor se siente en un sitio distinto de aquel en el que en realidad está teniendo lugar, dependiendo de cómo interpreta el cerebro la información que recibe del cuerpo.
- Dolor postoperatorio. Se produce después de una cirugía y se debe a lesiones de la intervención quirúrgica.
- Dolor por cáncer de huesos. Ciertos tipos de cáncer, como el de próstata, mama u otros tumores de tejidos blandos, pueden progresar hasta un trastorno doloroso del hueso conocido como enfermedad ósea metastásica.

Atención convencional para el tratamiento del dolor

Hay muchas maneras de tratar el dolor. El tratamiento varía dependiendo de la causa del dolor. Las principales opciones de tratamiento son las siguientes:

Acetaminofeno: Tylenol (acetaminofeno) se utiliza para tratar el dolor. A diferencia de varios otros medicamentos contra el dolor, Tylenol no tiene efectos antiinflamatorios. Pero frecuentemente, en casos de dolor crónico, no hay una inflamación en el sitio del dolor y por lo tanto Tylenol puede ser una opción de tratamiento apropiada. Tylenol es seguro cuando se usa apropiadamente, pero puede ser peligroso cuando se emplea en exceso. Tylenol también puede causar efectos no deseados cuando se usa con ciertos otros medicamentos.

Medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs): Los AINEs (tales como ibuprofeno, Motrin, Aleve, etc.) son los más beneficiosos en casos de dolor agudo o brotes en pacientes con dolor crónico. Los AINEs también son excelentes en el tratamiento de afecciones inflamatorias, incluyendo la tendinitis, la bursitis y la artritis. En general, el uso de AINEs se limita a pacientes con dolor crónico debido a un temor de que se desarrollen problemas de estómago. Aunque los llamados inhibidores de COX-2 novedosos, tales como Celebrex, han sido diseñados para evitar esta complicación, todavía hay que tener cuidado cuando estos medicamentos se emplean durante largos períodos de tiempo.

Corticosteroides: Al igual que con los AINEs, los corticosteroides son medicamentos antiinflamatorios potentes, y los más utilizados contra el dolor agudo o en el caso de brotes de un problema inflamatorio crónico. Los corticosteroides se pueden tomar oralmente (tales como Medrol, Prednisona), o se pueden inyectar en los tejidos blandos o las articulaciones (inyecciones de cortisona).

Narcóticos: Los narcóticos se deben considerar si el dolor no se puede controlar de otra manera. Muchos narcóticos pueden ser peligrosos y adictivos. Aunque los medicamentos narcóticos son útiles para el dolor agudo, también tienen efectos secundarios significativos. Los tipos de acción corta de estos medicamentos pueden dar lugar a un uso excesivo y al desarrollo de tolerancia. Las opciones de acción prolongada tienen menos efectos secundarios, y un mejor control del dolor crónico. Los narcóticos pueden volverse adictivos cuando se utilizan durante largos periodos de tiempo sin una reducción gradual de la dosis, o si los medicamentos se toman por razones distintas del dolor.

Anticonvulsivos: Los medicamentos anticonvulsivos son la categoría de medicamentos que actúan para aliviar el dolor nervioso. Estos medicamentos alteran la función del nervio y las señales que envía al cerebro. El medi-

camento anticonvulsivo recetado más comúnmente para el dolor de nervios se llama Neurontin (gabapentina). Otra opción que ha surgido más recientemente, específicamente para el tratamiento de la fibromialgia, se llama Lyrica (pregabalina).

5 Anestésicos locales: Los anestésicos locales pueden proporcionar un alivio temporal del dolor en un área. Cuando se utilizan en el control de un dolor crónico, los anestésicos locales se aplican frecuentemente como un parche tópico en el área del dolor. Lidoderm se entrega desde un parche que se aplica sobre la piel y disminuye la sensibilidad de esa área.

10 Todas las opciones de tratamiento mencionadas anteriormente tienen inconvenientes, efectos secundarios o el uso se limita a ciertos tipos de dolor. Por lo tanto, todavía existe una gran necesidad médica no satisfecha de un tratamiento del dolor.

c-Fms y sus ligandos

15 c-Fms (CSFR1, M-CSFRc-Fms) es el receptor del factor estimulante de colonias 1 (véase más abajo), una citocina que controla la producción, la diferenciación y la función de los macrófagos. c-Fms media en la mayoría, si no todos, los efectos biológicos de M-CSF. La unión del ligando activa CSFR1 a través de un proceso de oligomerización y transfosforilación. La proteína codificada es un receptor transmembranal de tirosina cinasa y un miembro de la familia de receptores CSF1/PDGF de las proteínas tirosina cinasas. El primer intrón del gen CSFR1 contiene un seudogén procesado por la proteína ribosómica L7 transcripcionalmente inactiva, orientado en la dirección opuesta al gen CSFR1.

20 Las mutaciones en CSF1R están asociadas con la leucemia mielomonocítica crónica y la leucemia mieloblástica aguda de tipo M4. Se han encontrado en la microglía niveles elevados de CSF1 R1 en la enfermedad de Alzheimer y después de lesiones cerebrales. El aumento de la expresión del receptor provoca que la microglía se vuelva más activa. Tanto CSF1 R, como su ligando factor estimulante de colonias 1, tienen un papel importante en el desarrollo de la glándula mamaria y pueden estar implicados en el proceso de carcinogénesis de la glándula mamaria.

25 M-CSF (CSF-1) es un factor de crecimiento hematopoyético que está implicado en la proliferación, la diferenciación y la supervivencia de monocitos, macrófagos y células progenitoras de la médula ósea. También se observan niveles elevados de expresión de CSF-1 en el epitelio endometrial del útero gestante, así como niveles elevados de su receptor CSF1 R en el trofoblasto placentario. Los estudios han mostrado que una activación del CSF1 R trofoblástico a través de niveles elevados locales de CSF-1, es esencial para una implantación embrionaria normal y un desarrollo de la placenta. Más recientemente se ha descubierto que CSF-1 y su receptor CSF1 R están implicados en la glándula mamaria durante el desarrollo normal y el crecimiento neoplásico.

30 IL-34 es un ligando alternativo para c-Fms (Lin et al., Science (2008), 320, 807-11). Se ha descrito una función de IL-34 en la osteoclastogénesis (Chen et al., PLoS One (2011) 6, e18689). Se ha mostrado que IL-34 murina compite con M-CSF murino en la unión a c-Fms (Wei et al., J Leukoc Biol (2010) 88, 495-505). Esto es compatible con la observación de que una proliferación inducida por el factor de crecimiento M-CSF o IL-34, está bloqueada por un anticuerpo anti-c-Fms. El anticuerpo utilizado por Wei et al., anticuerpo AFS-98, también se ha utilizado en la presente solicitud.

40 Devalaraja et al. (documento US20020141994A1) mencionan someramente la OA entre una larga lista de indicaciones potencialmente adecuadas, apropiadas para el tratamiento con antagonistas de factores estimulantes de colonias. La lista de indicaciones incluye aterosclerosis, sepsis, asma, enfermedad autoinmune, osteoporosis y artritis reumatoide. M-CSF es uno de los muchos factores estimulantes de colonias mencionados en Devalaraja et al. Sin embargo, no se proporciona ningún soporte experimental y no hay una descripción realizable. Del mismo modo, Patel et al. (Current Topics in Medicinal Chemistry (2009) 9, 599-610) mencionan c-Fms en el contexto de trastornos inflamatorios sin mostrar ningún dato experimental o una descripción realizable. Del mismo modo, el documento WO 06/096461 describe ciertos anticuerpos específicos de M-CSF. Sin embargo, el documento WO 06/096461 describe únicamente el aislamiento, la purificación y la formulación de anticuerpos específicos de M-CSF, pero no da a conocer ningún dato *in vitro* o *in vivo* asociado con los ligandos descritos. Por lo tanto, también el documento WO 06/096461 no es realizable.

M-CSF/CSF1 (UniProt P09603) tiene la siguiente secuencia de aminoácidos:

En otro aspecto, la presente invención contempla un método para la profilaxis de la artrosis en un sujeto, comprendiendo dicho método la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antagonista de c-Fms a dicho sujeto.

En otro aspecto, la presente invención contempla un método para la profilaxis del dolor en un sujeto, comprendiendo dicho método la etapa de administrar una cantidad eficaz de un antagonista de c-Fms a dicho sujeto.

5 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de M-CSF para activar, proliferar, inducir el crecimiento y/o la supervivencia de las células en un sujeto que padece artrosis, o que se sospecha que padece artrosis, comprendiendo dicha composición además uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de IL-34 para activar, proliferar, inducir el crecimiento y/o la supervivencia de las células en un sujeto que padece artrosis, o que se sospecha que padece artrosis, comprendiendo dicha composición además uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

15 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de M-CSF para activar, proliferar, inducir el crecimiento y/o la supervivencia de las células en un sujeto que padece dolor, o que se sospecha que padece dolor, comprendiendo dicha composición además uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de IL-34 para activar, proliferar, inducir el crecimiento y/o la supervivencia de las células en un sujeto que padece dolor, o que se sospecha que padece dolor, comprendiendo dicha composición además uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis, comprendiendo dicha composición además uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

25 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento del dolor, comprendiendo dicha composición además uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

En otros aspectos, la presente invención se refiere al uso de un antagonista de c-Fms en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la artrosis.

30 En otros aspectos, la presente invención se refiere al uso de un antagonista de c-Fms en la preparación de un medicamento para el tratamiento del dolor.

En otros aspectos, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de la artrosis, que comprende administrar a dicho sujeto un antagonista de c-Fms.

En otros aspectos, la presente invención proporciona un método para el tratamiento del dolor, que comprende administrar a dicho sujeto un antagonista de c-Fms.

35 En aspectos particulares de la presente invención, el antagonista de c-Fms es un anticuerpo específico de M-CSF.

En aspectos alternativos de la presente invención, el antagonista de c-Fms es un anticuerpo específico de c-Fms.

En otros aspectos alternativos de la presente invención, el antagonista de c-Fms es un anticuerpo específico de IL-34.

40 En cierto aspecto, la presente invención proporciona un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

En cierto aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de M-CSF para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

45 En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de IL-34 para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

En ciertos aspectos de la presente invención, el antagonista de la presente invención se emplea en un ser humano.

50 A lo largo de esta memoria descriptiva, a menos que el contexto requiera lo contrario, las palabras "comprenden", "tienen" o "incluyen" y sus respectivas variaciones tales como "comprende", "que comprende", "tiene", "que tiene", "incluye" y "que incluye", se entenderá que implican la inclusión de un elemento indicado o un número entero o un grupo de elementos o números enteros, pero no la exclusión de ningún otro elemento o número entero o grupo de

elementos o números enteros.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

5 **La Figura 1** muestra la distribución del peso como una medida del dolor evaluado en ratones con OA inducida con colagenasa. Los resultados se expresan como la media + SEM. Los ratones mostraban un dolor significativo el día 20. Los ratones se trataron 2x/semana a partir del día 20 en adelante. Los dos grupos de tratamiento diferentes son estadísticamente diferentes (prueba t): anti-CSFR1 frente a AcMo de control: $p < 0,05$ los días 28 y 31. Anti-CSFR1 frente a Día 0: $p > 0,01$, día 20; $p < 0,05$, día 24.

10 **La Figura 2** muestra la evaluación histológica de la puntuación de la enfermedad artrosis en ratones con OA inducida con colagenasa. Ratones C57BL/6 ($n = 15$ ratones/grupo) recibieron colagenasa (día 0 y 2); los ratones se trataron con anti-c-Fms o AcMo de control (2x/semana) a partir del día 20 (el primer día en que la lectura del dolor era significativamente diferente a la de $t = 0$). La histología se realizó el día 42. Los resultados se expresan como la media \pm SEM. LT = tibia lateral, LF = fémur lateral, MT = tibia medial, MF = fémur medial. Anti-c-Fms frente a control: MT - $p = 0,01$ (prueba de suma de rangos de Mann-Whitney para dos muestras).

