

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 096**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/16** (2006.01)

**A61K 38/17** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

**A61P 3/00** (2006.01)

**A61P 17/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.06.2011 PCT/US2011/039255**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2011 WO11153525**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2011 E 11790534 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2017 EP 2575858**

54 Título: **Métodos para el tratamiento del síndrome nefrótico y de afecciones relacionadas**

30 Prioridad:

**05.06.2010 US 351866 P**

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

**11.04.2018**

73 Titular/es:

**CHUGH, SUMANT S. (100.0%)**

**147 Gale Avenue**

**River Forest IL 60305, US**

72 Inventor/es:

**CHUGH, SUMANT S.**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 663 096 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Métodos para el tratamiento del síndrome nefrótico y de afecciones relacionadas

## 5 Campo de la divulgación

La presente divulgación se dirige a métodos para el tratamiento y la prevención del síndrome nefrótico y de afecciones relacionadas con el mismo, tal como, pero sin limitación, proteinuria y edema.

## 10 Antecedentes

El síndrome nefrótico (SN) es un término general que se refiere a la pérdida de proteínas en la orina (proteinuria), a la hiperlipidemia (hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia) y al edema. El síndrome nefrótico implica cambios en la patología de las células del riñón, tales como los podocitos. La proteinuria se define como la presencia de un exceso de proteínas séricas en la orina. La albuminuria, un tipo específico de proteinuria, es una afección patológica en la que la albúmina está presente en la orina.

Los podocitos (o células epiteliales viscerales) son células de la capa exterior del asa capilar glomerular en los riñones. El glomérulo filtra la sangre, reteniendo moléculas grandes tales como las proteínas y dejando pasar moléculas pequeñas tales como agua, sales y azúcar, como la primera etapa en la formación de la orina. Los procesos largos o "prolongaciones podales" de los adipocitos se enrollan alrededor de los capilares y acaban en la membrana basal glomerular. Los procesos podales se conectan mediante una estructura porosa denominada diafragma de filtración. La capa interna del asa capilar glomerular está constituida de células endoteliales fenestradas. Los riñones afectados por el síndrome nefrótico tienen anomalías en el asa capilar glomerular que provocan una filtración de proteínas sanguíneas, dando como resultado proteinuria.

Cuando se pierden proteínas en la orina, su concentración plasmática disminuye, permitiendo que el agua se mueva a otras zonas del cuerpo, lo que conduce a una hinchazón conocida como edema. El edema se observa comúnmente en los pies y las piernas, en el vientre o el abdomen (ascitis), y alrededor de los ojos, pero puede producirse en cualquier lugar, en especial en respuesta a la gravedad. De forma adicional, debido a este líquido extra que permanece en el cuerpo, las personas a menudo ganan peso, experimentan fatiga y pueden encontrar que orinan con menos frecuencia.

Muchas afecciones se categorizan como síndromes nefróticos, que incluyen la nefropatía de cambios mínimos (NCM), la glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GFS), la nefropatía membranosa (NM) (también denominada glomerulonefritis membranosa, GNM) y la glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP). Durante años los patólogos no encontraban cambios en el tejido de la NCM cuando observaban muestras de ensayo al microscopio óptico, de ahí el nombre de nefropatía de cambios mínimos. Con el advenimiento de la microscopía electrónica, los cambios ahora conocidos como los rasgos distintivos de la enfermedad incluyen la pérdida difusa de los procesos podales del podocito, vacuolación de los procesos podales del podocito y crecimiento de microvellosidades en las células epiteliales viscerales. La nefropatía diabética es la causa más común del síndrome nefrótico.

La hipertrigliceridemia puede producirse debido a cambios en la actividad de las enzimas que degradan triglicéridos, tales como la lipoproteína lipasa (LPL) (2-4). Determinadas proteínas implicadas en la etiología del síndrome nefrótico y de la proteinuria, tales como la similar a angiopoyetina 4 (Angpt14), inhiben la actividad de la LPL.

La base molecular del síndrome nefrótico es desconocida. Se han observado niveles aumentados de Angpt14 en el síndrome nefrótico, tal como la NCM, la NM/GNM y la GNMP, pero los niveles en circulación aumentados de Angpt14 no se han asociado con la causa de la proteinuria en el síndrome nefrótico. Sin embargo, el papel de Angpt14 en el síndrome nefrótico, tales como, pero sin limitación, la NCM, GEFS, NM/GNM y GNPM, y afecciones relacionadas, tal como, pero sin limitación, la proteinuria, no se ha informado anteriormente. Además, la asociación de la proteinuria y de la sensibilidad a los glucocorticoides en el síndrome nefrótico y el vínculo entre proteinuria e hipertrigliceridemia, dos componentes clave del síndrome nefrótico, aún debe establecerse. La terapia diseñada para reducir la proteinuria complica aún más el estudio de los mecanismos de la enfermedad. Por ejemplo, en determinadas formas de síndrome nefrótico, tales como la ECM (6), los glucocorticoides utilizados para tratar la proteinuria en la NCM elevan de forma independiente los niveles plasmáticos de triglicéridos (5) y la normalización de los niveles plasmáticos de triglicéridos está por detrás de la respuesta de la proteinuria a los glucocorticoides.

La presente divulgación demuestra que los niveles en circulación aumentados de Angpt14 reducen la gravedad del síndrome nefrótico y de las afecciones asociadas al mismo, tales como, pero sin limitación, la proteinuria. Como resultado, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento y/o la prevención del síndrome nefrótico, tales como, pero sin limitación, la NCM, GEFS, la NM/GNM, la GNPM y la nefropatía diabética, así como métodos para aliviar los síntomas asociados con el síndrome nefrótico, que incluyen, pero sin limitación, proteinuria y edema. La presente divulgación proporciona adicionalmente métodos para reducir la proteinuria y el edema.

65

El documento WO2006014678 divulga composiciones y métodos de uso de ANGPTL4, y agonistas y antagonistas de la misma, para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades y trastornos.

5 YIN *et al.* (Journal Of Biological Chemistry 2009, vol. 284, n.º 19, páginas 13213 - 1322) divulgan que la variación genética en ANGPTL4 proporciona información sobre el procesamiento y la función de la proteína.

SUN *et al.* (Nephron Experimental Nephrology 2007 vol. 105, n.º 4, páginas e117 - e123) divulgan la expresión potenciada de ANGPTL2 en lesiones microvasculares de la glomerulopatía diabética.

10 LEE *et al.* (Journal Of Biological Chemistry 2009, vol. 284, n.º 20, páginas 13735 - 13745) divulgan la identificación de un nuevo dominio funcional en la proteína similar a angiopoyetina 3 (ANGPTL3) y similar a angiopoyetina 4 (ANGPTL4), implicado en la unión y la inhibición de la lipoproteína lipasa (LPL).

15 ROMEO *et al.* (Nature Genetics 2007, vol. 39, n.º 4, páginas 513 - 516) divulgan que el resecuenciamiento basado en la población de ANGPTL4 ha revelado variaciones que reducen los triglicéridos y aumentan la HDL.

#### Breve descripción de las figuras

La Fig 1. muestra el desarrollo y caracterización de ratas aP2-Angptl4 TG.

20 La Fig. 1A muestra un análisis en gel bidimensional de 200 µg de plasma humano (n = 4 pacientes/grupo, se muestran las transferencias representativas recortadas) y demuestra la presencia de niveles aumentados de Angptl4 en circulación en pacientes con nefropatía del cambios mínimos (NCM) en recaída y en pacientes con nefropatía membranosa (NM) (indicado mediante flechas), en comparación con pacientes con NCM en remisión (es decir, pacientes no proteinúricos).

25 La Fig. 1B muestra un modelo de rata transgénica (TG) para la sobreexpresión específica en tejido adiposo de Angptl4 (aP2-Angptl4 TG).

La Fig. 1C muestra la sobreexpresión específica tejido de ARNm de Angptl4 (n = 3 ratas/grupo) en ratas aP2-Angptl4 TG. TAB es tejido adiposo blanco, TAP es tejido adiposo pardo. \*\*\* P < 0,001.

30 La Fig. 1D muestra una electroforesis en gel bidimensional de 200 µg de plasma, seguida de transferencia de Western para Angptl4 y demuestra que las ratas aP2-Angptl4 TG heterocigotas tenían niveles de Angptl4 en circulación más altos que las ratas de tipo silvestre (edad, 3 meses, n = 3 transferencias/grupo).

La Fig. 1E muestra una electroforesis en gel bidimensional de 200 µg de plasma, seguida de transferencia de Western con anticuerpos anti-V5 y anti-Angptl4, y demuestra la presencia de Angptl4 etiquetada con V5 secretada en tejido adiposo en el plasma de las ratas aP2-Angptl4 TG.

35 La Fig. 1F muestra una electroforesis en gel bidimensional de inmunoprecipitados de anti-Angptl4 N-terminal de plasma de rata aP2-Angptl4 TG, seguido de transferencia de Western utilizando lectina SNA I y anticuerpos anti-Angptl4, y confirmó la presencia de Angptl4 sialilada en circulación en las aP2-Angptl4.

La Fig. 1G muestra cortes teñidos con PAS de ratas aP2-Angptl4 TG heterocigotas de 3 meses de edad (n = 3 ratas/grupo) y demuestra una morfología glomerular normal (aumento de 400x).

40 La Fig. 1H muestra una ME de inmuno oro con anticuerpo anti-V5 para detectar de forma específica la proteína transgénica en ratas aP2-Angptl4 TG macho heterocigotas de 3 meses y demostró de forma selectiva partículas de oro en la superficie endotelial en ratas aP2-Angptl4 TG (indicado mediante flechas).

La Fig. 2 muestra la relación de los niveles en circulación aumentados de Angptl4 con proteinuria/albuminuria.

45 La Fig. 2A muestra la evaluación de la excreción de proteínas urinarias (3 µg / calle, excepto en la remisión de NCM) en distintas patologías humanas y experimentales, mediante una SDS PAGE teñida con azul GelCode y demostró la ausencia de proteinuria significativa en las ratas aP2-Angptl4 TG (calle marcada con \*, la flecha muestra la albúmina intacta en alrededor de 70 kDa).

La Fig. 2B muestra la evaluación de la albuminuria mediante ELISA y reveló que las ratas aP2-Angptl4 TG hembra heterocigotas tenían una albuminuria menor que sus compañeras de camada de tipo silvestre (n = 6 ratas/grupo).

50 La Fig. 2C muestra la evaluación de la albuminuria mediante ELISA y reveló que las ratas aP2-Angptl4 TG macho heterocigotas tenían una albuminuria menor que sus compañeras de camada de tipo silvestre (n = 6 ratas/grupo).

La Fig. 2D muestra la inducción de nefrosis por puromicina (PAN), un modelo de síndrome nefrótico, en ratas de tipo silvestre y aP2-Angptl4 TG, y demuestra menos proteinuria en las ratas aP2-Angptl4 TG en comparación con sus compañeras de camada de tipo silvestre (n = 8 ratas/grupo). \* P < 0,05, \*\* P < 0,01 en comparación con los correspondientes controles

55 La Fig. 2E muestra que la Angptl4 recombinante tuvo efectos protectores en las células endoteliales glomerulares cultivadas (las GEnC). \*\* P < 0,01, \*\*\* P < 0,001 en comparación con los correspondientes controles

60 La Fig. 2F muestra que la regulación por aumento de Angptl4 en ratas de tipo silvestre en modelos de enfermedad como PAN era exclusivamente glomerular en el día 6, mientras que en el día 10 se observó regulación por aumento de Angptl4 en tejido adiposo, cuando la proteinuria y la expresión de Angptl4 glomerular están en descenso (n = 3 ratas / muestra). \*\* P < 0,01, \*\*\* P < 0,001 en comparación con los correspondientes controles

65

La Fig. 2G muestra niveles en circulación aumentados de Angpt14, al inicio y después de la inducción de PAN en ratas aP2-Angpt14 TG, dando como resultado niveles de triglicéridos plasmáticos aumentados en comparación con las ratas de tipo silvestre. \* P < 0,05 en comparación con los correspondientes controles

La Fig. 2H muestra niveles en circulación aumentados de Angpt14 al inicio y después de la inducción de PAN en ratas aP2-Angpt14 TG, dando como resultado una actividad de lipoproteína lipasa (LPL) posheparina reducida, en comparación con las ratas de tipo silvestre. \* P < 0,05 en comparación con los correspondientes controles

La Fig. 3 muestra los cebadores y sondas utilizados para la PCR en tiempo real Taqman (las SEQ ID NO. 11-22).

La Fig. 4 muestra que Angpt14 recombinante reduce la proteinuria en modelos animales de enfermedad glomerular humana.

La Fig. 4A muestra la reducción de la proteinuria en ratas Buffalo/Mna, un modelo de GEFS. En el modelo de rata Buffalo/Mna, la evaluación de la proteinuria basal se realizó el día 0. Se inyectaron Angpt14 o proteína de control por vía intraperitoneal en dos días consecutivos (días 1 y 2, flechas) en ratas Buffalo Mna (n=4 ratas/grupo). La proteinuria se evaluó en días alternos y se expresó como un porcentaje de los valores basales. Se observó una reducción significativa de la proteinuria en las ratas tratadas con Angpt14 recombinante.

La Fig. 4B muestra la reducción de la proteinuria en la nefritis de Thy1.1, un modelo a corto plazo de lesión mesangial. Se indujo nefritis Thy1.1 en ratas Wistar macho (n=4 ratas/grupo). Después de la evaluación de la proteinuria basal (día 1), se inyectaron por vía intravenosa proteína de sobrenadante concentrado de líneas celulares estables de Angpt14 o de control en dos días consecutivos (días 1 y 2, flechas), seguido de evaluación de la proteinuria. La proteinuria fue menor en todas las ratas tratadas con Angpt14 y fue estadísticamente significativa en el día 5. \* P<0,05; \*\* P<0,01. Todos los valores son la media + ET

La Fig. 5 muestra las secuencias de aminoácidos y de ADNc de Angpt14 de diversas especies. La SEQ ID NOS. 1 y 2 muestran la secuencia de aminoácidos y de ADNc de ser humano (Proteína Variante 1 isoforma a, forma larga; secuencias de aminoácidos subrayadas en la posición 40 y 161-164); La SEQ ID NOS. 3 y 4 muestran la secuencia de aminoácidos y de ADNc de ser humano (Proteína Variante 3 isoforma de b, forma corta; secuencias de aminoácidos subrayadas en la posición 40 y 161-164); La SEQ ID NOS. 5 y 6 muestran la secuencia de aminoácidos y de ADNc de rata; La SEQ ID NOS: 7 y 8 muestran las de aminoácidos y de ADNc de ratón; se encuentran subrayados los cebadores de secuenciación directos. En negrita están los cebadores de secuenciación inversos.

### 30 Sumario de la divulgación

En un primer aspecto, la presente invención proporciona el polipéptido Angpt14 para uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico.

En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP o nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico se caracteriza como MSGS. En una realización adicional, el síndrome nefrótico es provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. También se describe la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angpt14 o un derivado del polipéptido Angpt14. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a la Angpt14 de tipo silvestre o un derivado del polipéptido Angpt14. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angpt14 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración trata el síndrome nefrótico proporcionando la función de Angpt14. En una realización alternativa, tal administración trata el síndrome nefrótico proporcionando una función de Angpt14 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angpt14 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

También se divulgan métodos para aliviar uno más síntomas del síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, proteinuria, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y edema. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrótico es provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angpt14 o un derivado del polipéptido Angpt14. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angpt14 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los

polipéptidos Angpt4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración alivia uno o más síntomas del síndrome nefrótico proporcionando la función de Angpt14. En una realización alternativa, tal administración alivia uno o más síntomas del síndrome nefrótico proporcionando una función de Angpt14 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angpt14 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

También se divulgan métodos para reducir la proteinuria en un sujeto. En una realización, el sujeto padece síndrome nefrótico. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En otra realización, el sujeto padece un trastorno caracterizado por proteinuria. En otra realización, el sujeto padece una afección diabética. En una realización adicional, la proteinuria está provocada por GEFS. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angpt14 o un derivado del polipéptido Angpt14. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angpt14 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angpt4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración reduce la proteinuria proporcionando la función de Angpt14. En una realización alternativa, tal administración reduce la proteinuria proporcionando una función de Angpt14 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angpt14 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

También se divulgan métodos para reducir el edema en un sujeto. En una realización, el sujeto padece síndrome nefrótico. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por GEFS. En una realización específica, el edema está provocado por niveles en circulación disminuidos de proteínas plasmáticas tales como la albúmina. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. La reducción de la proteinuria a través de la administración de un polipéptido Angpt14 del derivado del polipéptido Angpt14 reducirá la proteinuria, elevará los niveles de proteínas plasmáticas y, de este modo, reducirá el edema. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angpt14 o un derivado del polipéptido Angpt14. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angpt14 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos AngptW descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración reduce el edema proporcionando la función de Angpt14. En una realización alternativa, tal administración reduce el edema proporcionando una función de Angpt14 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angpt14 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

También se divulgan métodos para reducir la hipercolesterolemia y/o la hipertrigliceridemia en un sujeto. En una realización, el sujeto padece síndrome nefrótico. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angpt14 o un derivado del polipéptido Angpt14. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angpt14 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angpt4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración reduce la hipercolesterolemia y/o la hipertrigliceridemia proporcionando la función de Angpt14. En una realización alternativa,

tal administración reduce la hipercolesterolemia y/o la hipertrigliceridemia proporcionando una función de Angpt14 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angpt14 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

5 Además, se divulgan métodos para el tratamiento y/o la prevención de una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angpt14 o un derivado del polipéptido Angpt14. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que  
10 tenga una actividad comparable a Angpt14 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angpt14 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en  
15 combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración trata las afecciones anteriores proporcionando la función de Angpt14. En una realización alternativa, tal administración trata las afecciones anteriores proporcionando una función de Angpt14 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angpt14 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

20 Además, se divulga una composición farmacéutica para su uso en los métodos como se describe anteriormente. La composición comprende uno o más polipéptidos de Angpt14 o derivados de polipéptidos. En una realización, el polipéptido Angpt14 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angpt14 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angpt14 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angpt14, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angpt14 descritos en el presente documento.

30 Descripción detallada

En el siguiente análisis, determinados artículos y métodos se describirán con fines de introducción y antecedentes. Nada de lo contenido en el presente documento debe interpretarse como un "reconocimiento" de la técnica anterior.  
35 El solicitante se reserva expresamente el derecho de demostrar, cuando resulte apropiado, que los artículos y métodos a los que se hace referencia en el presente documento no constituyen técnica anterior según las disposiciones legales aplicables.

40 Al investigar el síndrome nefrótico, se observó que la Angpt14 secretada por los podocitos inducía proteinuria. De forma más importante, como se describe en el presente documento, la Angpt14 en circulación redujo la proteinuria en un modelo de animal transgénico. Se han observado niveles aumentados de Angpt14 en el síndrome nefrótico, tal como NCM y NM, pero los niveles en circulación aumentados de Angpt14 no se han asociado con la causa del síndrome nefrótico.

45 Aunque se ha demostrado que los niveles aumentados de Angpt14 tratan el síndrome nefrótico y reducen la proteinuria asociada, se ha observado que la Angpt14 aumentada en circulación induce hiperlipidemia (hipertrigliceridemia), tal como, pero sin limitación, a través de la inhibición de la LPL. Sería ventajoso proporcionar los beneficios de los niveles en circulación aumentados de Angpt14 sin las consecuencias negativas de la hiperlipidemia. Tal estrategia es posible utilizando los derivados de polipéptido Angpt14, como se divulga en el  
50 presente documento.

Las proteínas similares a angiopoyetina se han implicado en el desarrollo de hipertrigliceridemia y metástasis tumoral, y son funcionalmente distintas de las angiopoyetinas. Angpt14 es un gen diana de PPAR $\gamma$  (8) y PPAR $\alpha$  (9) expresado de forma elevada en el hígado y el tejido adiposo, inducido fuertemente por el ayuno en el tejido adiposo blanco y el hígado, y es un factor de supervivencia de la apoptosis para las células endoteliales vasculares en condiciones de normoxia (10). Angpt14 es un potente inhibidor de la LPL (11) que induce una hipertrigliceridemia significativa después de la inyección intravenosa o de una expresión mediada por adenovirus (12, 13). Otros estudios mostraron una expresión menor de Angpt14 en cardiomiocitos y en músculo esquelético, y un bajo nivel de expresión en riñón completo en análisis de transferencia de Northern (8). Recientes estudios del gen  
60 *ANGPTL4* basados en la población revelan variantes que afectan los niveles de triglicéridos en seres humanos (14, 15).

La presente divulgación demuestra un papel concluyente de la Angpt14 en circulación en la reducción de la proteinuria observada en el síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, la NCM, GEFS, NM, GNMP y nefropatía diabética.  
65

## Definiciones

5 Los términos "prevención", "prevenir", "que previene", "supresión", "suprimir" y "que suprime", como se usan en el presente documento, se refieren a un curso de acción (tal como administrar un compuesto o composición farmacéutica) iniciado antes del inicio de un síntoma, aspecto o características de una enfermedad o afección, para prevenir o reducir tal síntoma, aspecto o características. Dicha prevención y supresión no necesitan ser absolutas para ser útiles.

10 Los términos "tratamiento", "tratar" y "que trata", como se usan en el presente documento, se refieren a un curso de acción (tal como administrar un compuesto o composición farmacéutica) iniciado después del inicio de un síntoma, aspecto o características de una enfermedad o afección, para eliminar o reducir tal síntoma, aspecto o características. Dicho tratamiento no necesita ser absoluto para ser útil.

15 La expresión "que necesita tratamiento", como se usa en el presente documento, se refiere a la decisión, tomada por un profesional sanitario, de que un paciente necesita o se beneficiará de un tratamiento. Esta decisión se toma basándose en una diversidad de factores que están dentro del ámbito de la experiencia de un profesional sanitario, pero eso incluye el conocimiento de que el paciente está enfermo o estará enfermo, como resultado de una enfermedad o afección que es tratable mediante un método o compuesto de la divulgación.

20 La expresión "que necesita prevención", como se usa en el presente documento, se refiere a la decisión, tomada por un profesional sanitario, de que un paciente necesita o se beneficiará de la prevención. Esta decisión se toma basándose en una diversidad de factores que están dentro del ámbito de la experiencia de un profesional sanitario, pero eso incluye el conocimiento de que el paciente estará enfermo o puede enfermarse como resultado de una enfermedad o afección que es prevenible mediante un método o compuesto de la divulgación.

25 El término "individuo", "sujeto" o "paciente", como se usa en el presente documento, se refiere a un animal, incluyendo mamíferos, tales como ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado, ovejas, caballos o primates, y seres humanos. El término puede especificar macho o hembra o ambos, o excluir macho o hembra.

30 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de un compuesto, ya sea solo o como parte de una composición farmacéutica, que tiene la capacidad de tener cualquier efecto positivo detectable sobre cualquier síntoma, aspecto o características de una enfermedad o afección. Dicho efecto no necesita ser absoluto para ser beneficioso. Cuando se hace referencia a un polipéptido Angptl4 o un derivado de polipéptido Angptl4, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de tal polipéptido suficiente para reducir la proteinuria en un sujeto.

35 La expresión "derivado farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal, éster, sal de un éster, solvato u otro derivado farmacéuticamente aceptable de un polipéptido o derivado de polipéptido Angptl4 de la presente divulgación que, tras la administración a un sujeto, tenga la capacidad de proporcionar (directa o indirectamente) la función de Angptl4 de tipo silvestre; en determinada realización, el polipéptido o derivado de polipéptido Angptl4 muestra una actividad inhibidora de la LPL disminuida de una resistencia a la escisión. Los derivados particularmente favorecidos son los que aumentan la biodisponibilidad de un polipéptido o derivado de polipéptido Angptl4 de la divulgación cuando tales polipéptidos se administran a un sujeto (por ejemplo, permitiendo que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente en la sangre), potencian el suministro de tales polipéptidos a un compartimento biológico dado, aumentan la solubilidad para permitir la administración por inyección, modifican el metabolismo o modifican la tasa de excreción. En una realización, el derivado es un profármaco.

50 El término "sal (o sales) farmacéuticamente aceptable", a menos que se indique otra cosa, incluye sales de grupos ácidos o básicos que pueden estar presentes en el polipéptido o derivado de polipéptido Angptl4 de la presente divulgación.

55 Las expresiones "alrededor de" y "aproximadamente" significarán en general un grado aceptable de error o variación para la cantidad medida, dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Normalmente, los grados ejemplares de error o variación están dentro del 20 por ciento (%), preferentemente dentro del 10 % y más preferentemente dentro del 5 % de un valor o intervalo de valores dado. Para los sistemas biológicos, el término "alrededor de" se refiere a una desviación típica aceptable del error, preferentemente no más de 2 veces un dado valor. Las cantidades numéricas proporcionadas en el presente documento son aproximadas a menos que se indique otra cosa, lo que significa que la expresión "alrededor de" o "aproximadamente" puede inferirse cuando no se indica de forma expresa.

## Métodos de tratamiento y prevención

65 La presente divulgación proporciona métodos de tratamiento y/o prevención del síndrome nefrótico. La presente divulgación proporciona adicionalmente métodos de tratamiento y/o prevención de la NCM, la GEFS y/o de

afecciones con daño mesangial (tal como la diabetes mellitus). La presente divulgación proporciona adicionalmente métodos de tratamiento y/o prevención de una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. La presente divulgación proporciona adicionalmente métodos para aliviar uno más síntomas del síndrome nefrítico, tal como, pero sin limitación, proteinuria, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y edema. Aún más, la presente divulgación proporciona métodos para la reducción de la proteinuria. Aún más, la presente divulgación proporciona métodos para la reducción del edema. La presente divulgación proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más polipéptidos Angptl4 o derivados de polipéptido Angptl4.

En una realización, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan el tratamiento y/o la prevención del síndrome nefrítico en un sujeto que necesita tal tratamiento o prevención. En una realización, el síndrome nefrítico se caracteriza como NCM, GEFS, NM/GNM y GNMP. En otra realización, el síndrome nefrítico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrítico está provocado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrítico es provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración trata el síndrome nefrítico proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración trata el síndrome nefrítico proporcionando una función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión. Dicho método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que necesita tal tratamiento y/o prevención.