15 **La Figura 3** muestra la distribución del peso como una medida del dolor evaluado en ratones con OA inducida con colagenasa. Los resultados se expresan como la media + SEM. Los ratones mostraban un dolor significativo el día 20. Los ratones se trataron 2x/semana a partir del día 20 en adelante. Los ratones tratados con un anticuerpo anti-M-CSF no mostraron ningún aumento en el grado de dolor en comparación con el anticuerpo de control de isotipo.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

20 La presente invención demuestra que c-Fms, M-CSF e IL-34 son dianas válidas para el tratamiento de la OA y el dolor. M-CSF e IL-34 son ligandos de c-Fms, y antagonizar cualquiera de estas moléculas es eficaz en el tratamiento de la OA y el dolor. A este respecto, la invención proporciona, en un aspecto, métodos de uso de un antagonista de c-Fms para lograr un beneficio profiláctico o terapéutico en el campo de la OA y/o el dolor.

25 La presente invención proporciona métodos terapéuticos que comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de c-Fms a un sujeto que requiere un tratamiento de ese tipo. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz", tal y como se emplea en esta memoria, se refiere a la cantidad de antagonista de c-Fms necesaria para provocar la respuesta biológica deseada. De acuerdo con la presente invención, la cantidad terapéuticamente eficaz es la cantidad de antagonista de c-Fms necesaria para tratar y/o prevenir la artrosis y/o el dolor.

30 En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para el tratamiento del dolor postoperatorio. En otros aspectos, la presente invención proporciona un método para el tratamiento del dolor por cáncer de huesos. En aún otros aspectos, la presente invención proporciona antagonistas de c-Fms que tienen un efecto analgésico. En aún otros aspectos, la presente invención proporciona un método para el tratamiento del dolor por artritis reumatoide. Los antagonistas de c-Fms son capaces de inhibir o bloquear el dolor asociado con la artritis reumatoide. En otros aspectos, la invención proporciona métodos para reducir la incidencia del dolor por artritis reumatoide, mejorar el dolor por artritis reumatoide, suprimir el dolor por artritis reumatoide, paliar el dolor por artritis reumatoide y/o retrasar el comienzo, el desarrollo o la progresión del dolor por artritis reumatoide en un sujeto, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de un antagonista de c-Fms al sujeto. En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para prevenir o tratar el dolor por artrosis en un individuo mediante la administración de una cantidad eficaz de un antagonista de c-Fms al individuo. En otro aspecto, la invención proporciona métodos para el tratamiento de la caquexia inflamatoria (pérdida de peso) asociada con la artritis reumatoide en un individuo que comprende administrar una cantidad eficaz de un antagonista de c-Fms. En otro aspecto, la invención proporciona métodos para reducir la incidencia del dolor por artrosis, mejorar el dolor por artrosis, suprimir el dolor por artrosis, paliar el dolor por artrosis y/o retrasar el comienzo, el desarrollo o la progresión del dolor por artrosis en un individuo, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de un antagonista de c-Fms al individuo.

"Paliar" un dolor o uno o varios síntomas de un dolor (tal como el dolor por artritis reumatoide o el dolor por artrosis) significa disminuir la extensión de una o varias manifestaciones clínicas no deseables del dolor postoperatorio en un individuo o una población de individuos tratados con un antagonista de c-Fms de acuerdo con la invención.

50 En ciertos aspectos, el dolor se alivia al cabo de aproximadamente 24 horas después de la administración del antagonista de M-CSF. En otros aspectos, el dolor se alivia al cabo de aproximadamente 4 días después de administrar el antagonista de c-Fms.

55 "Antagonista de c-Fms", tal y como se emplea en esta memoria, incluye antagonistas de c-Fms en su sentido más amplio; cualquier molécula que inhibe la actividad o la función de c-Fms o de cualquiera de sus ligandos, o que a través de cualquier otra vía, ejerce un efecto terapéutico sobre c-Fms. La expresión antagonista de c-Fms incluye cualquier molécula que interfiere o inhibe la señalización de c-Fms. La expresión antagonistas de c-Fms incluye, pero no se limita a, anticuerpos que se unen específicamente a c-Fms, ácidos nucleicos inhibidores específicos de c-Fms o moléculas orgánicas pequeñas específicas de c-Fms. También dentro del significado de la expresión antago-

nista de c-Fms se encuentran anticuerpos que se unen específicamente a M-CSF, ácidos nucleicos inhibidores específicos de M-CSF o pequeñas moléculas orgánicas específicas de M-CSF. También dentro del significado de la expresión antagonista de c-Fms se encuentran anticuerpos que se unen específicamente a IL-34, ácidos nucleicos inhibidores específicos de IL-34 o pequeñas moléculas orgánicas específicas de IL-34.

- 5 Los ácidos nucleicos inhibidores incluyen, pero no se limitan a, ADN antisentido, oligonucleótidos formadores de triple hélice, secuencias guía externas, siARN y microARN. Los ácidos nucleicos inhibidores útiles incluyen aquellos que reducen la expresión del ARN que codifica c-Fms, M-CSF o IL-34 en al menos 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 95 por ciento, en comparación con los controles. Los ácidos nucleicos inhibidores y sus métodos de producción son bien conocidos en la técnica. Está disponible un programa informático para el diseño de siARN.
- 10 Las moléculas orgánicas pequeñas (SMOLs) específicas de M-CSF, IL-34 o el receptor de M-CSF se pueden identificar a través del escrutinio de productos naturales o el escrutinio de bancos químicos. Generalmente, el peso molecular de las SMOLs es inferior a 500 Dalton, más generalmente es de 160 a 480 Dalton. Otras propiedades típicas de las SMOLs son una o varias de las siguientes:
- El log del coeficiente de reparto P está en el intervalo de -0,4 a +5,6
- 15
- La refractividad molar es de 40 a 130
 - El número de átomos es de 20 a 70

Para revisiones, véanse Ghose et al., J Combin Chem: 1:55-68, 1999 y Lipinski et al., Adv Drug Del Rev 23:3-25, 1997.

20 Preferiblemente, un antagonista de c-Fms para uso en la presente invención es un anticuerpo específico de M-CSF, específico de IL-34 o específico del receptor de M-CSF. Tal anticuerpo puede ser de cualquier tipo, tal como un anticuerpo murino, de rata, quimérico, humanizado o humano. Un anticuerpo "humano" o un fragmento de anticuerpo humano funcional se define en esta memoria como uno que no es quimérico (por ejemplo, no "humanizado") y que no procede de una especie no humana (ya sea en su totalidad o en parte). Un anticuerpo humano o un fragmento de anticuerpo funcional se puede obtener a partir de un ser humano o puede ser un anticuerpo humano sintético.

25 Un "anticuerpo humano sintético" se define en esta memoria como un anticuerpo que tiene una secuencia que procede, en su totalidad o en parte, *in silico* a partir de secuencias sintéticas que se basan en el análisis de secuencias de anticuerpos humanos conocidos. Un diseño *in silico* de una secuencia de anticuerpo humano o un fragmento del mismo se puede lograr, por ejemplo, mediante el análisis de una base de datos de secuencias de anticuerpos humanos o de fragmentos de anticuerpos y diseñando una secuencia de polipéptidos utilizando los datos obtenidos de los mismos. Otro ejemplo de un anticuerpo humano o un fragmento de anticuerpo funcional es uno que está codificado por un ácido nucleico aislado a partir de un banco de secuencias de anticuerpos de origen humano (es decir, un banco de este tipo se basa en anticuerpos procedentes de una fuente natural humana). En ciertos aspectos, los anticuerpos utilizados en la presente invención son anticuerpos humanos.

35 Un "anticuerpo humanizado" o un fragmento de anticuerpo humanizado funcional se define en este documento como uno que (i) se obtiene a partir de una fuente no humana (p. ej., un ratón transgénico que es portador de un sistema inmune heterólogo), en donde el anticuerpo se basa en una secuencia de la línea germinal humana; o (ii) es quimérico, en donde el dominio variable se obtiene a partir de un origen no humano y el dominio constante se obtiene a partir de un origen humano o (iii) tiene CDRs injertadas, en donde las CDRs del dominio variable tienen un origen no humano, mientras que una o varias regiones estructurales del dominio variable tienen un origen humano, y el dominio constante (si lo hay) tiene un origen humano. En ciertos aspectos, los anticuerpos utilizados en la presente invención son anticuerpos humanizados.

45 La expresión "anticuerpo quimérico" o fragmento de anticuerpo quimérico funcional se define en esta memoria como una molécula de anticuerpo que tiene regiones constantes de anticuerpo obtenidas a partir de, o que se corresponden con, secuencias que se encuentran en una especie, y regiones variables de anticuerpo obtenidas a partir de otras especies. Preferiblemente, las regiones constantes de anticuerpo se obtienen a partir de, o se corresponden con, secuencias que se encuentran en los seres humanos, por ejemplo, en las células humanas de la línea germinal o somáticas, y las regiones variables de anticuerpo (por ejemplo, regiones VH, VL, CDR o FR) se obtienen a partir de secuencias encontradas en un animal no humano, por ejemplo, un ratón, una rata, un conejo o un hámster. En ciertos aspectos, los anticuerpos utilizados en la presente invención son anticuerpos quiméricos.

50 El término "monoclonal" se debe entender como que tiene el significado asignado normalmente en la técnica, es decir, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo procedente de un solo clon de una célula productora de anticuerpos, tal como un linfocito B, y que reconoce un único epítipo sobre el antígeno unido. En ciertos aspectos, los anticuerpos utilizados en la presente invención son anticuerpos monoclonales.

55 Tal como se usa en el presente documento, un anticuerpo "se une específicamente a", "específicamente se une a", es "específico de/para" o "reconoce específicamente" un antígeno (en este caso, el receptor de M-CSF o, alternativamente, M-CSF o IL-34), si tal anticuerpo es capaz de distinguir entre tal antígeno y uno o varios antígenos de

referencia, ya que la especificidad de la unión no es una propiedad absoluta, sino relativa. El o los antígenos de referencia pueden ser uno o varios antígenos relacionados estrechamente, que se utilizan como puntos de referencia, por ejemplo, IL3, IL-5, IL-4, IL-13 o GM-CSF. En su forma más general (y cuando no se menciona una referencia definida), "unión específica" se refiere a la capacidad del anticuerpo para distinguir entre el antígeno de interés y un antígeno no relacionado, tal y como se determina, por ejemplo, de acuerdo con uno de los métodos siguientes. Tales métodos comprenden, pero no se limitan a, transferencias de tipo Western, pruebas de ELISA, RIA, ECL, IRMA y detección de péptidos. Por ejemplo, se puede llevar a cabo un ensayo ELISA convencional. La puntuación se puede realizar por el desarrollo de un color convencional (p. ej., un anticuerpo secundario con peróxido de rábano picante y tetrametil bencidina con peróxido de hidrógeno). La reacción en algunos pocillos se puntúa por la densidad óptica, por ejemplo, a 450 nm. El fondo típico (= reacción negativa) puede ser 0,1 DO; una reacción positiva típica puede ser 1 DO. Esto significa que la diferencia positiva/negativa puede ser superior a 10 veces. Por lo general, la determinación de la especificidad de la unión no se lleva a cabo mediante el uso de un solo antígeno de referencia, sino un conjunto de aproximadamente tres a cinco antígenos no relacionados, tales como leche en polvo, BSA, transferrina o similares. Además, una "unión específica" se puede referir a la capacidad de un anticuerpo para distinguir entre diferentes partes de su antígeno diana, por ejemplo, diferentes dominios o regiones de M-CSF, IL-34 o el receptor de M-CSF, o entre uno o varios residuos de aminoácidos clave o tramos de residuos de aminoácidos clave de M-CSF, IL-34 o el receptor de M-CSF.