En una realización alternativa, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan el tratamiento y/o la prevención de la NCM en un sujeto que necesita tal tratamiento o prevención. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración trata la NCM proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración trata la NCM proporcionando una función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión. Dicho método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que necesita tal tratamiento y/o prevención.

En una realización adicional, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan métodos para aliviar uno más síntomas del síndrome nefrítico, tal como, pero sin limitación, proteinuria, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y edema. En una realización, el síndrome nefrítico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrítico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrítico está provocado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrítico es provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración alivia uno o más síntomas del síndrome nefrítico proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración alivia uno o más síntomas del síndrome nefrítico proporcionando una función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición reducida de



LPL o es resistente a la escisión. Dicho método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que necesita tal tratamiento y/o prevención.

5 En aún una realización adicional, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan métodos para reducir la proteinuria en un sujeto. En una realización, el sujeto padece síndrome nefrótico. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrótico es provocado por una afección diabética. En una  
10 realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl 4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad  
15 inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración reduce la proteinuria proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración reduce la proteinuria proporcionando una  
20 función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión. Dicho método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que necesita tal tratamiento y/o prevención.

25 En aún otra realización, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan métodos para reducir el edema en un sujeto. En una realización, el sujeto padece síndrome nefrótico. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, la NM/GNM, GNMP y nefropatía diabética. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrótico es provocado por una afección diabética. En una realización, la afección  
30 diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. En una realización específica, el edema está provocado por niveles en circulación disminuidos de proteínas plasmáticas tales como la albúmina. La reducción de la proteinuria a través de la administración de un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4 elevará la proteinuria reducida, elevará los niveles de proteínas plasmáticas y, de este modo, reducirá el edema. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ  
35 ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl 4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una  
40 composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración reduce el edema proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración reduce el edema proporcionando una función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión. Dicho método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que necesita tal tratamiento y/o prevención.

50 En aún una realización adicional, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan métodos para reducir la hipercolesterolemia y/o la hipertrigliceridemia un sujeto. En una realización, el sujeto padece síndrome nefrótico. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM, GEFS, NM/GNM y GNMP. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En una realización adicional, el síndrome nefrótico está provocado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrótico es provocado por una afección diabética. En una  
55 realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl 4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad  
60 inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración reduce la proteinuria proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración reduce la proteinuria proporcionando una  
65 función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición

reducida de LPL o es resistente a la escisión. Dicho método puede comprender adicionalmente la identificación de un sujeto que necesita tal tratamiento y/o prevención.

En aún una realización adicional, las enseñanzas de la presente divulgación proporcionan métodos para el tratamiento y/o prevención de un síndrome nefrótico que está provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Los métodos comprenden la etapa de administrar a un sujeto un polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4. En una realización, el polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 o 10. En una alternativa, la secuencia de aminoácidos es un fragmento de cualquiera de las secuencias anteriores que tenga una actividad comparable a Angptl4 de tipo silvestre. En aún una realización adicional, el derivado del polipéptido Angptl4 es un derivado descrito en el presente documento y se ha modificado para tener una actividad inhibidora de LPL disminuida, para que sea resistente a la escisión o una combinación de lo anterior. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4, en una realización, está sialilado. Tal derivado puede basarse en cualquiera de los polipéptidos Angptl4 descritos en el presente documento. El polipéptido o derivado del polipéptido Angptl4 puede administrarse a una dosis terapéuticamente eficaz, ya sea solo, como parte de una composición farmacéutica o en combinación con un agente secundario. En una realización, tal administración trata las afecciones anteriores proporcionando la función de Angptl4. En una realización alternativa, tal administración trata las afecciones anteriores proporcionando una función de Angptl4 modificada, tal como, pero sin limitación, una función de Angptl4 que presenta una inhibición reducida de LPL o es resistente a la escisión.

#### Métodos de exploración

La presente divulgación también se refiere a un método para identificar un compuesto eficaz para el tratamiento o prevención del síndrome nefrótico o de una afección asociada al mismo, tal como, pero sin limitación, proteinuria, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o edema. En una realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM o NM. En otra realización, el síndrome nefrótico se caracteriza como NCM. En otra realización, el síndrome nefrótico está caracterizado por GEFS. En una realización adicional, el síndrome nefrótico es provocado por una afección diabética. En una realización, la afección diabética es nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Dichos compuestos pueden ser útiles como principios activos incluidos en composiciones farmacéuticas o para la administración solos. En una realización, los métodos incluyen determinar el nivel de un polipéptido implicado en la etiología del síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, Angptl4.

En general, tales métodos de exploración comprenden las etapas de proporcionar un sistema de ensayo (como se describe con más detalle a continuación) que expresa un polipéptido implicado en la etiología del síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, Angptl4, introducir en el sistema de ensayo un compuesto de prueba a analizar y determinar el efecto del compuesto de prueba sobre el nivel del polipéptido. Los métodos implican la identificación de compuestos o agentes candidatos o de prueba (polipéptidos, ácidos nucleicos funcionales, hidratos de carbono, anticuerpos, moléculas pequeñas u otras moléculas) que afectan el nivel de sialilación del polipéptido. Después, tales compuestos pueden probarse adicionalmente en sistemas apropiados (tales como, pero sin limitación, los sistemas de modelos animales descritos en el presente documento) para determinar la actividad de los compuestos identificados.

Los compuestos candidatos se identifican utilizando una diversidad de ensayos, tal como, pero sin limitación, los ensayos que emplean células que expresan un polipéptido implicado en la etiología del síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, Angptl4, o en ensayos con polipéptidos aislados. Los diversos ensayos pueden emplear una diversidad de variantes de tales polipéptidos (por ejemplo, de longitud completa, un fragmento biológicamente activo o una proteína de fusión que incluye todo o una porción del polipéptido deseado). Además, tales polipéptidos se pueden obtener de cualquier especie de mamífero adecuada (por ejemplo, de ser humano, de rata o murinos); en una realización específica, el polipéptido procede de un ser humano.

Cuando el ensayo implica el uso de una célula completa, la célula puede expresar de forma natural un polipéptido implicado en la etiología del síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, Angptl4, o puede modificarse para expresar al mismo. En este último caso, las células pueden modificarse para expresar un polipéptido deseado a través de técnicas de biología molecular convencionales, tal como infectando la célula con un virus que comprende tal polipéptido. Además, la célula puede ser una célula procariota o eucariota que se ha transfectado con una secuencia de nucleótidos que codifica tal polipéptido. En lo anterior, pueden utilizarse polipéptidos de longitud completa, fragmentos o proteínas de fusión que contengan al menos una parte de tal polipéptido. Los sistemas de ensayo ejemplares se describen en la actual memoria descriptiva.

Los diversos ensayos de exploración pueden combinarse con un ensayo *in vivo* que implica medir el efecto del compuesto de prueba sobre los síntomas de las patologías y afecciones analizadas en el presente documento. En tal realización, los compuestos pueden evaluarse para determinar si afectan un parámetro asociado con el síndrome nefrótico o una afección relacionada con el mismo, tal como, pero sin limitación, proteinuria o edema. Dichos parámetros incluyen, pero sin limitación, determinar 1) el nivel de un polipéptido implicado en la etiología del síndrome nefrótico y de afecciones relacionadas, tal como, pero sin limitación, Angptl4 y 2) determinar el nivel de excreción de proteínas, ya sea totales o con respecto a componentes específicos.

En una realización, tal ensayo de exploración puede realizarse, por ejemplo, determinando el nivel de un polipéptido, tal como, pero sin limitación, Angptl4 y detectar una diferencia en el nivel de tal polipéptido en presencia de, en comparación con la ausencia de un compuesto de prueba. Dicho ensayo de exploración puede ser *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*, y puede basarse en un cultivo celular (ya sea con células completas o lisados) o puede basarse en un modelo animal. En el método anterior puede utilizarse cualquier ensayo de la presente divulgación.

Los compuestos de prueba adecuados para su uso en los métodos de exploración pueden obtenerse de cualquier fuente adecuada, tal como bibliotecas de compuestos convencionales. Los compuestos de prueba pueden obtenerse también utilizando cualquiera de las numerosas estrategias en los métodos de bibliotecas combinatorias conocidos en la técnica, incluyendo: bibliotecas biológicas, bibliotecas de fase sólida o de fase en solución paralelas direccionables de forma espacial, métodos de bibliotecas sintéticas que requieren desconvolución, el método de biblioteca de "una perla, un compuesto" y métodos de bibliotecas sintéticas que utilizan selección por cromatografía de afinidad. La estrategia de biblioteca biológica se limita a bibliotecas peptídicas, mientras que las otras cuatro estrategias son aplicables a bibliotecas de compuestos peptídicos, de oligómeros no peptídicos o de moléculas pequeñas. Los ejemplos de métodos para la síntesis de bibliotecas moleculares pueden encontrarse en la técnica. Las bibliotecas de compuestos pueden presentarse en solución o sobre perlas, bacterias, esporas, plásmidos o fagos.

La presente descripción también proporciona kits para llevar a cabo cualquier método de la presente divulgación, que pueden contener cualquiera de los compuestos y/o composiciones divulgados en el presente documento o útiles de otra manera para la práctica de un método de la divulgación.

Creación y selección de derivados de polipéptido Angptl4

La proteína relacionada con la angiopoyetina 4 es un polipéptido que en los seres humanos está codificado por el gen *ANGPTL4*. Este gen es un miembro de la familia génica de angiopoyetina/similar a angiopoyetina y codifica una proteína secretada glucosilada, con una secuencia señal N-terminal (restos de aminoácidos 1-22 de la SEQ ID NO: 1), un dominio de súper hélice (restos de aminoácidos 23-170 de la SEQ ID NO: 1), una región enlazadora (restos de aminoácidos 171-185 de la SEQ ID NO: 1) y un dominio C-terminal de fibrinógeno (restos de aminoácidos 186-406 de la SEQ ID NO: 1). Este gen se induce en células endoteliales en condiciones de hipoxia y es la diana de los activadores de la proliferación de peroxisomas. La proteína codificada es una hormona sérica implicada de forma directa en la regulación de la homeostasis de la glucosa, el metabolismo de los lípidos y la sensibilidad a la insulina, y también actúa como un factor de supervivencia de la apoptosis para las células endoteliales vasculares. Se han descrito variantes de transcritos cortados y empalmados de forma alternativa que codifican distintas isoformas. Este gen se ha denominado anteriormente *ANGPTL2* pero se lo ha renombrado *ANGPTL4*.

*Angptl4* inhibe a LPL rompiendo la molécula dimérica de LPL. *Angptl4* se ha establecido sin ambigüedad como un inhibidor potente de la depuración de triglicéridos (TG) del plasma sanguíneo, provocando la elevación de los niveles de TG plasmáticos. La evidencia reciente indica que las variaciones de la secuencia del polipéptido *Angptl4* afectan el efecto sobre los triglicéridos, con determinadas mutaciones que confieren niveles reducidos de triglicéridos que implican una inhibición disminuida de la LPL (33 y 34, cada una de las cuales se incorpora como referencia para la enseñanza de variantes de *Angptl4*). Además, se ha informado que los polipéptidos *Angptl4* existen en formas oligoméricas y que la oligomerización es necesaria para la inhibición de la actividad de la LPL. Una vez secretada a partir de la célula, la forma oligomérica se escinde en un sitio de escisión (R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de las SEQ ID NO: 1 y 3) para proporcionar formas monoméricas C-terminales y formas oligoméricas N-terminales (34). Se descubrió que los restos N-terminales 1-187 del péptido *Angptl4* eran suficientes para inhibir la LPL (33).

Las secuencias de aminoácidos y ADNc de ser humano, de rata y de ratón se proporcionan en la Fig. 5 y las SEQ ID NO: 1-8 designadas. La presente divulgación contempla el uso de polipéptidos y derivados de polipéptido *Angptl4* en los métodos divulgados en el presente documento, tales como, pero sin limitación, métodos de tratamiento y prevención. Como se define en el presente documento, un derivado de polipéptido *Angptl4* se refiere a un polipéptido *Angptl4* que incluye una o más inserciones, deleciones y/o sustituciones, según se determina a partir de la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos humanos mostrados en las SEQ ID NO: 1 o 3, o los polipéptidos mostrados en las SEQ ID NO: 5 o 7. En una realización, los restos de aminoácidos del polipéptido *Angptl4* de tipo silvestre se eliminan y reemplazan con restos de aminoácidos distintos. Las variantes pueden construirse como se describe en el presente documento o como se conoce en la técnica. Las variantes así construidas pueden evaluarse utilizando los métodos y ensayos descritos en el presente documento para explorar la actividad.

Cuando se usan en el presente documento, las letras únicas, cuando se usan para referirse a aminoácidos, tienen los siguientes significados:

G	Glicina	P	Prolina
A	Alanina	V	Valina
L	Leucina	I	Isoleucina

M	Metionina	C	Cisteína
F	Fenilalanina	Y	Tirosina
W	Triptófano	H	Histidina
K	Lisina	R	Arginina
Q	Glutamina	N	Asparagina
E	Ácido glutámico	D	Ácido aspártico
S	Serina	T	Treonina

En una realización, la variante comprende un cambio en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido Angptl4 que disminuye la capacidad de Angptl4 para inhibir la LPL o para ser resistente a la escisión. El cambio puede ser un reemplazo, delección y/o sustitución de uno o más restos en esta región. Dichos cambios se han descrito en la técnica (véanse las referencias 33 y 34, que se incorporan en el presente documento como referencia para tal enseñanza). En una realización, tales cambios se producen en los restos 1-187 con respecto a la SEQ ID NO: 1, o los restos 1-182 de la SEQ ID NO: 3. En una realización alternativa, tales cambios se producen en la posición 40 con respecto a las SEQ ID NO: 1, 3, 5 o 7, o las SEQ ID NOS: 1 o 3. En una realización, el aminoácido en la posición 40 (un resto de ácido glutámico cargado de forma negativa en Angptl4 de tipo silvestre) se reemplaza con un aminoácido neutro o un aminoácido cargado de forma positiva. En una realización particular, el cambio es una sustitución E40K. En otra realización particular, el cambio es una sustitución E40A. Se ha demostrado que las sustituciones E40K y E40A reducen la inhibición de la LPL por Angptl4, pero no interfieren con la expresión, secreción, procesamiento y otras funciones del polipéptido. En una realización particular adicional, el cambio en la posición 40 de las SEQ ID NO: 1 y 3 se selecciona de los mostrados a continuación en la Tabla 1. En aún otra realización, el aminoácido en la posición 39 (un resto de ácido aspártico cargado de forma negativa en Angptl4 de tipo silvestre) se reemplaza con un aminoácido neutro o un aminoácido cargado de forma positiva. En una realización, la sustitución es una sustitución D39K de una sustitución D39A. En una realización particular adicional, el cambio en la posición 39 de las SEQ ID NO: 1 y 3 se selecciona de los mostrados a continuación en la Tabla 1. En determinadas realizaciones, una variante de polipéptido puede contener uno de los cambios en la posición 40 mencionados anteriormente, uno de los cambios en la posición 39 mencionados anteriormente o una combinación de lo anterior. En una realización particular, el polipéptido contiene una sustitución D39K y una sustitución E40K, una sustitución D39A y una sustitución E40K, o una sustitución D39K y una sustitución E40A.

Tabla 1

Modificaciones de E <sub>40</sub> en la proteína Angptl4 humana								
G	P	V	L	I	M	C	F	Y
w	H	R	Q	N	S	T		

En otra realización, la variante comprende uno o más cambios en una región del polipéptido Angptl4 responsable de la escisión del polipéptido. En una realización, esta región es la región R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de Angptl4. El cambio puede ser un reemplazo, delección y/o sustitución de uno o más restos en esta región. Se ha demostrado que la región R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> es responsable de la escisión de las formas oligoméricas de Angptl4, liberando oligómeros de las secuencias N-terminales y monómeros de la secuencia C-terminal. Se demostró que las formas de Angptl4 con un sitio de escisión mutado se acumulan a niveles más altos en la circulación que el polipéptido de tipo silvestre. Además, impedir la escisión del polipéptido Angptl4 estabiliza las formas oligoméricas de Angptl4 observadas como eficaces en la presente divulgación. En una realización, se cambian los 4 restos de aminoácido de la región R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub>; en una realización alternativa, se cambian 1, 2 o 3 restos de aminoácido de la región R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub>. En una realización adicional, los restos de arginina en las posiciones 161, 162 o 164 están sustituidos independientemente con glicina, alanina, valina o serina, y el resto de lisina en la posición 163 se sustituye con glicina, alanina, valina o serina. En una realización específica, la secuencia de aminoácidos R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de las SEQ ID NO: 1 o 3 se reemplaza con G<sub>161</sub>AAG<sub>164</sub>; en una realización específica adicional, la secuencia de aminoácidos R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de las SEQ ID NO: 1 o 3 se reemplaza con G<sub>161</sub>SGS<sub>164</sub>. Las secuencias de aminoácidos ejemplares para el reemplazo de toda la región R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de las SEQ ID NO: 1 o 3 se proporcionan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Modificaciones de 161RRKR164 en la proteína Angptl4 humana								
GAAG	GA AV	GAVV	GVVV	GAAA	AAVV	VVVV	GSGS	GSGG
GAGA	GAVA	GVAV	VGVV	AGAA	AAVA	SSSS	GSSG	SGGG
GGAA	GVAA	GVVA	VVVG	AAAG	AAAV	GGGG	GGSS	GGSG

Modificaciones de 161RRKR164 en la proteína Angptl4 humana								
AGGA	AGVA	AGVV	VVGV	AAGA	AVAA	AAAA	SGSG	GGGS
AGAG	AGAV	AVVG			VAAA		SGGS	
AAGG	AAVG	AVGV			AVVV		SSGG	
	AAGV	VGAV			VAVV			
	AVAG	VGVA			VVVA			
	AVGA	VAGV			VVAV			
	VGAA	VAVG						
	VAAG	VVGA						
	VAGA	VVAG						

5 En una realización adicional, uno o más de los aminoácidos en la secuencia de aminoácidos R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de las SEQ ID NO: 1 o 3 se alteran para eliminar un sitio de unión consenso de una enzima capaz de escindir Angptl4, de forma que Angptl4 sea resistente a la escisión. En una realización, la enzima es una proproteína convertasa y el sitio de unión de consenso es RXKR, RXRR, RR o KR, en donde X es cualquier aminoácido. Al hacer tales alternancias, uno o más aminoácidos pueden deleccionarse o sustituirse con glicina, alanina, valina o serina, o con cualquiera de las otras sustituciones discutidas en el presente documento.

10 En aún una realización adicional, la variante comprende uno o más cambios en una región del polipéptido Angptl4 responsable de la oligomerización del polipéptido. En una realización, esta región es la región C<sub>76</sub> y/o C<sub>80</sub> de Angptl4. Se ha demostrado que la región C<sub>76</sub> y/o C<sub>80</sub> está implicada en la oligomerización del polipéptido Angptl4 (34, cuya referencia se incorpora en el presente documento para tal enseñanza). El cambio puede ser un reemplazo, delección y/o sustitución de uno o más restos en esta región. En una realización particular, está sustituido solo uno de los restos de cisteína en las posiciones 76 y 80; en una realización alternativa, están sustituidos ambos restos de cisteína en las posiciones 76 y 80. En una realización, al menos uno de los restos de cisteína en la posición 76 y 80 está sustituido independientemente con alanina o serina; en otra realización, ambos restos de cisteína están sustituidos con alanina o serina.

20 En una realización adicional, la variante comprende uno o más cambios en la región R<sub>161</sub>RKR<sub>164</sub> de Angptl4 que inhibe la escisión del oligómero del polipéptido Angptl4 y un cambio en la posición 40 que reduce la inhibición de la actividad de LPL por Angptl4. Está incluido cualquiera de los cambios analizados en el presente documento.

25 En una realización, la presente divulgación proporciona variantes de polipéptido Angptl4 que tienen la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 9 o 10. La SEQ ID NO: 9 se muestra en la Fig. 5 e incluye la secuencia de tipo silvestre de Angptl4 de la SEQ ID NO: 1, con la excepción de las sustituciones en las posiciones 39, 40, 76, 80 y 161-164 indicadas por X39, X40, X76, X80, X161, X162, X163 y X164, respectivamente. La SEQ ID NO: 10 se muestra en la Fig. 4 e incluye la secuencia de tipo silvestre de Angptl4 de la SEQ ID NO: 3, con la excepción de las sustituciones en las posiciones 39, 40, 76, 80 y 161-164 indicadas por X39, X40, X76, X80, X161, X162, X163 y X164, respectivamente.

30 En las SEQ ID NO: 9 y 10, X39 puede ser A, G, P, V, L, I, M, C, F, Y, W, H, R, Q, N, S, T o K. En una realización, X39 es un aminoácido neutro o cargado de forma positiva. En una realización adicional, X39 puede ser A o K. En otra realización adicional, X39 puede ser D.

35 En las SEQ ID NO: 9 y 10, X40 puede ser A, G, P, V, L, I, M, C, F, Y, W, H, R, Q, N, S, T o K. En una realización, X40 es un aminoácido neutro o cargado de forma positiva. En una realización adicional, X40 puede ser A o K. En otra realización adicional, X40 puede ser E. En aún otra realización, X40 puede ser E cuando X39 no es D, y X39 puede ser D cuando X40 no es E.

40 En las SEQ ID NO: 9 y 10, puede sustituirse al menos uno de X76 y X80. En una realización, X76 y X80 son independientemente A o S o C. En una realización, uno de X76 y X80 puede ser A o S, y el otro de X76 y X80 es C. En una realización adicional, X76 y X80 pueden ser independientemente A o S. En otra realización adicional, X76 y X80 pueden ser C.

45 En las SEQ ID NO: 9 y 10, puede sustituirse al menos uno de X161, X162, X163 y X164. En una realización, están sustituidos los 4 de X161, X162, X163 y X164; en una realización alternativa se sustituye 1, 2 o 3 de X161, X162, X163 y X164. En una realización adicional, X161, X162, X163 y X164 son independientemente D, R, K, G, A, V o S. En aún una realización adicional, los 4 están sustituidos con las combinaciones indicadas en la Tabla 2.

La presente divulgación contempla combinaciones de lo anterior en cualquier forma. Además, los residuos designados en las SEQ ID NO: 9 y 10 pueden sustituirse con sustituciones de aminoácido conservativas como se designa en la Tabla 3, o con restos que tienen una diferencia en el índice hidropático de +/- 1 o menos, o con restos que tienen una diferencia en los valores de hidrofiliidad de +/- 1, o menos.

5 En una realización, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es A o K, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub>, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3. En otra realización, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es A o K, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> se seleccionan de las combinaciones mostradas en la Tabla 2. En otra realización  
10 más, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es A o K, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> son GSGS o GAAG.

En una realización adicional, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es A o K, uno de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es A o S, y el otro de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub>, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3. En una realización  
15 adicional, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es A o K, uno de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es A o S, y el otro de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> se seleccionan de las combinaciones mostradas en la Tabla 2. En aún una realización adicional, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es A o K, uno de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es A o S, y el otro de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> son GSGS o GAAG.

En una realización, X<sub>39</sub> es A o K, X<sub>40</sub> es E, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub>, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3. En otra realización, X<sub>39</sub> es A o K, X<sub>40</sub> es E, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> se seleccionan de las combinaciones mostradas en la Tabla 2. En otra realización  
20 más, X<sub>39</sub> es A o K, X<sub>40</sub> es E, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> son GSGS o GAAG.

En una realización, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es K, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub>, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3. En otra realización, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es K, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> se seleccionan de las combinaciones mostradas en la Tabla 2. En otra realización más, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es K, X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> son C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> son GSGS o GAAG.  
25

En una realización, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es K, uno de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es A o S, y el otro de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub>, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3. En otra realización, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es K, uno de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es A o S, y el otro de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> se seleccionan de las  
30 combinaciones mostradas en la Tabla 2. En otra realización más, X<sub>39</sub> es D, X<sub>40</sub> es K, uno de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es A o S, y el otro de X<sub>76</sub> y X<sub>80</sub> es C, y X<sub>161</sub>, X<sub>162</sub>, X<sub>163</sub> y X<sub>164</sub> son GSGS o GAAG.  
35

En una realización, el derivado de Angptl4 está basado en un fragmento de Angptl4. Los fragmentos adecuados incluyen cualquier fragmento que retenga la actividad de Angptl4 de tipo silvestre o cualquier fragmento de 100 o más aminoácidos consecutivos. En una realización, tal fragmento está basado en los aminoácidos 1-187 de la SEQ ID NO: 1 o los aminoácidos 1-182 de la SEQ ID NO: 3. Dichos fragmentos pueden tener las sustituciones de aminoácidos descritas en los párrafos precedentes.  
40

El derivado de polipéptido Angptl4 puede tener una actividad que es comparable o está aumentada (en una realización, el 50 % o más) en comparación con la actividad del polipéptido Angptl4 de tipo silvestre; como alternativa, el derivado de polipéptido Angptl4 puede tener una actividad que está disminuida (en una realización, menos del 50 % o más) en comparación con la actividad del polipéptido Angptl4 de tipo silvestre. En una realización específica, el derivado del polipéptido Angptl4 tiene una capacidad disminuida para inhibir la LPL y muestra una resistencia aumentada a la escisión.  
45

Las delecciones, adiciones y sustituciones pueden seleccionarse, como sabría un experto en la materia, para generar un derivado de polipéptido Angptl4 deseado. Por ejemplo, se espera que se toleren sustituciones conservativas o sustituciones de aminoácidos con propiedades similares. Además, las delecciones, inserciones y sustituciones específicas pueden afectar, de forma positiva o negativa, a una determinada actividad de polipéptido Angptl4 pero no afectar a una actividad de polipéptido Angptl4 distinta.  
50

Las modificaciones conservativas de la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o 3 o 5 o 7, que incluyen combinaciones de las mismas (y las modificaciones correspondientes de los nucleótidos codificantes) producirán derivados de polipéptido Angptl4 que tienen características funcionales y químicas similares a las de los polipéptidos Angptl4 de origen natural, mientras se minimizan las propiedades indeseables tales como la actividad inhibidora de la LPL. Por el contrario, se pueden lograr modificaciones sustanciales en las características funcionales y/o químicas de los polipéptidos Angptl4 seleccionando sustituciones en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o 3 o 5 o 7, incluyendo combinaciones de las mismas, que difieren significativamente en su efecto sobre el mantenimiento (a) de la estructura del esqueleto molecular en el área de la sustitución.  
55

60

65

Por ejemplo, una "sustitución de aminoácido conservativa" puede implicar una sustitución de un resto de aminoácido nativo con un resto no nativo, de forma que haya poco o ningún efecto sobre la polaridad o carga del resto de aminoácido en esa posición. Además, cualquier resto nativo en el polipéptido también puede sustituirse con alanina.