Además, tal y como se emplea en esta memoria, una "inmunoglobulina" (Ig) en el presente documento se define como una proteína que pertenece a la clase IgG, IgM, IgE, IgA o IgD (o cualquier subclase de las mismas), e incluye todos los anticuerpos conocidos convencionalmente y fragmentos funcionales de los mismos. Un "fragmento funcional" de un anticuerpo/inmunoglobulina en la presente memoria se define como un fragmento de un anticuerpo/inmunoglobulina (por ejemplo, una región variable de una IgG) que conserva la región que se une al antígeno. Una "región que se une a antígeno" de un anticuerpo, normalmente se encuentra en una o varias regiones hipervariables de un anticuerpo, es decir, las regiones CDR-1, CDR-2 y/o CDR-3; sin embargo, las regiones variables "estructurales" también pueden desempeñar un papel importante en la unión al antígeno, tal como proporcionar una estructura para las CDRs. Preferiblemente, la "región que se une a antígeno" comprende al menos los residuos de aminoácidos 4 a 103 de la cadena ligera variable (VL) y 5 a 109 de la cadena pesada variable (VH), más preferiblemente los residuos de aminoácidos 3 a 107 de VL y 4 a 111 de VH, y particularmente preferidas son las cadenas completas VL y VH (posiciones de los aminoácidos 1 a 109 de VL y 1 a 113 de VH; numeración de acuerdo con el documento WO 97/08320). Una clase preferida de inmunoglobulinas para uso en la presente invención es IgG. Los "fragmentos funcionales" de la invención incluyen el dominio de un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fab, scFv o estructuras artificiales que comprenden los dominios variables únicos de inmunoglobulinas o polipéptidos de anticuerpos de dominio único, por ejemplo, los dominios variables de cadena pesada únicos o los dominios variables de cadena ligera únicos. El F(ab')₂ o Fab se pueden diseñar genéticamente para reducir al mínimo o eliminar las interacciones intermoleculares de disulfuro que se producen entre el los dominios C_H y C_L.

Un anticuerpo de la invención se puede obtener a partir de un banco de anticuerpos recombinantes que se basa en secuencias de aminoácidos que han sido diseñadas *in silico* y están codificadas por ácidos nucleicos que se crean sintéticamente. Un diseño *in silico* de una secuencia de anticuerpo se consigue, por ejemplo, mediante el análisis de una base de datos de secuencias humanas y el diseño de una secuencia de polipéptidos utilizando los datos obtenidos a partir de los mismos. Los métodos para el diseño y la obtención de secuencias creadas *in silico* se describen, por ejemplo, en Knappik et al., J. Mol. Biol. 296: 57, 2000; Krebs et al., J. Immunol. Methods. 254:67, 2001; Rothe et al., J. Mol. Biol. 376:1182, 2008 y el documento de Patente de Estados Unidos nº 6.300.064 concedida a Knappik et al. 2000 *supra*, que en la presente se incorporan como referencia en su totalidad.

Cualquier anticuerpo específico de M-CSF se puede usar con la presente invención. Anticuerpos a modo de ejemplo incluyen los descritos en los documentos WO 90/009400, WO99/017798, WO 01/30381, WO 05/030124, US 20020141994, WO 06/096461, WO 06/096490, WO 06/096489, WO 04/045532, WO 07/059135, WO 05/046657, WO 05/068503, WO 07/016240, WO 07/016285 y WO 07/081879, todos los cuales se incorporan en la presente como referencia.

Del mismo modo, cualquier anticuerpo específico del receptor de M-CSF se puede emplear en la presente invención.

Del mismo modo, cualquier anticuerpo específico de IL-34 se puede emplear en la presente invención.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento de la artrosis en un sujeto, comprendiendo dicho método la etapa de administrar un antagonista de c-Fms a dicho sujeto. En otros aspectos, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento del dolor en un sujeto, comprendiendo dicho método la etapa de administrar un antagonista de c-Fms a dicho sujeto. "Sujeto", tal y como se emplea en este contexto, se refiere a cualquier mamífero, incluyendo roedores, tales como ratones o ratas, y primates, como el macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*), mono Rhesus (*Macaca mulatta*) o seres humanos (*Homo sapiens*). Preferiblemente, el sujeto es un primate, más preferiblemente un ser humano.

En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de M-CSF para la activación, proliferación, inducción del crecimiento y/o supervivencia de las células en un sujeto que padece artrosis, o que se sospecha que padece artrosis, comprendiendo

además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos anti-M-CSF de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de las funciones de M-CSF en la artrosis.

5 En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de IL-34 para la activación, proliferación, inducción del crecimiento y/o supervivencia de las células en un sujeto que padece artrosis, o que se sospecha que padece artrosis, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos anti-IL-34 de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de las funciones de IL-34 en la artrosis.

10 En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de c-Fms para la activación, proliferación, inducción del crecimiento y/o supervivencia de las células en un sujeto que padece artrosis, o que se sospecha que padece artrosis, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos anti-c-Fms de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de las funciones de c-Fms en la artrosis.

15 En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de M-CSF para la activación, proliferación, inducción del crecimiento y/o supervivencia de las células en un sujeto que padece dolor, o que se sospecha que padece dolor, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos anti-M-CSF de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de las funciones de M-CSF en el dolor.

20 En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de IL-34 para la activación, proliferación, inducción del crecimiento y/o supervivencia de las células en un sujeto que padece dolor, o que se sospecha que padece dolor, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos anti-IL-34 de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de las funciones de IL-34 en el dolor.

25 En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms capaz de antagonizar la capacidad de c-Fms para la activación, proliferación, inducción del crecimiento y/o supervivencia de las células en un sujeto que padece dolor, o que se sospecha que padece dolor, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los anticuerpos anti-c-Fms de la presente invención pueden antagonizar cualquiera de las funciones de c-Fms en el dolor.

30 En cierto aspecto, la presente invención proporciona un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis. En otro aspecto, la presente invención proporciona un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento del dolor. En un aspecto particular, la presente invención proporciona un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

35 En cierto aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de M-CSF para uso en el tratamiento de la artrosis. En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de M-CSF para uso en el tratamiento del dolor. En un aspecto particular, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de M-CSF para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

En cierto aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis. En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de c-Fms para uso en el tratamiento del dolor. En un aspecto particular, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

40 En cierto aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de IL-34 para uso en el tratamiento de la artrosis. En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de IL-34 para uso en el tratamiento del dolor. En un aspecto particular, la presente invención proporciona un anticuerpo específico de IL-34 para uso en el tratamiento de la artrosis o del dolor.

45 En ciertos aspectos, los antagonistas y los anticuerpos de la presente invención se emplean en el tratamiento del dolor postoperatorio. En aspectos alternativos, dichos antagonistas y anticuerpos se utilizan en el tratamiento del dolor por cáncer de huesos. En aspectos alternativos, dichos antagonistas y anticuerpos se utilizan en el tratamiento del dolor artrítico reumatoide. En aspectos alternativos, dichos antagonistas y anticuerpos se utilizan en el tratamiento del dolor artrósico. En aspectos alternativos, dichos antagonistas y anticuerpos se usan en el tratamiento del dolor inflamatorio.

50 En ciertos aspectos los antagonistas y anticuerpos de la presente invención se usan en el tratamiento de seres humanos.

55 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para la profilaxis de la artrosis en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración de un antagonista de c-Fms a dicho sujeto. En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para la profilaxis del dolor en un sujeto, comprendiendo dicho método la administración de un antagonista de c-Fms a dicho sujeto. "Profilaxis", tal y como se usa en este contexto, se refiere a métodos que tienen por objeto prevenir el inicio de una enfermedad o retrasar el inicio de una enfermedad.

En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

5 En cierto aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento del dolor, comprendiendo además dicha composición uno o varios vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

En otros aspectos, la presente invención proporciona el uso de un antagonista de c-Fms en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la artrosis.

10 En otros aspectos, la presente invención proporciona el uso de un antagonista de c-Fms en la preparación de un medicamento para el tratamiento del dolor.

En otros aspectos, la presente invención proporciona antagonistas de c-Fms para el tratamiento de la artrosis.

En otros aspectos, la presente invención proporciona antagonistas de c-Fms para el tratamiento del dolor.

15 Las composiciones de la presente invención son preferiblemente composiciones farmacéuticas que comprenden un antagonista de c-Fms y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de la artrosis y/o el dolor. Tales vehículos, diluyentes y excipientes son bien conocidos en la técnica, y el experto en la materia podrá encontrar una formulación y una vía de administración las más adecuadas para tratar a un sujeto con los antagonistas de c-Fms de la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1:

20 ***Eficacia terapéutica de antagonistas de c-Fms en el tratamiento de la OA y el dolor***

En este experimento se utilizó un anticuerpo monoclonal específico de c-Fms para demostrar que un antagonista de M-CSF puede ser eficaz para tratar la artrosis. El mismo experimento también demuestra la utilidad de los antagonistas de c-Fms para tratar el dolor.

Modelo de OA inducida con colágeno en ratón:

25 El modelo de OA inducida con colagenasa (Blom et al. (2004) Osteoarthritis Cartilage.12; 627-35; Blom et al. (2007) Arthritis Rheum 56; 147-57) es un modelo basado en una inducción de inestabilidad en una articulación mediante una inyección unilateral intraarticular de colagenasa. Esto causa un debilitamiento de los ligamentos que normalmente ayudan a estabilizar la articulación, lo que conduce posteriormente a una patología de OA, 6 semanas después de la inducción. No se observa una lesión directa del cartílago a través de la colagenasa inyectada en este modelo. Las características de la patología de la OA incluyen una destrucción del cartílago, fibrosis sinovial y formación de osteofitos. Hay una activación de la membrana sinovial con macrófagos sinoviales que median en la formación de osteofitos. Durante la fase inicial de desarrollo de la OA (días 0-14), la formación de osteofitos y la fibrosis son evidentes. Las posiciones en la articulación en donde se produce primero la nueva formación de hueso (en el periostio cerca de la superficie del cartílago y en sitios de uniones entre hueso-ligamento) son similares a las observadas en la OA humana. El proceso de nueva formación de hueso es también similar, con activación del periostio, seguida por una generación de tejido similar al cartílago y osificación endocondrial posterior. Durante las 2 primeras semanas de la enfermedad, la patología sinovial también es evidente, con una afluencia de macrófagos que conducen a un engrosamiento de la membrana sinovial, y algunas células inflamatorias en la capa sinovial profunda. La patología completa de la OA que incluye una erosión de la matriz del cartílago, no se observa hasta 6 semanas después de la inducción de OA.

Esquema de los experimentos:

Los ratones C57BL/6 recibieron 1 unidad de colagenasa de tipo VII por vía intraarticular en la rodilla derecha, los días 0 y 2 para inducir una inestabilidad de la articulación (véase Blom et al. (2004) Osteoarthritis Cartilage.12; 627-35).

45 El dolor se empleó como un indicador en los modelos de OA. La distribución diferencial del peso corporal como una medida del dolor se registró utilizando un medidor de incapacidad. Este mide los cambios en la distribución del peso entre la extremidad posterior operada contralateral y la no operada. Se permitió en tres ocasiones que los ratones se aclimataran a los equipos, antes del experimento. El peso colocado en cada una de las extremidades posteriores se medía durante un período de 5 segundos. Se realizaron tres mediciones distintas para cada ratón para cada punto de tiempo.

50 Una vez que la lectura promedio del dolor era significativamente menor que el día 0 (es decir, antes de la inducción de la OA), los ratones se dividieron aleatoriamente en 2 grupos (15 ratones/grupo), de manera que la lectura media del dolor \pm SEM era similar para cada grupo y cada jaula que contenía ratones de cada grupo de tratamiento (es

decir, 6 ratones/jaula, 2 ratones en cada grupo de tratamiento). Esto era para evitar que todos los ratones de un mismo grupo de tratamiento fueran de la misma jaula, lo que podría afectar a los resultados.

Tratamiento con anticuerpo anti-c-Fms:

Los 30 ratones se dividieron al azar en 2 grupos (15 ratones/grupo):

- 5 Grupo 1 (n = 15): anticuerpo anti-c-Fms
- Grupo 2 (n = 15): anticuerpo de control de isotipo IgG2a.

10 El anticuerpo ASF98 (isotipo IgG2a) se utilizó como un anticuerpo ejemplar anti-c-Fms (obtenido del Prof. S. Nishikawa, Universidad de Kioto; Oncogene (1995) 11, 2469-76; ASF98 también está disponible en eBioscience, San Diego, CA, EE.UU., nº de cat. 14-1152-81). ASF98 es un anticuerpo de rata reactivo con c-Fms de ratón. Se ha descrito que ASF98 neutraliza la señalización de M-CSF (Sudo et al., Oncogene (1995) 11, 2469-76).

Los ratones se trataron por vía intraperitoneal, dos veces por semana después de la aparición de dolor el día 20, con 300 µg de anticuerpo anti-c-Fms/ratón/tratamiento, hasta el final de los experimentos después de 6 semanas. Ambos, el anticuerpo de control y el anticuerpo anti-c-Fms se purificaron para contener menos de 10 unidades de endotoxina/ml.

15 **Resultados**

La lectura media del dolor el día 20 después de la inducción de OA era significativamente superior (es decir, un desplazamiento significativo del peso, alejándolo de la rodilla artrítica) al día 0 ($p < 0,0001$ para todos los ratones). Los ratones se dividieron en 2 grupos de tratamiento el día 20 y se trataron 2x/semana con el AcMo apropiado hasta el día 42.

20 Después del inicio del tratamiento con AcMo (día 20), los ratones tratados con el AcMo de control continuaron mostrando un dolor significativo en comparación con el día 0, hasta el final del experimento. Después del tratamiento con anti-CSF1 R, las lecturas del dolor no continuaron aumentando (es decir, no había un aumento del desplazamiento del peso, de la rodilla artrítica) de tal manera que los días 28 y 31 había una diferencia significativa entre el grupo tratado con AcMo anti-CSF1 R y el grupo tratado con AcMo de control ($p \leq 0,05$).

25 Los resultados se muestran en la Figura 1. Los ratones tratados con un antagonista de c-Fms mostraban menos enfermedad, como se determinó por la incapacitación, en comparación con los ratones tratados con el anticuerpo de control. Esto demuestra que los antagonistas de c-Fms son eficaces en el tratamiento de la OA y el dolor.

Ejemplo 2:

Observaciones histológicas

30 Las muestras del Ejemplo 1 también se examinaron histológicamente.

35 Seis semanas después de las inyecciones finales, se realizó una histología de las articulaciones de la rodilla de los ratones. Se extirparon las articulaciones de la rodilla, se fijaron, se descalcificaron, se incluyeron en parafina y se cortaron en cortes de 7 µm con un microtomo. Los cortes se tiñeron con safranina-O/Fast Green y hematoxilina y eosina para demostrar una patología de la articulación. Las patologías investigadas incluyen: lesión del cartílago, sinovitis, formación de osteofitos y deformación articular.

El sistema de puntuación usado para la patología del cartílago es el siguiente:

Grado

- 0 Normal
- 1 Irregular, pero intacto
- 1,5 Irregular con superficie rugosa
- 2 Fibrilación superficial
- 2,5 Fibrilación superficial con pocas células en la capa de cartílago
- 3 Fisuras verticales
- 3,5 Fisuras ramificadas y/o horizontales, rupturas del frente de mineralización
- 4 Pérdida de cartílago que no se extiende hasta el frente de mineralización
- 4,5 Pérdida de cartílago que se extiende hasta el frente de mineralización
- 5 Pérdida de cartílago más allá del frente de mineralización, pero que no se extiende hasta el hueso

- 5,5 Pérdida de cartílago que se extiende hasta el hueso
- 6 Pérdida de hueso/remodelación/deformación

Estadio

- 1 <10% de área dañada
- 2 10-25% de área dañada
- 3 25-50% de área dañada
- 4 50-75% de área dañada

El grado se multiplica por el estadio para proporcionar la puntuación.

- 5 Este sistema de puntuación se basa en un método reconocido para evaluar la histopatología de la OA en la OA clínica y experimental. Véase Pritzker et al. (2006) Osteoarthritis Cartilage; 14; 13-29. El grado se define como la progresión en profundidad de la OA en el cartílago. El estadio se define como el desarrollo horizontal de la OA dentro del cartílago, es decir, qué cantidad de cartílago está afectada. El grado se multiplica por el estadio para proporcionar la puntuación para obtener una puntuación total, de modo que represente una evaluación combinada de la gravedad y la extensión de la OA. En cada ratón se puntuaron hasta seis secciones.

El grado se multiplica por el estadio para proporcionar la puntuación.

El siguiente sistema de puntuación se utiliza para la sinovitis (sistema de puntuación de la capa sinovial):

- 0 Sin cambios en comparación con las articulaciones normales
- 1 Engrosamiento de la membrana sinovial y cierta afluencia de células inflamatorias
- 2 Engrosamiento de la membrana sinovial y afluencia intermedia de células inflamatorias
- 3 Engrosamiento profundo de la membrana sinovial y afluencia máxima observada de células inflamatorias

Resultados:

- 15 Para determinar si el tratamiento terapéutico con anticuerpos anti-c-Fms tenía algún efecto sobre el desarrollo de la artritis, se realizó una histología en las articulaciones de la rodilla el día 42 (véase la Figura 2). Los ratones tratados con anticuerpo anti-c-Fms tenían una enfermedad significativamente más suave en la tibia medial ($p \leq 0,01$), en comparación con los ratones de control tratados con AcMo. En general, se observó una enfermedad menos grave para todas las áreas de articulaciones analizadas histológicamente en los ratones tratados con el anticuerpo anti-c-Fms,
- 20 en comparación con el anticuerpo de control de isotipo (Figura 2).

Ejemplo 3:

Los antagonistas de c-Fms son eficaces en el tratamiento del dolor postoperatorio

Se emplea un modelo de dolor que imita el dolor postoperatorio para evaluar la eficacia del tratamiento con antagonistas de c-Fms.

Animales:

Ratas macho Sprague Dawley que pesan entre 220-240 gramos se aclimatan en las instalaciones para animales durante una semana antes de la cirugía.

Cirugía:

- 30 La cirugía se basa en el procedimiento descrito en Brennan et al., Pain 64:493-501, 1996. Los animales se anestesian con 2% de isoflurano en una mezcla de aire que se mantiene durante la operación a través de un cono nasal. La superficie plantar de la pata trasera derecha se prepara con una almohadilla de povidona-yodo, y se realiza una incisión longitudinal central de 1 cm a través de la piel y la fascia, comenzando a 0,5 cm del borde del talón y extendiendo hacia los dedos de los pies. Las mediciones se realizan con una regla, sosteniendo la pata en una posición flexionada. El músculo plantar se eleva utilizando unas pinzas curvas y se hace una incisión longitudinal. Se realiza
- 35 una incisión en el músculo a través de toda su profundidad, entre el origen y la inserción. La hemorragia se controla durante toda la operación, aplicando presión a través de una almohadilla de gasa. La herida se cierra con dos suturas de colchonero (monofilamento negro 5-0 ethilon). Estas suturas se anudan 5-6 veces, sujetando el primer nudo de forma holgada. El sitio de la herida se limpia con una solución de bacitracina. Se permite que los animales se

recuperen y descansen en jaulas limpias durante dos horas o más antes de comenzar con las pruebas de comportamiento.

Evaluación del dolor en reposo:

5 Se emplea una puntuación acumulativa del dolor para evaluar el dolor relacionado con la carga del peso. Los animales se colocan sobre una malla de plástico (rejilla: 8 mm²) en jaulas de plástico transparente que están elevadas sobre una plataforma (h: 46 cm) lo que permite una inspección de la parte inferior de sus patas. Después de un periodo de aclimatación de 20 minutos, se evalúa la carga del peso sobre una escala de 0 a 2. Se da una puntuación de 0 si la pata ha palidecido o está presionada contra la malla, lo que indica una carga completa del peso. Se da una puntuación de 1 si la pata está tratada con cuidado, en donde la piel solo roza la malla sin que la piel esté pálida o deje huella. Se da una puntuación de 2 si la pata se mantiene completamente apartada de la malla. Encoger la pata se considera un 2 si la rata aún está en reposo. Cada animal se observa durante 1 minuto cada 5 minutos. La suma de 6 puntuaciones (0-12) obtenidas durante media hora se utiliza para evaluar el dolor en la pata con incisión. La frecuencia de puntuaciones de 2 también se calcula y se utiliza para evaluar la incidencia de dolor grave o que el animal protege totalmente la pata. Cada animal se somete a ensayo 24 horas antes de la cirugía (valor de referencia), y 2 h, 24 h, 48 h y 72 h después de la operación. Los resultados de este experimento muestran que la puntuación acumulativa de dolor en reposo, observada en los animales tratados con antagonistas de c-Fms, se reduce significativamente en comparación con los animales de control. La carga del peso es una buena correlación de la disposición del animal para usar la extremidad y, por lo tanto, es una medida eficaz del alivio del dolor. Preferiblemente, el antagonista de c-Fms es un anticuerpo específico de c-Fms, específico de IL-34 o específico de M-CSF. 10 Tales anticuerpos se inyectan intraperitonealmente (i.p.) con diversas concentraciones del anticuerpo (por ejemplo, 0,004, 0,01, 0,02, 0,1, 0,6, y 1 mg por kilogramo de peso del animal), 15 horas antes de la incisión. El grupo de control negativo no recibe ningún anticuerpo, pero recibe una inyección i.p. de solución salina. El fentanilo se inyecta a 0,01 mg/kg i.p. como control positivo, 30 minutos antes de la prueba, 24 horas después de la cirugía. Cada experimento implica 8 animales (n = 8 por grupo) para cada condición, y el grupo de control tiene 56 animales. La cirugía se realiza y se mide la puntuación acumulativa del dolor como se ha descrito anteriormente. El dolor en reposo se evalúa veinticuatro horas después de la cirugía. 15

Los antagonistas de c-Fms reducen significativamente el dolor en reposo después de la cirugía, cuando se administran con una dosificación de 0,02 mg/kg a 1 mg/kg.

En otro experimento, se analiza la eficacia de los antagonistas de c-Fms para reducir el dolor postoperatorio cuando se administran después de una cirugía. Anticuerpos específicos de M-CSF, de IL-34 o de c-Fms se inyectan por vía intravenosa (i.v.) dos horas después de la cirugía. El grupo de control no recibe ningún anticuerpo pero recibe una inyección de solución salina por vía i.v. La cirugía se realiza y el dolor en reposo expresado como una puntuación acumulativa del dolor se evalúa 24 horas después de la cirugía. El tratamiento con un antagonista de c-Fms reduce significativamente el dolor en reposo, veinticuatro horas después de la incisión, cuando el anticuerpo se administra 2 horas después de la incisión. Estos resultados muestran que un antagonista de c-Fms alivia eficazmente el dolor postoperatorio cuando se administra después de la cirugía. 20 25 30 35

Evaluación de la hiperalgesia térmica:

La hiperalgesia térmica se evalúa mediante la prueba plantar en ratas (Ugo Basile, Italia) siguiendo un método modificado de Hargreaves *et al.* (1988). Las ratas se habitúan al aparato que consiste en cuatro cajas individuales de plexiglás sobre una mesa de vidrio elevada. Una fuente de calor radiante móvil se encuentra debajo de la mesa y se dirige hacia la pata trasera. Mientras que el animal está quieto, pero no dormido, el botón de la caja de control está presionado, la fuente de calor radiante se enciende y se registra automáticamente el tiempo que tarda el animal en retirarse de la fuente de calor. Esta latencia de retirada de la pata (POOL) es detectada por un detector de luz, integrado en la fuente de calor radiante que percibe el movimiento de la pata de la rata por un cambio en la reflectancia de la fuente radiante. Las latencias de retirada de la pata (PWL), en segundos, se registran: Hay un punto de corte automático de 22,5 s para evitar daños en los tejidos. Las PWL se toman de tres a cuatro veces en ambas patas traseras de cada animal, cuya media representa valores de referencia para las patas traseras derecha e izquierda. Los resultados se presentan como la relación entre la puntuación medida en la pata derecha (sitio de la cirugía) y la pata izquierda. El aparato se calibra una vez (al comienzo del estudio) y se pone a una intensidad de 40 para proporcionar una PWL normal de aproximadamente 6 segundos. Cada animal se somete a ensayo 24 horas antes de la cirugía (valor de referencia) y 3 h, 24 h, 48 h y 72 h después de la operación. Las mediciones de la hiperalgesia térmica se toman después de las mediciones de la alodinia táctil. Los resultados demostraron que el tratamiento con antagonistas de c-Fms reducía significativamente la hiperalgesia térmica postoperatoria. 40 45 50

Ejemplo 4:

55 Los antagonistas de c-Fms son eficaces en el tratamiento del dolor por cáncer de huesos

Los antagonistas de c-Fms, tales como anticuerpos específicos de M-CSF, anticuerpos específicos de IL-34 o anticuerpos específicos de c-Fms son eficaces en el tratamiento del dolor por cáncer asociado con una metástasis ósea.