5 Las sustituciones de aminoácidos conservativas también abarcan restos de aminoácidos que no son de origen natural que normalmente se incorporan por síntesis química de péptidos en lugar de por síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas inversas o invertidas de fracciones de aminoácidos. Los expertos en la materia apreciarán que las moléculas de ácido nucleico y de polipéptido descritas en el presente documento pueden sintetizarse químicamente así como producirse por medios recombinantes.

10 Los restos de origen natural pueden dividirse en clases basándose en las propiedades comunes de la cadena lateral: 1) hidrófobos: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile; 2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; 3) ácidos: Asp, Glu; 4) básicos: His, Lys, Arg; 5) restos que influyen sobre la orientación de la cadena: Gly, Pro; y (6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

15 Por ejemplo, las sustituciones no conservativas pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase. Dichos restos sustituidos pueden introducirse en regiones de los derivados de polipéptido Angptl4 que son homólogos con ortólogos del polipéptido Angptl4 no humano, o en las regiones no homólogas de la molécula.

20 Al hacer tales cambios, puede considerarse el índice hidropático de los aminoácidos. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático en función de sus características de hidrofobicidad y carga, estos son: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptófano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); y arginina (-4,5).

25 Se entiende en la técnica la importancia del índice hidropático de aminoácidos para conferir función biológica interactiva a una proteína (Kyte *et al.*, J. Mol. Biol., 157:105-131, 1982). Se sabe que determinados aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tengan un índice o puntuación hidropática similar y aún conservar una actividad biológica similar.

30 Al hacer cambios basados en el índice hidropático, puede utilizarse la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de +/- 2; en una realización alternativa, los índices hidropáticos son con +/- 1; en aún otra realización alternativa, los índices hidropáticos están dentro de +/- 0,5.

35 También se entiende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares puede hacerse de forma eficaz basándose en la hidrofiliidad. La mayor hidrofiliidad local promedio de un polipéptido según se rige por la hidrofiliidad de sus aminoácidos adyacentes, se correlaciona con una propiedad biológica de la proteína.

40 Se han asignado a los restos de aminoácido los siguientes valores de hidrofiliidad: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0,+,-,1); glutamato (+3,0,+,-,1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5,+,-,1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptófano (-3,4).

45 Al hacer cambios basados en valores de hidrofiliidad similares, puede utilizarse la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliidad están dentro de +/- 2; en una realización alternativa, los valores de hidrofiliidad son con +/- 1; en aún otra realización alternativa, los valores de hidrofiliidad están dentro de +/- 0,5.

50 Los expertos en la materia pueden determinar las sustituciones de aminoácidos deseadas (ya sean conservativas o no conservativas) en el momento en que tales sustituciones se desean. Por ejemplo, las sustituciones de aminoácidos se pueden usar para identificar restos importantes del polipéptido Angptl4 o para aumentar o disminuir la afinidad del polipéptido Angptl4 con una diana de unión particular, para aumentar o disminuir una actividad del polipéptido Angptl4.

55 Las sustituciones de aminoácidos ejemplares se exponen en la Tabla 3.

Tabla 3		
Aminoácido original	Sustitución ejemplar	Sustitución preferente
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Glu	Glu

Tabla 3		
Aminoácido original	Sustitución ejemplar	Sustitución preferente
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina	Leu
Leu	Ile, Val, Met, Ala, Phe, Norleucina	Ile
Lys	Arg, ácido 1,4-diaminobutírico, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala, Gly	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucina	Leu

Un experto en la materia tendrá la capacidad de determinar variantes adecuadas del polipéptido como se expone en cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o 3 o 5 o 7, incluyendo combinaciones de las mismas, utilizando técnicas bien conocidas. Para identificar áreas adecuadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir la actividad, un experto en la materia puede tener como objetivo áreas que no se cree que sean importantes para la actividad. Por ejemplo, cuando se conocen polipéptidos similares con actividades similares de la misma especie o de otras especies, un experto en la materia puede comparar la secuencia de aminoácidos de un polipéptido Angptl4 con tales polipéptidos similares. Con tal comparación, se pueden identificar restos y porciones de las moléculas que están conservadas entre polipéptidos similares. Se apreciará que los cambios en las áreas de un polipéptido Angptl4 que no están conservados con respecto a tales polipéptidos similares tendrían menos probabilidades de afectar de forma desfavorable la actividad biológica y/o estructura del polipéptido Angptl4. Un experto en la materia también sabría que, incluso en regiones relativamente conservadas, se pueden sustituir aminoácidos similares desde el punto de vista químico por restos de origen natural mientras se conserva la actividad (sustituciones de restos de aminoácido conservativas). Por lo tanto, incluso las áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para la estructura pueden estar sujetas a sustituciones de aminoácidos conservativas sin destruir la actividad biológica o sin afectar de forma desfavorable la estructura del polipéptido.

De forma adicional, un experto en la materia puede revisar estudios de estructura-función que identifiquen restos en polipéptidos similares que sean importantes para la actividad o estructura. A la vista de tal comparación, se puede predecir la importancia de los restos de aminoácido en un polipéptido Angptl4 que corresponden a restos de aminoácido que son importantes para la actividad o estructura en polipéptidos similares. Un experto en la materia puede optar por sustituciones de aminoácidos similares desde el punto de vista químico para tales restos de aminoácido importantes predichos de un polipéptido Angptl4.

Un experto en la materia también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con esa estructura en polipéptidos similares. A la vista de tal información, un experto en la materia puede predecir el alineamiento de los restos de aminoácido de un polipéptido Angptl4 con respecto a su estructura tridimensional. Un experto en la materia puede elegir no hacer cambios radicales en los restos de aminoácido que se predice que están en la superficie de la proteína, dado que tales restos pueden estar implicados en interacciones importantes con otras moléculas. Además, un experto en la materia puede generar derivados de polipéptido Angptl4 de prueba que contengan una única sustitución de aminoácido en cada resto de aminoácido deseado. Después, los derivados pueden explorarse utilizando ensayos de actividad conocidos para los expertos en la materia y como se divulgan en el presente documento. Dichos derivados podrían utilizarse para reunir información acerca de una sustitución adecuada. Por ejemplo, si se descubre que un cambio en un resto de aminoácido particular da como



resultado una actividad destruida, reducida de forma inconveniente o inadecuada, se evitarían derivados con tal cambio. En otras palabras, a base de la información reunida a partir de tales experimentos rutinarios, un experto en la materia puede determinar fácilmente los aminoácidos en donde se deben evitar sustituciones adicionales, ya sea solas o en combinación con otras mutaciones.

Se han dedicado numerosas publicaciones científicas a la predicción de la estructura secundaria a partir de análisis de secuencias de aminoácidos (véase Chou *et al.*, *Biochemistry*, 13(2):222-245, 1974; Chou *et al.*, *Biochemistry*, 113(2):211-222, 1974; Chou *et al.*, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 47:45-148, 1978; Chou *et al.*, *Ann. Rev. Biochem.*, 47:251-276, 1979; y Chou *et al.*, *Biophys. J.*, 26:367-384, 1979). Además, actualmente están disponibles programas informáticos para ayudar a predecir la estructura secundaria de polipéptidos. Los ejemplos incluyen los programas basados en el análisis de Jameson-Wolf (Jameson *et al.*, *Comput. Appl. Biosci.*, 4(1):181-186, 1998; y Wolf *et al.*, *Comput. Appl. Biosci.*, 4(1):187-191; 1988), y el programa PepPlot.RTM. (Brutlag *et al.*, *CABS*, 6:237-245, 1990; y Weinberger *et al.*, *Science*, 228:740-742, 1985), y otros programas nuevos para la predicción de la estructura terciaria de las proteínas (Fetrow. *et al.*, *Biotechnology*, 11:479-483, 1993).

Además, actualmente están disponibles programas informáticos para ayudar a predecir una estructura secundaria. Un método para predecir la estructura secundaria está basado en el modelado de homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia mayor del 30 % o una similitud mayor del 40 %, a menudo tienen topologías estructurales similares. El reciente crecimiento de la base de datos de estructuras de proteínas (PDB, forma siglada de *protein structural data base*) ha proporcionado una predictibilidad potenciada de la estructura secundaria, incluyendo el posible número de pliegues dentro de la estructura de un polipéptido o proteína (véase Holm *et al.*, *Nucl. Acid. Res.*, 27(1):244-247, 1999).

Los métodos adicionales para predecir la estructura secundaria incluyen el "enhebrado" (Jones, D., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7(3):377-87, 1997; Suppl *et al.*, *Structure*, 4(1):15-9, 1996), "análisis de perfil" (Bowie *et al.*, *Science*, 253:164-170, 1991; Gribskov *et al.*, *Meth. Enzym.*, 183:146-159, 1990; y Gribskov *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 84(13): 4355-4358, 1987), y "vinculación evolutiva" (véase, Home, citado anteriormente y Brenner, citado anteriormente).

Cualquiera de las formas de polipéptido analizadas en el presente documento puede contener también una secuencia útil en la identificación o purificación del polipéptido; un ejemplo de tal secuencia es la etiqueta V5 C-terminal. Lo anterior también incluye secuencias de ácido nucleico (tales como, pero sin limitación, secuencias de ADNc) que codifican tales polipéptidos, que incluyen derivados de polipéptido como se describe en este documento.

### Composiciones

Las composiciones útiles de la presente divulgación pueden comprender uno o más polipéptidos de la presente divulgación útiles en los métodos de tratamiento y prevención de la presente divulgación; las composiciones útiles también incluyen uno o más ácidos nucleicos que codifican uno o más polipéptidos de la presente divulgación útiles en los métodos de tratamiento y prevención de la presente divulgación. Las composiciones divulgadas pueden comprender uno o más de tales compuestos, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de tales vehículos y métodos de formulación pueden encontrarse en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, (20° ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Daniel Limmer, editor). Para formar una composición farmacéuticamente aceptable adecuada para administración, tales composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto.

Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden utilizarse en los métodos de tratamiento y prevención de la presente divulgación. Dichas composiciones se administran a un sujeto en cantidades suficientes para suministrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto (o compuestos) para ser eficaz en los métodos de tratamiento y prevención descritos en el presente documento. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar de acuerdo con una diversidad de factores tales como, pero sin limitación, el estado del sujeto, el peso, el sexo y la edad. Otros factores incluyen el modo y el sitio de la administración. Las composiciones farmacéuticas pueden proporcionarse al sujeto por cualquier método conocido en la técnica. Las vías de administración ejemplares incluyen, pero sin limitación, la subcutánea, la intravenosa, la tópica, la epicutánea, la oral, la intraósea y la intramuscular. Las composiciones de la presente divulgación pueden administrarse solo una vez al sujeto o más de una vez al sujeto. Además, cuando las composiciones se administran al sujeto más de una vez, puede utilizarse una diversidad de pautas, tal como, pero sin limitación, una vez por día, una vez por semana o una por mes. Las composiciones también pueden administrarse al sujeto más de una vez por día. La cantidad terapéuticamente eficaz y las pautas de dosificación apropiadas pueden identificarse mediante pruebas de rutina, para obtener una actividad óptima, mientras se minimiza cualquiera de los posibles efectos secundarios. Además, puede ser conveniente la coadministración o la administración secuencial de otros agentes.

Las composiciones de la presente divulgación se pueden administrar por vía sistémica, tal como mediante administración intravenosa, o por de forma local tal como mediante inyección subcutánea o mediante la aplicación de una pasta o crema.

En una realización, se proporciona un ácido nucleico, que puede estar en forma de un plásmido o vector adecuado, que codifique un polipéptido Angptl4 o una variante de polipéptido Angptl4 de la presente divulgación. Dicho ácido nucleico se introduce en una célula, que puede obtenerse del sujeto, por métodos adecuados conocidos en la técnica (por ejemplo, electroporación). En una realización, la célula es un adipocito. Las células pueden ensayarse para la expresión del polipéptido o derivado de polipéptido Angptl4 (en una realización, la expresión del polipéptido puede determinarse por la presencia de una etiqueta en el polipéptido, como se analiza en el presente documento). Después, las células que expresan un polipéptido Angptl4 de un derivado de polipéptido pueden introducirse en el sujeto. En una realización, las células se administran al sujeto mediante inyección subcutánea; también pueden utilizarse otros métodos de administración, incluyendo los analizados en el presente documento. Después, las células expresan el polipéptido Angptl4 o un derivado del polipéptido Angptl4, el cual se recoge en la circulación.

Las composiciones de la presente divulgación pueden comprender adicionalmente agentes que mejoren la solubilidad, la semivida, la absorción, etc., del compuesto (o compuestos). Además, las composiciones de la presente divulgación pueden comprender adicionalmente agentes que atenúen los efectos secundarios indeseables y/o disminuyan la toxicidad del compuesto (o compuestos). Los ejemplos de tales agentes se describen en una diversidad de textos, tal como, pero sin limitación, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (20° ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Daniel Limmer, editor).