Se utilizó un modelo murino del dolor por cáncer de huesos para evaluar la eficacia del tratamiento con antagonistas

de c-Fms. Este modelo murino del dolor por cáncer de huesos se desarrolla mediante una inyección intramedular de células de sarcoma osteolítico en el fémur de un ratón y el orificio de la aguja se rellena después con amalgama dental para confinar el tumor en el hueso (véase Schwei et al., J: Neuroscience 19:10886-10897, 1999 y Luger et al., Pain 99:397-406, 2002). Los experimentos se realizan en ratones adultos machos C3H/HeJ. El día 0, se realiza una artrotomía después de la inducción de una anestesia general con pentobarbital sódico (50 mg/kg, intraperitoneal (i.p.)). Una aguja se inserta en el canal medular para crear una vía para las células de sarcoma. A continuación, se forma una depresión utilizando una pieza de mano dental neumática de alta velocidad. Además de los animales no tratados (n = 5), se generan animales simulados (n = 5) con una inyección de medio esencial mínimo (20 µl, Sigma, St. Louis, MO) en el espacio intramedular del fémur (designados simulados) mientras que a los animales con sarcoma (n = 5 para cada condición sometida a ensayo) se inyectan medios que contienen 105 2472 células de sarcoma osteolítico (designados sarcoma o sarc) (20 µl, ATCC, Rockville, MD). Para todos los animales, el sitio de la inyección se sella con un tapón de amalgama dental para confinar las células o los medios inyectados dentro del canal intramedular y a continuación se realiza una irrigación con agua estéril (solución hipotónica). Finalmente, el cierre de la incisión se logra con grapas para heridas. Las grapas se eliminan el día 5 con el fin de no interferir con las pruebas de comportamiento. Un segundo grupo de animales inyectados con sarcoma se trata con anticuerpos específicos de M-CSF, específicos de IL-34 o específicos de c-Fms (p. ej., 10 mg/kg, i.p.) los días 6 y 13.

Análisis del comportamiento:

Los animales se someten a un ensayo de comportamientos relacionados con el dolor, el día 10 y el día 14 después del implante tumoral. Los animales se someten a un ensayo de comportamiento utilizando las siguientes pruebas: dolor constante (postura protectora y encogimiento espontáneos), dolor al deambular (uso de las extremidades y rodillo giratorio) y dolor provocado por movimiento (postura protectora provocada por palpación y encogimiento provocado por palpación).

Los animales se colocan en una caja de observación de plástico transparente con una superficie inferior de malla de alambre y se permite que se habitúen durante un período de 30 min. Después de la aclimatación, se determina el uso de las extremidades mediante una postura protectora espontánea, encogimiento espontáneo, durante la deambulación normal en un campo abierto, y una postura protectora durante la deambulación forzada. Una postura protectora y encogimiento inducidos por palpación se miden después del período de 2 min de palpación normalmente no nociva del fémur distal en animales inyectados con sarcoma y simulados.

El número de encogimientos espontáneos y el tiempo de permanencia en una postura protectora, representativos de un comportamiento nociceptivo, se registran simultáneamente durante un periodo de observación de 2 min. La postura protectora se define como el tiempo en el que la pata trasera se sostiene en el aire durante la deambulación y los encogimientos son el número de veces que el animal sostiene la extremidad en el aire. El uso normal de la extremidad durante la deambulación espontánea se puntúa en una escala de 5 a 0: (5) uso normal y (0) falta total de uso de la extremidad.

Una postura protectora forzada ambulatoria se determina usando un rodillo giratorio (Columbus Instruments, Columbus, OH). El aparato giratorio tiene una varilla giratoria y está equipado con controles de la velocidad, la aceleración y la sensibilidad. Los animales se colocan en la varilla con una velocidad de X4, aceleración de 8,0 y sensibilidad de 2,5. La postura protectora forzada ambulatoria se evalúa sobre una escala de 5-0: (5) uso normal y (0) falta total de uso. Después de una palpación normalmente no nociva del fémur distal de los animales cada segundo durante 2 min, los animales se colocan en la caja de observación y se mide su postura protectora inducida por palpación y el encogimiento inducido por palpación durante 2 minutos adicionales.

Tratamiento con antagonistas de c-Fms:

El día 6 y el día 13, a los animales que reciben una inyección de sarcoma, reciben una inyección por vía intraperitoneal (i.p.) de antagonistas de M-CSF, tales como un anticuerpo del receptor anti-M-CSF, anti-IL-34 o anti-c-Fms (n = 5), o a los animales que reciben una inyección de sarcoma y simulados (i.p.), reciben una inyección de solución salina (n = 5 para cada condición). A todos los animales se les realiza un análisis del comportamiento los días 10 y 14.

Evaluación de los comportamientos de dolor constante:

Los animales que han recibido una inyección de sarcoma (administrado con solución salina) desarrollan comportamientos de dolor constante estadísticamente significativos, tal como se evaluó mediante una postura protectora espontánea y encogimiento espontáneo, en comparación con los animales que han recibido una inyección simulada (administrada con solución salina).

La administración de antagonistas de c-Fms reduce significativamente la postura protectora espontánea y el encogimiento espontáneo en ratones que han recibido una inyección de sarcoma el día 10 y el día 14 después de la implantación del sarcoma, en comparación con la administración de solución salina a ratones que han recibido una inyección de sarcoma. Estos resultados indican que los antagonistas de M-CSF reducen el dolor constante en ratones que han recibido una inyección de sarcoma.

Evaluación de los comportamientos de dolor al deambular:

Los animales que han recibido una inyección de sarcoma (administrada con solución salina) desarrollan conductas de dolor al deambular, tal y como se determinan mediante el uso de las extremidades y una postura protectora forzada al deambular (rodillo giratorio), en comparación con los animales que han recibido una inyección simulada (administrada con solución salina). La administración de antagonistas de c-Fms aumenta significativamente la puntuación del uso de la extremidad y la puntuación de postura protectora forzada al deambular en ratones que han recibido una inyección de sarcoma el día 10 y el día 14 después de la implantación del sarcoma, en comparación con la administración de solución salina a ratones que han recibido una inyección de sarcoma. Estos resultados indican que los antagonistas de c-Fms reducen el dolor al deambular en ratones que han recibido una inyección de sarcoma.

Evaluación de los comportamientos de dolor provocado por el tacto:

Los animales que han recibido una inyección de sarcoma (administrada con solución salina) desarrollan comportamientos de dolor provocado por el tacto, tal como se determina mediante una postura protectora inducida por palpación y encogimiento inducido por palpación, en comparación con animales que han recibido una inyección simulada (administrada con solución salina). La administración de antagonistas de c-Fms reduce significativamente la postura protectora inducida por palpación y el encogimiento inducido por palpación en ratones que han recibido una inyección de sarcoma el día 10 y el día 14 después de la implantación del sarcoma, en comparación con la administración de solución salina a ratones que han recibido una inyección de sarcoma. Estos resultados indican que los antagonistas de c-Fms reducen el dolor provocado por el tacto en ratones que han recibido una inyección de sarcoma.

Ejemplo 5:**Efectos analgésicos de antagonistas de c-Fms**

Los efectos analgésicos de los antagonistas de c-Fms en una artritis crónica inducida con adyuvante completo de Freund (CFA) en ratas, se investigan mediante la prueba de vocalización, en comparación con indometacina utilizada como sustancia de referencia.

Cincuenta (50) ratas Lewis macho (LEWIS LEW / CrI lco) con un peso de 150 g a 220 g al comienzo de la fase experimental, se incluyen en este estudio. Todos los animales se mantienen durante al menos 5 días antes del experimento, y se alojan en una habitación con temperatura (19,5-24,5°C), humedad relativa (45-65%) y 12 h de ciclo de luz/oscuridad controlados, con acceso a voluntad a agua corriente filtrada y comida de laboratorio granulada convencional a lo largo del estudio. Los animales se identifican individualmente en la cola.

El día 0 (D0), la artritis se induce en las ratas mediante una inyección intradérmica en la cola de 0,05 ml de una suspensión de *Mycobacterium butyricum* en aceite mineral (10 mg/ml). El día 14 (D14), las ratas artríticas se incluyen en el estudio de acuerdo con su capacidad para vocalizar después de una flexión suave de la pata trasera y por su índice de artritis, evaluado usando una puntuación de la inflamación para cada pata trasera y delantera (véase Kuzuna et al., Chem. Pharm. Bull. (Tokio) 23:1184-1191, 1975 y Pearson et al., Arthritis Rheum. 2:440-459, 1959).

Los animales se puntúan basándose en los siguientes criterios: Puntuación 0: aspecto normal; Puntuación 1: eritema; Puntuación 2: eritema con edema leve; Puntuación 3: fuerte inflamación sin anquilosis; Puntuación 4: anquilosis. Únicamente se incluyeron en el estudio, animales capaces de vocalizar después de una flexión suave y que presentaban una puntuación de 2 o 3.

Cuatro grupos de 10 ratas cada uno se incluyen en el estudio. En el grupo 1 (vehículo), el día 14 (D14), después de la selección, a las ratas se les administra un vehículo (solución salina) por vía intravenosa. El día 18 (D18), se evalúa la intensidad nociceptiva mediante una flexión suave de la pata trasera y la intensidad del nivel de vocalización se registra para cada animal. En el grupo 2 (4 días), el D14, después de la selección, a las ratas se les administra por vía intravenosa anticuerpo específico de M-CSF. El día 18 (D18), la intensidad nociceptiva se evalúa por una flexión suave de la pata trasera y la intensidad del nivel de vocalización se registra para cada animal. En el grupo 3 (24 horas), el día 17 después de la inyección de CFA, a las ratas se les administra por vía intravenosa anticuerpo específico de M-CSF o anticuerpo específico del receptor de M-CSF. La intensidad nociceptiva se evalúa por una flexión suave de la pata trasera 24 horas más tarde, y la intensidad del nivel de vocalización se registra para cada animal. En el grupo 4 (indometacina), el día 18 (D18), la intensidad nociceptiva se evalúa por una flexión suave de la pata trasera una hora después de la administración oral de indometacina (10 mg/kg). La intensidad del nivel de vocalización también se registra para cada animal. Las sustancias de la prueba se administran de una manera ciega y al azar por vía intravenosa, en un volumen de 5 ml/kg, mientras que la indometacina se administra por vía oral en un volumen de 10 ml/kg.

Los antagonistas de c-Fms muestran un efecto analgésico significativo. La relevancia estadística entre los grupos tratados y el grupo de vehículo se determina con una prueba de Dunnett, usando la varianza residual después de un análisis unidireccional de la varianza. Un anticuerpo específico de M-CSF y un anticuerpo específico del receptor de M-CSF reducen significativamente el dolor en un modelo en rata de artritis reumatoide, 24 horas o 4 días después de una sola administración del anticuerpo. El mismo resultado se puede lograr con un anticuerpo específico de IL-

34.

Ejemplo 6:***Los antagonistas de c-Fms son eficaces en el tratamiento del dolor inflamatorio / modelo de mBSA***

5 El siguiente experimento demuestra que los antagonistas de c-Fms también son eficaces en el tratamiento del dolor inflamatorio. Para ello, se induce una artritis monoarticular con mBSA/IL-1 en ratones con M-CSF inactivado (KO, del inglés “knock-out”) y en ratones de control. El dolor se evalúa con o sin administración de indometacina, una sustancia que alivia el dolor, en varios puntos de tiempo utilizando un medidor de incapacidad.

Ratones

Se emplean 24 ratones macho C57BL/6 y 24 ratones macho M-CSF^{-/-} en cuatro grupos de tratamiento:

- 10 Grupo 1: ratones M-CSF KO (n = 12): BSA metilada/IL-1
 Grupo 2: ratones M-CSF KO (n = 12): mBSA metilada/IL-1 + indometacina
 Grupo 3: ratones C57BL/6 de tipo silvestre (n = 12): BSA metilada/IL-1
 Grupo 4: ratones C57BL/6 de tipo silvestre (n = 12): BSA metilada/IL-1 + indometacina

Inducción de la artritis monoarticular

15 La artritis monoarticular se induce con una inyección intraarticular de 10 µl de mBSA (20 mg/ml) en solución salina en la articulación de la rodilla y 10 µl de solución salina en la articulación de la rodilla contralateral. Se administran 20 µl de IL-1β (250 ng) diariamente por vía subcutánea durante 3 días. Una respuesta se desarrolla normalmente entre los días 4 y 7 después de la inyección de mBSA y se solventa el día 28. La incapacidad se somete a ensayo los días 2, 3, 4, 5 y 7.

20 La indometacina (Sigma) es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, empleado comúnmente para reducir la fiebre, el dolor, la rigidez y la inflamación. Su función es inhibir la producción de prostaglandinas. Se administra 1 mg/kg i.p. de indometacina a los grupos 2 y 4, una hora antes de evaluar el dolor, empleando un medidor de incapacidad.

Indicación del dolor

25 Un medidor de incapacidad (Dual Weight Averager) se utiliza para evaluar de forma automática y reproducible la potencia analgésica, midiendo la distribución del peso sobre las dos patas traseras. La fuerza ejercida por cada extremidad (medida en gramos) se promedia durante un periodo seleccionado por el usuario, indicando de este modo cualquier tendencia del animal a desplazar su peso de un lado a otro, proporcionando de este modo una medición cuantitativa de la incapacidad.

30 El peso colocado sobre cada pata trasera se mide durante un período de 5 segundos. Se promedian 3 mediciones independientes realizadas en cada ratón, en cada punto de tiempo. Los resultados se expresan como extremidad inyectada/extremidad de control x 100. Por lo tanto, un valor de 100 significa que se está colocando el mismo peso en la extremidad derecha y la extremidad izquierda. Un valor inferior a 100 significa que se está colocando menos peso en la extremidad inyectada (izquierda), en comparación con la extremidad de control (derecha).

Resultados

35 Este modelo induce sinovitis en la articulación de la rodilla a través de la inyección de mBSA. El día 7, las articulaciones de la rodilla se examinaron visualmente y se les otorgó una puntuación de 0 (normal) a 3 (inflamada gravemente). La rodilla izquierda, que había recibido una inyección de mBSA, estaba significativamente más inflamada, en comparación con la rodilla derecha (inyectada con solución salina). De hecho, todas las rodillas derechas (inyectadas con solución salina) recibieron una puntuación de 0. No hay diferencias significativas entre los ratones tratados con indometacina y los no tratados para cualquier distensión.

40 Los ratones C57BL/6 muestran significativamente más dolor (medido por un desplazamiento del peso, alejándolo de la rodilla con inyección de mBSA), en comparación con los ratones M-CSF^{-/-} cuando se inducía una artritis monoarticular con mBSA/IL-1 (Figura 4).

45 Los ratones C57BL/6 tratados con indometacina muestran significativamente menos dolor, en comparación con los ratones no tratados con indometacina después de una inducción de artritis monoarticular con mBSA/IL-1, de manera que las lecturas son similares a las de los ratones M-CSF^{-/-}. Como los ratones M-CSF^{-/-} no mostraban dolor, el tratamiento con indometacina no tenía ningún efecto.

50 Estos resultados indican que los ratones C57BL/6 desarrollan un dolor significativo a partir del día 4 en adelante, en un modelo de artritis monoarticular con mBSA/IL-1, mientras que los ratones M-CSF^{-/-} no mostraban ningún signo significativo de dolor. Los antagonistas de c-Fms son por lo tanto muy eficaces en el tratamiento del dolor inflamato-

rio.

Ejemplo 7:

Los antagonistas de c-Fms son eficaces en el tratamiento del dolor inflamatorio / modelo de CFA

5 El siguiente experimento es un experimento adicional que demuestra la eficacia de los antagonistas de c-Fms en el tratamiento del dolor inflamatorio. En este caso, el dolor inflamatorio se induce con adyuvante completo de Freund. Como en el Experimento 6, se evalúa el dolor con o sin una administración de indometacina, una sustancia que alivia el dolor, en varios puntos de tiempo usando un medidor de la incapacidad.

Ratones

10 Se emplean 12 ratones macho C57BL/6 y 12 ratones macho M-CSF^{-/-} en cada uno de los tres grupos de tratamiento:

Grupo 1: ratones C57BL/6 de tipo silvestre (n = 12): CFA

Grupo 2: ratones C57BL/6 de tipo silvestre (n = 12): CFA + indometacina

Grupo 3: ratones M-CSF KO (n = 12): CFA

Inducción de dolor inflamatorio

15 El adyuvante completo de Freund (CFA) (Sigma) contiene la cepa *Mycobacterium tuberculosis* inactivada térmicamente, H37Ra, en aceite mineral a una concentración de 1 mg/ml. El CFA se mezcla a fondo en vórtex para asegurar que las bacterias termoinactivadas se incorporan en la suspensión (Kamala T (Hock immunization: a humane alternative to mouse footpad injections. J Immunol Methods 328:204-214. 2007). Inmediatamente después de la agitación en vórtex, el adyuvante se introduce en una jeringa de vidrio usando una aguja de calibre 19. Las burbujas se eliminan cuidadosamente de la jeringa y se retira la aguja. Cada ratón recibe una inyección por vía subcutánea en la pata trasera izquierda (almohadilla plantar) de 20 µl de emulsión de CFA. Se administra 1 mg/kg de indometacina i.p. (véase el Experimento 6) a los ratones del Grupo 2, una hora antes de la evaluación del dolor.

Indicación del dolor

25 Como en el Experimento 6, se utiliza un medidor de la incapacidad (Dual Weight Averager) para la evaluación automática y reproducible de la potencia analgésica, midiendo la distribución del peso sobre las dos patas traseras. El peso colocado en cada extremidad trasera se mide durante un período de 5 segundos. En cada ratón se realizan 3 mediciones independientes en cada punto de tiempo y luego se promedian. Los resultados se expresan como extremidad inyectada/extremidad de control x 100. Por lo tanto, un valor de 100 significa que se está colocando el mismo peso en la extremidad derecha que en la extremidad izquierda. Un valor inferior a 100 significa que se está colocando menos peso en la extremidad inyectada (izquierda), en comparación con la extremidad de control (derecha). La incapacidad se somete a ensayo 24, 48 y 72 h horas después de la inyección de CFA.

Resultados

35 Después de la inyección s.c. de CFA en la almohadilla de la pata izquierda, los ratones desarrollan una inflamación de la almohadilla de la pata izquierda, que tiene una magnitud similar en los ratones C57BL/6 (Grupo 1) y los ratones M-CSF^{-/-} (Grupo 3). Los ratones C57BL/6 tratados con indometacina (Grupo 2) tampoco muestran ninguna diferencia en el grado de inflamación. No hay inflamación de la pata contralateral (derecha) en ninguno de los grupos.

40 La evaluación de la distribución del peso, como una medida del dolor, muestra que los ratones C57BL/6 desarrollan dolor a medida que pasa el tiempo, el cual es significativamente mayor que en los ratones M-CSF^{-/-}, 48 y 72 horas después de la inyección de CFA. Sorprendentemente, los ratones M-CSF^{-/-} no desarrollan ningún tipo de dolor. El tratamiento de los ratones C57BL/6 con indometacina alivia el dolor de tal manera que las lecturas no son diferentes a las de los ratones M-CSF^{-/-}. Después de 72 horas de la inyección de CFA, los ratones C57BL/6 tratados con indometacina tienen significativamente menos dolor que los ratones C57BL/6 sin tratamiento con indometacina.

45 El grado de inflamación de la almohadilla de la pata después de la inyección de CFA no es diferente en los ratones M-CSF^{-/-} que en comparación con los ratones C57BL/6. Además, el tratamiento con indometacina de los ratones C57BL/6 no tiene efecto sobre la inflamación, lo que se debe probablemente al hecho de que se administra solo una hora antes de las lecturas de la incapacidad. Por tanto, la mayor parte de la inflamación ya se produce antes de administrar la primera inyección de indometacina, a las 24 horas.

50 Por el contrario, después de la inyección de CFA, los ratones C57BL/6 desarrollan un dolor significativo que se reduce con indometacina. Por otro lado, los ratones M-CSF^{-/-} no muestran ningún signo de dolor. Por lo tanto, estos experimentos muestran sorprendentemente que, aunque las almohadillas de las patas de todos los ratones se inflaman después de la inyección de CFA, los ratones M-CSF^{-/-} no muestran signos de dolor.

Ejemplo 8:**Ensayo clínico**

Se realiza un ensayo clínico en pacientes adultos que padecen artrosis de la rodilla. El objetivo del ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo es determinar las diferencias comparativas entre los antagonistas de c-Fms de la presente invención y el placebo, en el alivio del dolor en general y la calidad de vida en una muestra total de 30 pacientes con diagnóstico de artrosis (OA) de la rodilla. Otro objetivo es determinar la seguridad y la tolerabilidad de los antagonistas de c-Fms de la presente invención, tal y como se determinan por los eventos adversos, el examen físico y los signos vitales.

Métodos:

Treinta pacientes (15 varones adultos y 15 mujeres adultas), de 40 años en adelante, con un diagnóstico clínico de artrosis de rodilla(s) y dolor en la rodilla verificado durante al menos 15 días en el mes anterior a la prueba, se inscriben en el estudio. Los pacientes reciben una cantidad terapéuticamente eficaz de antagonistas de c-Fms o un placebo (por ejemplo, una vez cada dos semanas, durante aproximadamente seis meses).