Las composiciones de la presente divulgación se pueden administrar en una amplia diversidad de formas farmacéuticas para la administración. Por ejemplo, las composiciones pueden administrarse en formas tal como, pero sin limitación, de comprimidos, cápsulas, sobrecitos, pastillas para chupar, trociscos, píldoras, polvos, gránulos, elixires, tinturas, soluciones, suspensiones, elixires, jarabes, ungüentos, cremas, pastas, emulsiones o soluciones para administración intravenosa o inyección. Otras formas de dosificación incluyen administración por vía transdérmica, a través de un mecanismo de parche o pomada. Cualquiera de los anteriores puede modificarse para proporcionar formulaciones de liberación temporizada y/o de liberación sostenida.

En la presente divulgación, las composiciones farmacéuticas pueden comprender adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable, incluidos, pero sin limitación, vehículos, adyuvantes, tensioactivos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, rellenos inertes, diluyentes, excipientes, agentes humectantes, aglutinantes, lubricantes, agentes tamponadores, agentes disgregantes y vehículos, así como agentes accesorios, tal como, pero sin limitación, agentes colorantes y agentes aromatizantes (denominados colectivamente en el presente documento como un vehículo). Normalmente, el vehículo farmacéuticamente aceptable es químicamente inerte para los compuestos activos y no tiene efectos secundarios perjudiciales o toxicidad en las condiciones de uso. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden incluir polímeros y matrices poliméricas. La naturaleza del vehículo farmacéuticamente aceptable puede diferir dependiendo de la forma de dosificación particular empleada y de otras características de la composición.

Por ejemplo, para la administración oral en forma sólida, tales como, pero sin limitación, de comprimidos, cápsulas, sobrecitos, pastillas para chupar, trociscos, píldoras, polvos o gránulos, el compuesto (o compuestos) puede combinarse con un vehículo oral inerte no tóxico farmacéuticamente aceptable, tal como, pero sin limitación, rellenos inertes, aglutinantes adecuados, lubricantes, agentes disgregantes y agentes accesorios. Los aglutinantes adecuados incluyen, pero sin limitación, almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas farmacéuticas incluyen, pero sin limitación, oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, pero sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Las formas en comprimido pueden incluir una o más de los siguientes: lactosa, sacarosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico, celulosa microcristalina, goma arábiga, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa de sodio, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, ácido esteárico así como los otros vehículos descritos en el presente documento. Las formas de pastillas para chupar pueden comprender el principio activo en un sabor, habitualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto, así como pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga, emulsiones y geles que contengan, además del principio activo, tales vehículos son conocidos en la técnica.

Para formas orales líquidas, tales como, pero sin limitación, tinturas, soluciones, suspensiones, elixires, jarabes, las moléculas de ácido nucleico de la presente divulgación pueden disolverse en diluyentes, tal como agua, solución salina o alcoholes. Además, las formas orales líquidas pueden comprender agentes de suspensión o dispersión adecuadamente aromatizados tal como las gomas sintéticas y naturales, por ejemplo, tragacanto, goma arábiga, metilcelulosa y similares. Además, cuando se desee o sea necesario, también pueden incorporarse a la mezcla agentes colorantes adecuados y otros agentes accesorios. Otros agentes de dispersión que pueden emplearse incluyen glicerina y similares.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del paciente, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir

agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. El compuesto (o compuestos) puede administrarse en un diluyente fisiológicamente aceptable, tal como un líquido estéril o una mezcla de líquidos, incluyendo agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, un alcohol, tal como etanol, isopropanol o alcohol hexadecílico, glicoles, tal como propilenglicol o polietilenglicol, tal como poli(etilenglicol) 400, glicerol cetales, tal como 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, éteres, un aceite, un ácido graso, un éster de ácido graso o glicérido, o un glicérido de ácido graso acetilado con o sin la adición de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable, tal como, pero sin limitación, un jabón, un aceite o un detergente, un agente de suspensión, tal como, pero sin limitación, pectina, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa, o agentes emulsionantes y otros adyuvantes farmacéuticos.

Aceites, que pueden utilizarse en formulaciones parenterales, incluyendo petróleo, aceites animales, vegetales o sintéticos. Los ejemplos específicos de aceites incluyen de cacahuete, de soja, de sésamo, de semilla de algodón, de maíz, de oliva, vaselina y aceite mineral. Los ácidos grasos adecuados para su uso en las formulaciones parenterales incluyen ésteres de ácido graso de polietileno sorbitán, tales como monooleato de sorbitán y aductos de óxido de etileno con una base hidrófoba, formado por la condensación de óxido de propileno con propilenglicol, ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico. El etil oleato y el isopropil miristato son ejemplos de ésteres de ácidos grasos adecuados. Los jabones adecuados para su uso en formulaciones parenterales incluyen metales alcalino grasos, amonio y sales de trietanolamina, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetildialquilamonio y haluros de alquilpiridinio, (b) detergentes aniónicos, tales como, por ejemplo, sulfonatos de alquilo, arilo y olefina, sulfatos de alquilo, de olefina, de éter y de monoglicérido, y sulfosuccinatos, (c) detergentes no iónicos tales como, por ejemplo, óxidos de amina grasa, alcanolamidas de ácido graso y copolímeros de polioxietileno polipropileno, (d) detergentes anfotéricos tales como, por ejemplo, alquilaminopropionatos y sales de amonio cuaternarias de 2-alquilimidazolina, y (e) mezclas de los mismos.

Pueden utilizarse en tales formulaciones conservantes y tampones adecuados. Con el fin de minimizar o eliminar la irritación en el sitio de la inyección, tales composiciones pueden contener uno más tensioactivos no iónicos que tengan un equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB, del inglés *hydrophile-lipophile balance*) preferentemente de aproximadamente 12 a aproximadamente 17. La cantidad de tensioactivo en tales formulaciones varía preferentemente de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 15 % en peso.

Las formas farmacéuticas tópicas, tal como, pero sin limitación, ungüentos, cremas, pastas, emulsiones, que contienen la molécula de ácido nucleico de la presente divulgación, pueden combinarse con una diversidad de materiales vehículos muy conocidos en la técnica, tal como, por ejemplo, alcoholes, gel de aloe vera, alantoína, glicerina, aceites de vitamina A y E, aceite mineral, PPG2 miristil propionato, y similares, para formar soluciones alcohólicas, jabones de uso externo, cremas de limpieza, geles para la piel, lociones para la piel y champús en formulaciones en crema o en gel. También se puede utilizar la incorporación de un exfoliante para la piel o una preparación abrasiva dérmica. Tales preparaciones tópicas se pueden aplicar a un parche, vendos o apósitos para el suministro dérmico o pueden aplicarse a una venda o apósito para el suministro de forma directa al sitio de una herida o lesión cutánea.

El compuesto (o compuestos) de la presente divulgación también puede administrarse en forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas. Dichos liposomas también pueden contener anticuerpos monoclonales para el suministro directo del liposoma a un tipo celular particular o grupo de tipos celulares.

El compuesto (o compuestos) de la presente divulgación también puede acoplarse con polímeros solubles como vehículos farmacológicos direccionables. Dichos polímeros pueden incluir, pero sin limitación, polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropil metacrilamidafenol, polihidroxietil aspartamidafenol o polietileno xipolilisina sustituida con restos palmitoílo. Además, los compuestos de la presente invención pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque de hidrogeles reticulados o anfipáticos.

## RESULTADOS

En los siguientes resultados, los métodos utilizados fueron los métodos especificados en la sección Métodos de la presente divulgación y las referencias citadas en la misma. Algunos de los siguientes resultados se describen en Clement LC *et. al.*, Podocyte secreted Angiopoietin-like 4 mediates proteinuria in glucocorticoid-sensitive nephrotic syndrome, Nature Medicine, enero de 2011 (esta referencia se incorpora en el presente documento como referencia para la divulgación contenida en el mismo con respecto al uso de polipéptidos Angptl4).

### Los pacientes con síndrome nefrótico tienen niveles aumentados de Angptl4 en circulación

Los pacientes con síndrome nefrótico tienen niveles aumentados de polipéptido Angptl4 en circulación. Se analizaron 200 µg de plasma humano de pacientes (n = 4 pacientes/grupo) con NCM y NM diagnosticadas y

pacientes con recaída de NCM, por electroforesis en gel bidimensional y se prepararon transferencias de Western utilizando anticuerpos anti-Angptl4 (Fig. 1A). La Fig. 1A muestra que solo los pacientes con recaída de NCM y NM tenían niveles aumentados de Angptl4 (indicado por flechas). Esta forma de Angptl4 existe como una forma de pl neutro y está presente como monómeros y oligómeros.

#### Las ratas aP2-Angptl4 TG tienen niveles de Angptl4 en circulación aumentados

Se desarrolló un modelo de rata transgénica para la sobreexpresión de Angptl4 específica de adipocitos, y se muestra en la Fig. 1B (aP2-Angptl4 TG). El análisis de la expresión de ARNm en órganos que normalmente expresan Angptl4 confirmó la especificidad de expresión, detectándose Angptl4 en tejido adiposo pardo (TAP) y tejido adiposo blanco (TAB) (Fig. 1C).

La electroforesis en gel bidimensional de 200 µg de plasma, seguido de transferencia de Western utilizando un anticuerpo anti-Angptl4 reveló que las ratas aP2-Angptl4 TG heterocigotas tenían niveles de Angptl4 en circulación más altos que las ratas de tipo silvestre (Fig. 1D) (edad, 3 meses, n = 3 transferencias/grupo). La Fig. 1E muestra una electroforesis en gel bidimensional de 200 µg de plasma, seguido de transferencia de Western utilizando anticuerpos anti-Angptl4 y anti-V5, muestra la presencia de Angptl4 etiquetada con V5 secretada en tejido adiposo en el plasma de las ratas aP2-Angptl4 TG. Electroforesis en gel bidimensional de Angptl4 inmunoprecipitada a partir de plasma de rata aP2-Angptl4 TG (utilizando un anticuerpo específico para el extremo N-terminal de Angptl4), seguido de transferencia de Western utilizando anti-Angptl4 o anti-lectina. Los anticuerpos para SNA I revelaron la presencia del polipéptido Angptl4 sialilado en la circulación.

Las ratas aP2-Angptl4 TG tenían glomérulos morfológicamente normales por microscopía óptica (Fig. 1G) y electrónica (no mostrado), y la expresión glomerular de Angptl4 no estaba modificada. Esto está en contraste con la expresión de Angptl4 específica de podocitos, donde dicha expresión dio como resultado defectos glomerulares, incluyendo el desarrollo progresivo del borramiento de los procesos podales entre los uno a cinco meses de edad (véase la Solicitud provisional de los Estados Unidos N.º 61/351.865 (presentada el 5 de junio de 2010), que se incorpora en el presente documento como referencia para tal enseñanza).

La ME de inmuno oro que usa anticuerpo anti-V5 para detectar de forma específica la proteína expresada por el transgén en ratas aP2-Angptl4 TG macho heterocigóticas de 3 meses de edad demostró la detección selectiva en la superficie endotelial, lo que indica que los oligómeros de Angptl4 de orden medio y alto en circulación no entran en GBM (forma siglada de *glomerular basement membrane*, membrana basal glomerular) y tienen receptores en la superficie endotelial. Los efectos de Angptl4 en circulación son relevantes para el síndrome nefrótico tanto humano como experimental, dado que la regulación por aumento de Angptl4 del tejido adiposo se observa en las últimas fases del síndrome nefrótico, cuando la proteinuria está descendiendo.

#### Relación de los niveles en circulación aumentados de Angptl4 con proteinuria y albuminuria

Para examinar la relación entre los niveles de Angptl4 en circulación con la proteinuria, incluyendo la albuminuria, se analizó la proteinuria en ratas aP2-Angptl4 TG. La Fig. 2A muestra que las aP2-Angptl4 TG no presentan proteinuria, según se determina por análisis de proteínas urinarias. En la Fig. 2A se analizaron las proteínas urinarias por SDS PAGE teñido con azul elCode (3 µg/calle, excepto en la NCM remisión) (se proporcionan las lecturas de densitometría debajo de cada calle). La banda de albúmina intacta se observa en 70 kDa (indicado por una flecha). Como se puede observar, las ratas de TS, las ratas aP2-Angptl4 TG y los pacientes de NCM en remisión mostraron poca o ninguna albúmina intacta en las muestras urinarias analizadas, en las que las ratas NPHS2-Angptl4 TG (un modelo transgénico de rata que tiene expresión de Angptl4 específica en podocitos y ha demostrado que desarrollan NCM con proteinuria; véase la Solicitud Provisional de Estados Unidos N.º, que se incorpora en el presente documento como referencia para tal enseñanza), la recaída de NCM, recaída de NM y las ratas PAN (un modelo de rata de síndrome nefrótico) mostraron una fuerte tinción de albúmina indicativa de albuminuria. La Fig. 2B muestra que las ratas TG aP2-Angptl4 hembras heterocigotas tenían una albuminuria disminuida en comparación con los controles de compañeras de camada de TS. La Fig. 2C muestra los mismos resultados para las ratas TG aP2-Angptl4 machos heterocigotas. La Fig. 2D muestra que las ratas aP2-Angptl4 TG presentaron una proteinuria reducida en la nefrosis por puromicina (modelo PAN; un modelo de rata de síndrome nefrótico) en comparación con sus compañeras de camada de TS. Como se demuestra anteriormente, las ratas aP2-Angptl4 TG tienen niveles en circulación más altos de Angptl4, que migra o está alrededor de punto isoeléctrico neutro, y está sialilada. Estos resultados muestran un papel para la Angptl4 en circulación en la reducción de la proteinuria y el síndrome nefrótico.