Se utilizaron en este estudio el índice Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis (WOMAC; Bellamy et al., J Rheumatol 15(12):1833-40, 1988) y las escalas del instrumento SF-36v2 Quality of Life (Quality Metric Health Outcomes Solutions, Lincoln, RI). El WOMAC es una medición del estado de salud en forma de cuestionario autoadministrado, específico de la enfermedad. Muestra los síntomas clínicamente importantes en las áreas de dolor, rigidez y función física en pacientes con artrosis de la cadera y/o rodilla. El índice consiste en 24 preguntas (5 sobre el dolor, 2 sobre la rigidez y 17 sobre la función física) y se puede completar en menos de 5 minutos. El WOMAC es un instrumento válido, fiable y sensible para detectar cambios clínicamente importantes en el estado de salud después de una variedad de intervenciones (farmacológicas, nutritivas, quirúrgicas, de psicoterapia, etc.). El cuestionario WOMAC es válido para evaluar los efectos de una intervención sobre la artrosis de cadera o de rodilla. El instrumento SF-36v2 Quality of Life es una encuesta multiobjetivo corta sobre el estado de salud, en un formulario corto que incluye 36 preguntas. Proporciona un perfil de 8 escalas de puntuaciones funcionales sobre la salud y el bienestar, así como unas medidas resumidas de la salud física y mental con base psicométrica y un índice de utilidad de la salud basado en preferencias. Es una medida genérica, en oposición a una que esté destinada a una edad, enfermedad o grupo de tratamiento específicos. De acuerdo con ello, el SF-36v2 ha demostrado su utilidad en encuestas de poblaciones generales y específicas, comparando la carga relativa de enfermedades, y para diferenciar los beneficios para la salud producidos por una amplia gama de diferentes tratamientos. El SF-36v2 proporciona información sobre los siguientes aspectos y subconjuntos de la salud; salud física (que comprende actividad física, función física, dolor corporal y salud general) y salud mental (que comprende vitalidad, actividad social, función emocional y salud mental).

Resultados:

Cambio en el dolor corporal: La mejora en el dolor corporal según SF-36v2 es estadísticamente significativa en pacientes tratados con los antagonistas de c-Fms de la presente invención, en comparación con un placebo. Es mejor una puntuación más alta porque significa que el paciente siente menos dolor después de tomar el producto. Existe una mejora estadísticamente significativa en la puntuación del dolor corporal en el grupo que recibía los antagonistas de c-Fms de la presente invención en comparación con el grupo de placebo.

Cambio en la puntuación de la función física: El efecto superior de los antagonistas de c-Fms de la presente invención en comparación con el placebo es estadísticamente significativo en la semana 8, semana 12 y semana 20, en términos de limitaciones de la función debido a la salud física (función física). Es mejor una puntuación más alta porque significa que el paciente ha notado una mejora física y una reducción en las limitaciones padecidas en las actividades cotidianas. Existe una mejora estadísticamente significativa en la puntuación de la función física en el grupo que recibía los antagonistas de c-Fms de la presente invención, en comparación con el grupo del placebo.

Cambio en la puntuación total WOMAC: La puntuación total WOMAC del grupo tratado con los antagonistas de c-Fms de la presente invención es mejor, desde un punto de vista estadísticamente significativo, que la puntuación total WOMAC del grupo de placebo (es mejor una puntuación más baja).

Cambio en WOMAC ADL: La mejora en las actividades cotidianas (medida como una subpuntuación WOMAC ADL) es mayor en el grupo tratado con los antagonistas de c-Fms de la presente invención que en el grupo de placebo. Existe una mejora estadísticamente significativa en la puntuación WOMAC ADL en el grupo tratado con los antagonistas de c-Fms de la presente invención, en comparación con el grupo de placebo (es mejor una puntuación más baja).

Conclusiones:

El ensayo clínico muestra la eficacia de los antagonistas de c-Fms de la presente invención para mejorar la calidad de vida de pacientes con artrosis de la rodilla. Los resultados del ensayo clínico también muestran la seguridad y la tolerancia del producto, dado que no se observaron efectos adversos graves.

5 La eficacia de los antagonistas de c-Fms de la presente invención también se puede establecer a través de estudios en otras especies con las que los antagonistas de c-Fms de la presente invención tienen reactividad cruzada (por ejemplo, en caballos, con el fin de evaluar el movimiento de la articulación); y mediante el uso de estudios *in vitro* para determinar la capacidad de los antagonistas de c-Fms de la presente invención para inhibir la degradación de agregano inducida por IL-1, realizando el ensayo sobre cultivos de condrocitos.

Ejemplo 9:

Eficacia terapéutica de un anticuerpo específico de M-CSF en el tratamiento de OA y del dolor

10 El Ejemplo 1 se repitió utilizando un anticuerpo específico de M-CSF. Tal y como se ha descrito anteriormente en este documento, el modelo de OA inducida con colagenasa se basa en Blom et al. (2004) Osteoarthritis Cartilage. 12; 627-35 y Blom et al. (2007) Arthritis Rheum. 56; 147-57. Salvo que se indique lo contrario, los detalles experimentales son los mismos que los descritos en el Ejemplo 1.

El anticuerpo MOR13503 se utilizó como anticuerpo específico de M-CSF. MOR13503 es un anticuerpo recombinante anti-M-CSF de ratón de isotipo IgG2a. El anticuerpo fue generado por MorphoSys AG (Martinsried, Alemania).

Se dividieron aleatoriamente 30 ratones en 2 grupos (15 ratones/grupo):

15 **PÁGINA REEMPLAZADA**

Grupo 1 (n = 15): anticuerpo anti-M-CSF

Grupo 2 (n = 15): anticuerpo de control de isotipo IgG2a.

20 Los ratones se trataron por vía intraperitoneal, dos veces por semana después de la aparición del dolor el día 20 con 150 µg de anticuerpo anti-MCSF/ratón/tratamiento, hasta el final de los experimentos después de 6 semanas. Ambos, el anticuerpo de control y el anticuerpo anti-M-CSF, se purificaron para contener menos de 10 unidades de endotoxina/ml.

El dolor era evidente el día 20 después de la inducción de la artritis ($p < 0,004$, el día 20 frente al día 0, todos los ratones). Se observó que el tratamiento con un anticuerpo anti-M-CSF evitaba un aumento del grado de dolor, en comparación con el anticuerpo de control de isotipo (véase la Figura 3).

25 **LISTA DE SECUENCIAS**

<110> The University of Melbourne MorphoSys AG

<120> Uso de antagonistas de c-Fms

<160> 3

<170> BiSSAP 1.0

30 <210> 1
< 211> 554
< 212> PRT
< 213> Homo sapiens

35 <220>
< 221> SOURCE
< 222> 1..554
< 223> /mol_type="protein" /note="M-CSF/CSF1 (UniProt P09603)" /organism="Homo sapiens"

ES 2 618 828 T3

<400> 1
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1 5 10 15
Gly Ser Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
20 25 30
Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
35 40 45
Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
50 55 60
Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65 70 75 80
Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
85 90 95
Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
100 105 110
Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
115 120 125
Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
130 135 140
Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145 150 155 160
Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
165 170 175
Glu Cys Ser Ser Gln Asp Val Val Thr Lys Pro Asp Cys Asn Cys Leu
180 185 190
Tyr Pro Lys Ala Ile Pro Ser Ser Asp Pro Ala Ser Val Ser Pro His
195 200 205
Gln Pro Leu Ala Pro Ser Met Ala Pro Val Ala Gly Leu Thr Trp Glu
210 215 220
Asp Ser Glu Gly Thr Glu Gly Ser Ser Leu Leu Pro Gly Glu Gln Pro
225 230 235 240
Leu His Thr Val Asp Pro Gly Ser Ala Lys Gln Arg Pro Pro Arg Ser
245 250 255
Thr Cys Gln Ser Phe Glu Pro Pro Glu Thr Pro Val Val Lys Asp Ser
260 265 270
Thr Ile Gly Gly Ser Pro Gln Pro Arg Pro Ser Val Gly Ala Phe Asn
275 280 285
Pro Gly Met Glu Asp Ile Leu Asp Ser Ala Met Gly Thr Asn Trp Val
290 295 300
Pro Glu Glu Ala Ser Gly Glu Ala Ser Glu Ile Pro Val Pro Gln Gly
305 310 315 320
Thr Glu Leu Ser Pro Ser Arg Pro Gly Gly Gly Ser Met Gln Thr Glu
325 330 335
Pro Ala Arg Pro Ser Asn Phe Leu Ser Ala Ser Ser Pro Leu Pro Ala
340 345 350
Ser Ala Lys Gly Gln Gln Pro Ala Asp Val Thr Gly Thr Ala Leu Pro
355 360 365
Arg Val Gly Pro Val Arg Pro Thr Gly Gln Asp Trp Asn His Thr Pro
370 375 380
Gln Lys Thr Asp His Pro Ser Ala Leu Leu Arg Asp Pro Pro Glu Pro
385 390 395 400
Gly Ser Pro Arg Ile Ser Ser Leu Arg Pro Gln Gly Leu Ser Asn Pro
405 410 415
Ser Thr Leu Ser Ala Gln Pro Gln Leu Ser Arg Ser His Ser Ser Gly
420 425 430
Ser Val Leu Pro Leu Gly Glu Leu Glu Gly Arg Arg Ser Thr Arg Asp
435 440 445
Arg Arg Ser Pro Ala Glu Pro Glu Gly Gly Pro Ala Ser Glu Gly Ala
450 455 460
Ala Arg Pro Leu Pro Arg Phe Asn Ser Val Pro Leu Thr Asp Thr Gly
465 470 475 480
His Glu Arg Gln Ser Glu Gly Ser Phe Ser Pro Gln Leu Gln Glu Ser
485 490 495
Val Phe His Leu Leu Val Pro Ser Val Ile Leu Val Leu Leu Ala Val
500 505 510
Gly Gly Leu Leu Phe Tyr Arg Trp Arg Arg Arg Ser His Gln Glu Pro
515 520 525
Gln Arg Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Pro Glu Gly Ser Pro Leu Thr
530 535 540
Gln Asp Asp Arg Gln Val Glu Leu Pro Val
545 550

ES 2 618 828 T3

<210> 2
 < 211> 972
 < 212> PRT
 < 213> Homo sapiens

5

<220>
 < 221> SOURCE
 < 222> 1..972
 < 223> /mol_type="protein" /note="M-CSF receptor /CSF1R" /organism="Homo sapiens"

<400> 2
 Met Gly Pro Gly Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Ala Thr Ala Trp His
 1 5 10 15
 Gly Gln Gly Ile Pro Val Ile Glu Pro Ser Val Pro Glu Leu Val Val
 20 25 30
 Lys Pro Gly Ala Thr Val Thr Leu Arg Cys Val Gly Asn Gly Ser Val
 35 40 45
 Glu Trp Asp Gly Pro Pro Ser Pro His Trp Thr Leu Tyr Ser Asp Gly
 50 55 60
 Ser Ser Ser Ile Leu Ser Thr Asn Asn Ala Thr Phe Gln Asn Thr Gly
 65 70 75 80
 Thr Tyr Arg Cys Thr Glu Pro Gly Asp Pro Leu Gly Gly Ser Ala Ala
 85 90 95
 Ile His Leu Tyr Val Lys Asp Pro Ala Arg Pro Trp Asn Val Leu Ala
 100 105 110
 Gln Glu Val Val Val Phe Glu Asp Gln Asp Ala Leu Leu Pro Cys Leu
 115 120 125
 Leu Thr Asp Pro Val Leu Glu Ala Gly Val Ser Leu Val Arg Val Arg
 130 135 140

10

ES 2 618 828 T3

Gly Arg Pro Leu Met Arg His Thr Asn Tyr Ser Phe Ser Pro Trp His
 145 150 155 160
 Gly Phe Thr Ile His Arg Ala Lys Phe Ile Gln Ser Gln Asp Tyr Gln
 165 170 175
 Cys Ser Ala Leu Met Gly Gly Arg Lys Val Met Ser Ile Ser Ile Arg
 180 185 190
 Leu Lys Val Gln Lys Val Ile Pro Gly Pro Pro Ala Leu Thr Leu Val
 195 200 205
 Pro Ala Glu Leu Val Arg Ile Arg Gly Glu Ala Ala Gln Ile Val Cys
 210 215 220
 Ser Ala Ser Ser Val Asp Val Asn Phe Asp Val Phe Leu Gln His Asn
 225 230 235 240
 Asn Thr Lys Leu Ala Ile Pro Gln Gln Ser Asp Phe His Asn Asn Arg
 245 250 255
 Tyr Gln Lys Val Leu Thr Leu Asn Leu Asp Gln Val Asp Phe Gln His
 260 265 270
 Ala Gly Asn Tyr Ser Cys Val Ala Ser Asn Val Gln Gly Lys His Ser
 275 280 285
 Thr Ser Met Phe Phe Arg Val Val Glu Ser Ala Tyr Leu Asn Leu Ser
 290 295 300
 Ser Glu Gln Asn Leu Ile Gln Glu Val Thr Val Gly Glu Gly Leu Asn
 305 310 315 320
 Leu Lys Val Met Val Glu Ala Tyr Pro Gly Leu Gln Gly Phe Asn Trp
 325 330 335
 Thr Tyr Leu Gly Pro Phe Ser Asp His Gln Pro Glu Pro Lys Leu Ala
 340 345 350
 Asn Ala Thr Thr Lys Asp Thr Tyr Arg His Thr Phe Thr Leu Ser Leu
 355 360 365
 Pro Arg Leu Lys Pro Ser Glu Ala Gly Arg Tyr Ser Phe Leu Ala Arg
 370 375 380
 Asn Pro Gly Gly Trp Arg Ala Leu Thr Phe Glu Leu Thr Leu Arg Tyr
 385 390 395 400
 Pro Pro Glu Val Ser Val Ile Trp Thr Phe Ile Asn Gly Ser Gly Thr
 405 410 415
 Leu Leu Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Pro Gln Pro Asn Val Thr Trp Leu
 420 425 430
 Gln Cys Ser Gly His Thr Asp Arg Cys Asp Glu Ala Gln Val Leu Gln
 435 440 445
 Val Trp Asp Asp Pro Tyr Pro Glu Val Leu Ser Gln Glu Pro Phe His
 450 455 460
 Lys Val Thr Val Gln Ser Leu Leu Thr Val Glu Thr Leu Glu His Asn
 465 470 475 480
 Gln Thr Tyr Glu Cys Arg Ala His Asn Ser Val Gly Ser Gly Ser Trp
 485 490 495
 Ala Phe Ile Pro Ile Ser Ala Gly Ala His Thr His Pro Pro Asp Glu
 500 505 510
 Phe Leu Phe Thr Pro Val Val Val Ala Cys Met Ser Ile Met Ala Leu
 515 520 525
 Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Tyr Lys Tyr Lys Gln Lys Pro
 530 535 540
 Lys Tyr Gln Val Arg Trp Lys Ile Ile Glu Ser Tyr Glu Gly Asn Ser
 545 550 555 560
 Tyr Thr Phe Ile Asp Pro Thr Gln Leu Pro Tyr Asn Glu Lys Trp Glu
 565 570 575
 Phe Pro Arg Asn Asn Leu Gln Phe Gly Lys Thr Leu Gly Ala Gly Ala
 580 585 590
 Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala Phe Gly Leu Gly Lys Glu Asp
 595 600 605
 Ala Val Leu Lys Val Ala Val Lys Met Leu Lys Ser Thr Ala His Ala
 610 615 620
 Asp Glu Lys Glu Ala Leu Met Ser Glu Leu Lys Ile Met Ser His Leu
 625 630 635 640
 Gly Gln His Glu Asn Ile Val Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr His Gly

ES 2 618 828 T3

```

        645                650                655
Gly Pro Val Leu Val Ile Thr Glu Tyr Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu
        660                665                670
Asn Phe Leu Arg Arg Lys Ala Glu Ala Met Leu Gly Pro Ser Leu Ser
        675                680                685
Pro Gly Gln Asp Pro Glu Gly Gly Val Asp Tyr Lys Asn Ile His Leu
        690                695                700
Glu Lys Lys Tyr Val Arg Arg Asp Ser Gly Phe Ser Ser Gln Gly Val
705                710                715                720
Asp Thr Tyr Val Glu Met Arg Pro Val Ser Thr Ser Ser Asn Asp Ser
        725                730                735
Phe Ser Glu Gln Asp Leu Asp Lys Glu Asp Gly Arg Pro Leu Glu Leu
        740                745                750
Arg Asp Leu His Phe Ser Ser Gln Val Ala Gln Gly Met Ala Phe
        755                760                765
Leu Ala Ser Lys Asn Cys Ile His Arg Asp Val Ala Ala Arg Asn Val
        770                775                780
Leu Leu Thr Asn Gly His Val Ala Lys Ile Gly Asp Phe Gly Leu Ala
785                790                795                800
Arg Asp Ile Met Asn Asp Ser Asn Tyr Ile Val Lys Gly Asn Ala Arg
        805                810                815
Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asp Cys Val Tyr
        820                825                830
Thr Val Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Leu Leu Trp Glu Ile
        835                840                845
Phe Ser Leu Gly Leu Asn Pro Tyr Pro Gly Ile Leu Val Asn Ser Lys
        850                855                860
Phe Tyr Lys Leu Val Lys Asp Gly Tyr Gln Met Ala Gln Pro Ala Phe
865                870                875                880
Ala Pro Lys Asn Ile Tyr Ser Ile Met Gln Ala Cys Trp Ala Leu Glu
        885                890                895
Pro Thr His Arg Pro Thr Phe Gln Gln Ile Cys Ser Phe Leu Gln Glu
        900                905                910
Gln Ala Gln Glu Asp Arg Arg Glu Arg Asp Tyr Thr Asn Leu Pro Ser
        915                920                925
Ser Ser Arg Ser Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ser Ser Glu Leu Glu Glu
        930                935                940
Glu Ser Ser Ser Glu His Leu Thr Cys Cys Glu Gln Gly Asp Ile Ala
945                950                955                960
Gln Pro Leu Leu Gln Pro Asn Asn Tyr Gln Phe Cys
        965                970

```

<210> 3
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<220>
 <221> SOURCE
 <222> 1..242
 <223> /mol_type="protein" /note="IL-34 (UniProt Q6ZMJ4)" /organism="Homo sapiens"

10

```

<400> 3
Met Pro Arg Gly Phe Thr Trp Leu Arg Tyr Leu Gly Ile Phe Leu Gly
1                5                10                15
Val Ala Leu Gly Asn Glu Pro Leu Glu Met Trp Pro Leu Thr Gln Asn
        20                25                30
Glu Glu Cys Thr Val Thr Gly Phe Leu Arg Asp Lys Leu Gln Tyr Arg
        35                40                45
Ser Arg Leu Gln Tyr Met Lys His Tyr Phe Pro Ile Asn Tyr Lys Ile
        50                55                60

```


ES 2 618 828 T3

Ser Val Pro Tyr Glu Gly Val Phe Arg Ile Ala Asn Val Thr Arg Leu
 65 70 75 80
 Gln Arg Ala Gln Val Ser Glu Arg Glu Leu Arg Tyr Leu Trp Val Leu
 85 90 95
 Val Ser Leu Ser Ala Thr Glu Ser Val Gln Asp Val Leu Leu Glu Gly
 100 105 110
 His Pro Ser Trp Lys Tyr Leu Gln Glu Val Glu Thr Leu Leu Leu Asn
 115 120 125
 Val Gln Gln Gly Leu Thr Asp Val Glu Val Ser Pro Lys Val Glu Ser
 130 135 140
 Val Leu Ser Leu Leu Asn Ala Pro Gly Pro Asn Leu Lys Leu Val Arg
 145 150 155 160
 Pro Lys Ala Leu Leu Asp Asn Cys Phe Arg Val Met Glu Leu Leu Tyr
 165 170 175
 Cys Ser Cys Cys Lys Gln Ser Ser Val Leu Asn Trp Gln Asp Cys Glu
 180 185 190
 Val Pro Ser Pro Gln Ser Cys Ser Pro Glu Pro Ser Leu Gln Tyr Ala
 195 200 205
 Ala Thr Gln Leu Tyr Pro Pro Pro Pro Trp Ser Pro Ser Ser Pro Pro
 210 215 220
 His Ser Thr Gly Ser Val Arg Pro Val Arg Ala Gln Gly Glu Gly Leu
 225 230 235 240
 Leu Pro

REIVINDICACIONES

1. Un antagonista de c-Fms para uso en el tratamiento de la artrosis o el dolor, en donde dicho antagonista es un anticuerpo específico de M-CSF, c-FMS o IL-34.
- 5 2. El antagonista según la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en donde dicho dolor es dolor post-operatorio.
3. El antagonista según la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en donde dicho dolor es dolor por cáncer de huesos.
4. El antagonista según la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en donde dicho dolor es dolor por artritis reumatoide.
- 10 5. El antagonista según la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en donde dicho dolor es dolor artrósico.
6. El antagonista según la reivindicación 1 para uso según la reivindicación 1, en donde dicho dolor es dolor inflamatorio.
- 15 7. El antagonista según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para uso según la reivindicación 1, en donde dicho antagonista se emplea en un ser humano.

Figura 1

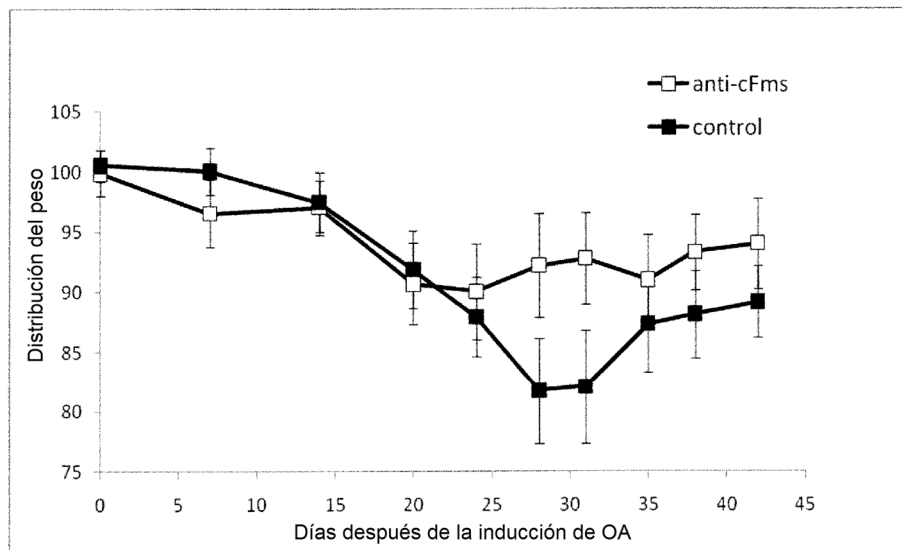


Figura 2

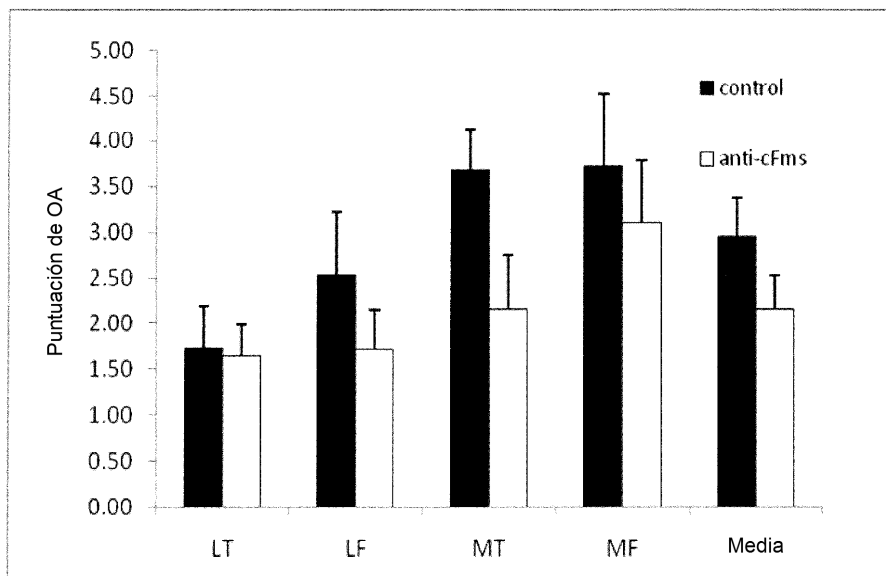


Figura 3