Dada la unión al endotelio de la Angptl4 secretada en el tejido adiposo, unida al tejido glomerular, se realizaron experimentos para determinar el efecto de Angptl4 recombinante sobre células epiteliales glomerulares (las GEnC), para investigar si la menor albuminuria basal y la proteinuria menos inducida por PAN en este modelo de rata estaban mediadas por la protección del endotelio glomerular. Las GEnC se sometieron a daño oxidativo por la adición de peróxido de hidrógeno, en el medio de cultivo, y se incubaron con sobrenadante concentrado (600 µg/pocillo) de la línea celular estable de control, de la línea celular Angptl4-HEK293 (que secreta Angptl4 hiposialilada con un punto isoeléctrico (pI) alto) o la línea celular Angptl4-HEK293 incubada con ManNAc (pI neutro, Angptl4 sialilada de forma normal, pI neutro). Cabe señalar que la forma de Angptl4 de pI alto se secreta en grandes

cantidades en podocitos en NCM. La liberación de LDH se evaluó como un marcador de daño celular. Las células de control sin daño por peróxido de hidrógeno recibieron una puntuación relativa de 1. La Angptl4 de pl alto aumentó el daño en las GENC, mientras que la Angptl4 de pl neutro (que comprende la mayor parte de la Angptl4 en circulación) fue significativamente protectora en todos los puntos de tiempo medidos. (n = 3 lecturas/condición).

La regulación por aumento de Angptl4 en las ratas de tipo silvestre en la PAN en el día 6 fue exclusivamente glomerular, mientras que en el día 10 se observó regulación por aumento en tejido adiposo, cuando la proteinuria y la expresión de Angptl4 glomerular están en descenso (n = 3 ratas / muestra) (Fig. 2F). Por lo tanto, los aumentos en los niveles de Angptl4 en circulación son coincidentes con el efecto protector de Angptl4 en circulación en el síndrome nefrótico y la reducción de la proteinuria. Es probable que los efectos de Angptl4 en circulación sean importantes para la NCM tanto humana como experimental, dado que la regulación por aumento de Angptl4 en el tejido adiposo se observa en las últimas fases de la PAN, cuando la proteinuria está en descenso. Además, los niveles en circulación aumentados de Angptl4 al inicio y después de la inducción de PAN en ratas aP2-Angptl4 TG dieron como resultado niveles de triglicéridos plasmáticos aumentados (Fig. 2G) y una actividad de lipoproteína lipasa posheparina reducida (Fig. 2H), en comparación con las ratas de tipo silvestre.

Para demostrar la eficacia del suministro terapéutico de Angptl4 en la circulación, se administró Angptl4 de tipo silvestre o una proteína de control a ratas Buffalo/Mna, un modelo de GEFS, o a ratas Wistar en las que se indujo nefritis Thy1.1, un modelo de daño mesangial a corto plazo (Fig. 4A y B). El polipéptido Angptl4 de tipo silvestre recombinante se generó recogiendo proteína recombinante. Se cultivaron las líneas celulares *Angptl4*-HEK293 estable o pcDNA3.1-HEK293 estables de control hasta la confluencia en placas de 15 cm, se lavaron dos veces con PBS tibio y se incubaron con DMEM sin suero y sin rojo Fenol, con o sin ManNAc 25 mM, durante 48 horas. Las células se recogieron y el sobrenadante se concentró. El sobrenadante concentrado de una placa de 15 cm se usó en cada punto temporal de inyección.

Las ratas Buffalo/Mna desarrollan de forma espontánea lesiones que imitan la GEFS humana a alrededor de los 2 meses de edad, incluyendo lesiones focales y segmentarias al microscopio óptico, el borramiento de los procesos podales de los podocitos al microscopio electrónico y la proteinuria. Las ratas desarrollan aumento progresivo de proteinuria a medida que envejecen. Las ratas utilizadas en los estudios anteriores eran machos de 5 meses de edad. La nefritis anti-Thy1.1 se indujo por la inyección de 150 µg de anti-Thy1.1 (hibridoma Ox-7) o IgG de control i.v. en distintos grupos de ratas Wistar macho (100-125 g, n=4 ratones/grupo).

En el modelo de rata Buffalo/Mna, la evaluación de la proteinuria basal se realizó el día 0. Se inyectaron Angptl4 o proteína de control por vía intraperitoneal en dos días consecutivos (días 1 y 2, flechas) en ratas Buffalo Mna (n=4 ratas/grupo). La proteinuria se evaluó en días alternos y se expresó como un porcentaje de los valores basales. Se observó una reducción significativa de la proteinuria en las ratas tratadas con Angptl4 recombinante.

En el modelo de nefritis Thy1.1, se confirmó proteinuria en el día 1. Las ratas se inyectaron por vía intravenosa en dos días consecutivos (días 1 y 2, flechas) con Angptl4 recombinante o proteína de control. Después, se evaluó la proteinuria. Como se muestra en la Fig. 4B, la proteinuria fue menor en todas las ratas tratadas con Angptl4 y fue estadísticamente significativa en el día 5.

Estos resultados demuestran que el suministro terapéutico de Angptl4 en la circulación es un tratamiento eficaz para el síndrome nefrótico, tal como, pero sin limitación, la nefropatía de cambios mínimos, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, nefropatía membranosa/glomerulonefritis membranosa, la glomerulonefritis membranoproliferativa o una afección diabética, tal como, pero sin limitación, nefropatía diabética, diabetes mellitus, nefritis lúpica o enfermedad glomerular primaria. Además, estos resultados demuestran que el suministro terapéutico de Angptl4 en la circulación es un tratamiento eficaz para las afecciones relacionadas con el síndrome nefrótico, tales como, pero sin limitación, proteinuria, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y edema. En una realización, el polipéptido Angptl4 es un derivado con actividad inhibidora de la LPL disminuida, resistencia a la escisión o un derivado descrito en el presente documento. La administración de tal derivado retendría los efectos beneficiosos del tratamiento con Angptl4 sin los efectos negativos asociados con la inhibición de la actividad de la LPL, tales como los niveles de triglicéridos plasmáticos aumentados.

## MÉTODOS

### Clonación de Angptl4 de rata de longitud completa y generación de un anticuerpo frente a Angptl4 recombinante de longitud completa

La fase de lectura abierta de Angptl4 de rata de longitud completa de 1218 pb de experimentos anteriores de los inventores (7), excluyendo el codón de detención, se clonó en pcDNA3.1/V5-HisB para la expresión eucariota, y en pET28a para la expresión procariota. La proteína de longitud completa expresada por *E. coli* purificada se utilizó para generar en conejos un anticuerpo policlonal (Proteintech group, Inc. Chicago, IL, EE. UU.) que se probó por ELISA y transferencia de Western. Las bandas reactivas con anticuerpos se escindieron de geles teñidos con azul GelCode, se digirieron con tripsina y se confirmó mediante MALDI-TOF/TOF la presencia de secuencias peptídicas de Angptl4. Parte del antisuero se purificó por afinidad para el antígeno. A menos que se especifique otra cosa, en

todos los estudios descritos se utilizó este anticuerpo. Se produjo de manera similar un anticuerpo policlonal adicional en conejos frente a la parte N-terminal de Angptl4 de rata (aminoácidos 7 - 86, excluyendo el péptido señal).

#### 5 Inducción de proteinuria en modelos animales de enfermedad glomerular humana

10 Todos los estudios con animales fueron aprobados por la IACUC (forma siglada de *Institutional Animal Care and Use Committee*, Comité institucional de cuidado y uso de animales) institucional. La inducción de modelos animales de proteinuria (n = 4 ratas/grupo) en ratas de TS se describe en las publicaciones anteriores que se indican entre paréntesis: PAN (7), PHN (7), PAN con glucocorticoides (20), glomerulopatía no colapsante por VIH (18), proteinuria en fase heteróloga inducida por suero nefrotóxico (7). Se indujo nefritis anti-Thy1.1 por inyección de 200 mg de anti-Thy1.1 (hibridoma Ox-7) o IgG i.v. de control en distintos grupos de ratas Wistar macho (100-125 g, n = 4 ratas/grupo), y las ratas se sometieron a eutanasia después de 24 y 72 horas.

15 En publicaciones anteriores se describen las siguientes técnicas: PCR en tiempo real Taqman (26), formación confocal de imágenes (7), hibridación *in situ* (27), ME de inmuno oro (26), extracción glomerular y procesamiento para transferencia de Western (26), evaluación de la carga por el método de PEI (28). Para la tinción con azul alcian, el pH de la solución de tinción se ajustó a 2,5 utilizando ácido acético, y se utilizó una solución de fast red nuclear al 0,1 % como contratinción. La densitometría de la tinción de la membrana basal glomerular con azul alcian (20 glomérulos/rata, 3 ratas/grupo) se evaluó utilizando el programa informático Image-Pro (Media Cybernetics, Inc., Bethesda MD, EE. UU.). La densitometría de las transferencias de Western de geles bidimensionales se evaluó utilizando el programa informático Gel-Pro Analyzer (Media Cybernetics, Inc.). Los cebadores y sondas de PCR en tiempo real Taqman se enumeran en la Fig. 3. Para la hibridación *in situ*, la sonda marcada con digoxigenina para Angptl4 de rata incluyó las pb 1 a 548 de la ORF.

25 Para obtener muestras para la actividad de LPL pos heparina, se inyectaron ratas por vía intravenosa con 10 unidades/100 g de peso de heparina porcina, 15 minutos antes de la eutanasia, y se midió la actividad utilizando un ensayo de Roar Biomedical, Inc (Nueva York NY). Los triglicéridos séricos se midieron en ayunas.

#### 30 Inyección de NTS en ratones Angptl4 - / -

35 Se proporcionaron ratones Angptl4 - / - a Sander Kersten como un obsequio amable de Eli Lilly Corporation (Indianápolis IN EE. UU.). El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Estudios de Animales de la Universidad de Wageningen. Se inyectaron ratones Angptl4 -/- o +/- macho de once semanas de edad (n = 4 ratones/grupo) por vía intravenosa con 1,5 mg de  $\gamma$ 2-NTS o suero normal de oveja (Sigma Aldrich St. Louis MO EE. UU.), se recogieron muestras de orina a las 48 horas, los ratones se sometieron a eutanasia a las 72 horas, se recolectó el plasma para mediciones bioquímicas y se conservaron los riñones para el análisis histológico. La albúmina en orina se evaluó mediante ELISA (Bethyl Laboratories, Montgomery TX EE. UU.) y la creatinina en orina se midió por espectrometría de masas. Para evaluar el borramiento del proceso podal, se midió en primer lugar la anchura media de los procesos podales en micrografías electrónicas de transmisión del ratón Angptl4 +/- tratado de control (10 lecturas espaciadas de forma regular/asa, 3 asas/glomérulo, 3 glomérulos/riñón, 3 riñones/grupo). El borramiento se describió como un aumento de más de 2,5 veces de la anchura media. Se contaron los procesos podales totales y borrados en los ratones Angptl4 -/- tratados con NTS o de control.

#### 45 Estudios con muestras humanas archivadas

50 Se realizó inmunotinción de biopsias de riñón humano archivadas (n = 5 biopsias por condición) en muestras obtenidas a través de protocolos aprobados por el CIR del Instituto Nacional de Cardiología, Ciudad de México. Las biopsias de riñón de control utilizadas para estos estudios fueron biopsias pretrasplante de protocolo de sexo y edad coincidentes. Se obtuvieron sueros humanos archivados para electroforesis en gel bidimensional y transferencia de Western (n = 4 muestras/condición) de un estudio publicado con anterioridad (29).

#### Generación de ratas transgénicas

55 Se generó una construcción de ratas aP2-Angptl4 TG (específicas de tejido adiposo) en el vector que contenía la construcción del promotor de aP2 de ratón de 5,4 Kb (30) (adquirido en Addgene Inc. Cambridge MA EE. UU.), clonando el ADNc de Angptl4 de rata (incluyendo la secuencia señal) con una etiqueta V5 C-terminal en el sitio NotI justo cadena arriba de la cola poliA.

60 Se generaron ratas transgénicas mediante microinyección de las construcciones de ADN digeridos en huevos fertilizados Sprague Dawley (realizado en la Universidad de Michigan), la implantación en hembras Sprague Dawley pseudopreñadas hospedadoras y la descendencia resultante se genotificaron mediante PCR de rutina y estrategia de PCR en tiempo real de ADN genómico TaqMan, utilizando combinaciones de cebadores y sondas específicos para la construcción y para la prolactina genómica control (Fig. 3). Se generaron tres líneas fundadoras para la expresión específica de tejido adiposo. Se presentan los datos de una línea de rata aP2-Angptl4 TG 375 (3 copias), todas estables durante 4 generaciones. La proteína en orina total se evaluó utilizando el método de Bradford (Biorad

laboratories, Hercules, CA, EE. UU.) y la albuminuria mediante ELISA (Bethyl Laboratories, Montgomery TX, EE. UU.).

Estudios *in vitro* con las GENC

Para los estudios en GENC, se cultivaron las GENC (32) cultivadas de rata hasta el 75 % de confluencia en placas de 6 pocillos (n = 3 pocillos/condición), se lavó dos veces con PBS tibio, RPMI sin suero que contenía H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200 µM, junto con 600 µg/pocillo de sobrenadante de línea celular estable de control o sobrenadante de línea celular estable Angptl4-HEK293, o sobrenadante de línea celular Angptl4-HEK293 tratada con ManNAc. Los pocillos se muestrearon a las 24, 36 y 48 horas. La liberación de LDH se midió utilizando el kit de detección de citotoxicidad (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Los valores de DO 492 se expresaron como una relación de las lecturas de los pocillos en los que se añadió sobrenadante de línea celular estable o no se añadió H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Análisis estadístico

El análisis de la diferencia en la proteinuria o la expresión génica que implicaba a tres o más grupos, se llevó a cabo por ANOVA con evaluación posanálisis utilizando el programa informático GraphPad InStat, Versión 3.05. Para la comparación de dos grupos, se utilizó la prueba t de Student para datos independientes en Microsoft Excel 2003.

REFERENCIAS

1. Falk R, Jennette C, Nachman PH. Primary glomerular disease. En *The Kidney*, Brenner BM, editor, 6ª edición, 1263-1349 (2000).
2. Gutman, A. y Shafrir, E. Adipose tissue in experimental nephrotic syndrome. *Am. J. Physiol.* 205, 702-706 (1963).
3. Vaziri, N.D. Molecular mechanisms of lipid disorders in nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 63, 1964-1976 (2003).
4. Shearer, G.C. y Kaysen GA. Endothelial bound lipoprotein lipase (LpL) depletion in hypoalbuminemia results from decreased endothelial binding, not decreased secretion. *Kidney Int.* 70, 647-653 (2006).
5. Reaven, E.P., Kolterman, O.G. y Reaven, G.M. Ultrastructural and physiological evidence for corticosteroid-induced alterations in hepatic production of very low density lipoprotein particles. *J. Lipid Res.* 15, 74-83 (1974).
6. Tsukamoto, Y., Kokubo, T., Horii, A., Moriya, R. y Kobayashi, Y. Lipoprotein derangement during steroid treatment in minimal-change nephrotic syndrome. *Nephron* 73, 606-612 (1996).
7. Liu, G., Clement, L., Kanwar, Y.S., Avila-Casado, C. y Chugh, S.S. ZHX proteins regulate podocyte gene expression during the development of nephrotic syndrome. *J. Biol. Chem.* 281, 39681-39692 (2006).
8. Yoon, J.C. *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma target gene encoding a novel angiopoietin-related protein associated with adipose differentiation. *Mol. Cell. Biol.* 20, 5343-5349 (2000).
9. Kersten, S. *et al.* Characterization of the fasting-induced adipose factor FIAF, a novel peroxisome proliferator-activated receptor target gene. *J. Biol. Chem.* 275, 28488-28493 (2000).
10. Kim, I. *et al.* Hepatic expression, synthesis and secretion of a novel fibrinogen/angiopoietin-related protein that prevents endothelial-cell apoptosis. *Biochem. J.* 346, 603-610 (2000).
11. Yoshida, K., Shimizugawa, T., Ono, M. y Furukawa, H. Angiopoietin-like protein 4 is a potent hyperlipidemia-inducing factor in mice and inhibitor of lipoprotein lipase. *J. Lipid Res.* 43, 1770-1772 (2002).
12. Ge, H., *et al.* Oligomerization and regulated proteolytic processing of angiopoietin-like protein 4. *J. Biol. Chem.* 279, 2038-2045 (2004).
13. Ge, H., Yang, G., Yu, X., Pourbahrami, T. y Li, C. Oligomerization state-dependent hyperlipidemic effect of angiopoietin-like protein 4. *J. Lipid Res.* 45, 2071-2079 (2004).
14. Romeo, S., *et al.* Population-based resequencing of ANGPTL4 uncovers variations that reduce triglycerides and increase HDL. *Nat. Genet.* 39, 513-516 (2007).
15. Romeo, S. *et al.* Rare loss-of-function mutations in ANGPTL family members contribute to plasma triglyceride levels in humans. *J. Clin. Invest.* 119:70-79 (2009).
16. Eremina, V., *et al.* VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N. Engl. J. Med.* 358, 1129-1136 (2008).
17. Davis, B., *et al.* Podocyte-specific expression of angiopoietin-2 causes proteinuria and apoptosis of glomerular endothelia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18, 2320-2329 (2007).
18. Avila-Casado, C., *et al.* Proteinuria in rats induced by serum from patients with collapsing glomerulopathy. *Kidney Int.* 66, 133-143 (2004).
19. Mandard, S., *et al.* The fasting-induced adipose factor/angiopoietin-like protein 4 is physically associated with lipoproteins and governs plasma lipid levels and adiposity. *J. Biol. Chem.* 281:934-944 (2006).
20. Clement, L., *et al.* Early changes in gene expression that influence the course of primary glomerular disease. *Kidney Int.* 72, 337-347 (2007).
21. Cazes, A. *et al.* Extracellular matrix-bound angiopoietin-like 4 inhibits endothelial cell adhesion, migration, and sprouting and alters actin cytoskeleton. *Circ. Res.* 99, 1207-1215 (2006).
22. Malicdan, M.C., Noguchi, S., Hayashi, Y.K., Nonaka, I. y Nishino, I. Prophylactic treatment with sialic acid metabolites precludes the development of the myopathic phenotype in the DMRV-hIBM mouse model. *Nat. Med.* 15, 690-695 (2009).

23. Galeano, B. *et al.* Mutation in the key enzyme of sialic acid biosynthesis causes severe glomerular proteinuria and is rescued by N-acetylmannosamine. *J. Clin. Invest.* 117, 1585-1594 (2007).
24. Ruge, T. *et al.* Lipoprotein lipase in the kidney: activity varies widely among animal species. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 287, F1131-F1139 (2004).
- 5 25. Koliwad, S.K. *et al.* Angiopoietin-like 4 (ANGPTL4/FIAF) is a direct glucocorticoid receptor target and participates in glucocorticoid-regulated triglyceride metabolism. *J. Biol. Chem.* 284, 25593-25601 (2009).
26. Liu, G. *et al.*, Nephl and nephrin interaction in the slit diaphragm is an important determinant of glomerular permeability. *J. Clin. Invest.* 112, 209-221 (2003).
- 10 27. Dijkman, H.B.P.M., Mentzel, S., de Jong, A.S. y Assmann, K.J.M. RNA in situ hybridization using digoxigenin-labeled cRNA probes. *Biochemica* 2, 23-27 (1995).
28. Isogai, S., Mogami, K., Shiina, N. y Yoshino, G. Initial ultrastructural changes in pore size and anionic sites of the glomerular basement membrane in streptozotocin-induced diabetic rats and their prevention by insulin treatment. *Nephron.* 83, 53-58 (1999).
- 15 29. Bakker, W.W. *et al.* Altered activity of plasma hemopexin in patients with minimal change disease in relapse. *Pediatr. Nephrol.* 20, 1410-1415 (2005).
30. Graves, R.A., Tontonoz, P., Platt, K.A., Ross, S.R. y Spiegelman, B.M. Identification of a fat cell enhancer: analysis of requirements for adipose tissue-specific gene expression. *J. Cell Biochem.* 49, 219-224 (1992).
- 20 31. Yoshida, K., Ono, M., Koishi, R. y Furukawa, H. Characterization of the 5' regulatory region of the mouse angiopoietin-like protein 4. *Vet. Res. Commun.* 28, 299-305 (2004).
32. Zeng, L. *et al.* HMG CoA reductase inhibition modulates VEGF-induced endothelial cell hyperpermeability by preventing RhoA activation and myosin regulatory light chain phosphorylation. *FASEB J.* 19, 1845-1847 (2005).
33. Romeo, S. *et al.* Population-based resequencing of ANGPTL4 uncovers variations that reduce triglyceride and increase HDL. *Nature Genetics*, 39, 513-517 (2007).
- 25 34. Yin, Wu *et al.* Genetic variation in Angptl4 provides insight into protein processing and function, *J.Biol.Chem.*, 284, 13213-13222 (2009).

LISTADO DE SECUENCIAS

- 30 <110> The UAB Research Foundation Chugh, Sumant S.
- <120> MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DEL SÍNDROME NEFRÓTICO Y DE AFECCIONES RELACIONADAS
- 35 <130> U2010-0044WO
- <150> 61/351.866
- <151> 05-06-2010
- 40 <160> 22
- <170> PatentIn versión 3.5
- 45 <210> 1
- <211> 406
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <400> 1



ES 2 663 096 T3

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Ala  
1 5 10 15

Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser  
20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu  
35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser  
50 55 60

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala Cys  
65 70 75 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg  
85 90 95

Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln  
100 105 110

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg  
115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe  
130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala  
145 150 155 160

Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His

ES 2 663 096 T3

				165					170					175	
Asn	Val	Ser	Arg	Leu	His	Arg	Leu	Pro	Arg	Asp	Cys	Gln	Glu	Leu	Phe
			180					185					190		
Gln	Val	Gly	Glu	Arg	Gln	Ser	Gly	Leu	Phe	Glu	Ile	Gln	Pro	Gln	Gly
		195					200					205			
Ser	Pro	Pro	Phe	Leu	Val	Asn	Cys	Lys	Met	Thr	Ser	Asp	Gly	Gly	Trp
	210					215					220				
Thr	Val	Ile	Gln	Arg	Arg	His	Asp	Gly	Ser	Val	Asp	Phe	Asn	Arg	Pro
225					230					235					240
Trp	Glu	Ala	Tyr	Lys	Ala	Gly	Phe	Gly	Asp	Pro	His	Gly	Glu	Phe	Trp
				245					250					255	
Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Val	His	Ser	Ile	Thr	Gly	Asp	Arg	Asn	Ser	Arg
			260					265					270		
Leu	Ala	Val	Gln	Leu	Arg	Asp	Trp	Asp	Gly	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Gln
		275					280					285			
Phe	Ser	Val	His	Leu	Gly	Gly	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Leu	Gln	Leu
	290					295					300				
Thr	Ala	Pro	Val	Ala	Gly	Gln	Leu	Gly	Ala	Thr	Thr	Val	Pro	Pro	Ser
305					310					315					320
Gly	Leu	Ser	Val	Pro	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp	Gln	Asp	His	Asp	Leu	Arg
				325					330					335	
Arg	Asp	Lys	Asn	Cys	Ala	Lys	Ser	Leu	Ser	Gly	Gly	Trp	Trp	Phe	Gly
			340					345						350	
Thr	Cys	Ser	His	Ser	Asn	Leu	Asn	Gly	Gln	Tyr	Phe	Arg	Ser	Ile	Pro
		355					360					365			
Gln	Gln	Arg	Gln	Lys	Leu	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Trp	Lys	Thr	Trp	Arg
	370					375					380				
Gly	Arg	Tyr	Tyr	Pro	Leu	Gln	Ala	Thr	Thr	Met	Leu	Ile	Gln	Pro	Met
385					390					395					400
Ala	Ala	Glu	Ala	Ala	Ser										
					405										

<210> 2  
<211> 1967  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 2

ES 2 663 096 T3

ataaaaaaccg	tcctcggggcg	cggcgggggag	aagccgagct	gagcgggatcc	tcacacgact	60
gtgatccgat	tctttccagc	ggcttctgca	accaagcggg	tcttaccccc	ggtcctccgc	120
gtctccagtc	ctcgcacctg	gaaccccaac	gtccccgaga	gtccccgaat	ccccgctccc	180
aggctacct	agaggatgag	cggtgctccg	acggccgggg	cagccctgat	gctctgcgcc	240
gccaccgccg	tgctactgag	cgctcagggc	ggaccocgtc	agtccaagtc	gccgcgcttt	300
gcgtcctggg	acgagatgaa	tgtcctggcg	cacggactcc	tgcaactcgg	ccaggggctg	360
cgcgaacacg	cggagcgcac	ccgcagtcat	ctgagcgcgc	tggagcggcg	cctgagcgcg	420
tgcgggtccg	cctgtcaggg	aaccgagggg	tccaccgacc	tcccgttagc	ccctgagagc	480
cgggtggacc	ctgaggtcct	tcacagcctg	cagacacaac	tcaaggctca	gaacagcagg	540
atccagcaac	tcttccacaa	ggtggcccag	cagcagcggc	acctggagaa	gcagcacctg	600
cgaattcagc	atctgcaaag	ccagtctggc	ctcctggacc	acaagcacct	agaccatgag	660
gtggccaagc	ctgcccgaag	aaagaggctg	cccagatagg	cccagccagt	tgaccocgct	720
cacaatgtca	gccgcctgca	ccggctgccc	agggattgcc	aggagctggt	ccaggttggg	780
gagaggcaga	gtggactatt	tgaaatccag	cctcaggggt	ctccgccatt	tttgggtgaa	840
tgcaagatga	cctcagatgg	aggctggaca	gtaattcaga	ggcgccacga	tggtcagtg	900
gacttcaacc	ggccctggga	agcctacaag	gcggggtttg	gggatcccc	cggcgagttc	960
tggtcgggtc	tggagaaggt	gcatagcctc	acgggggacc	gcaacagccg	cctggccgctg	1020
cagctgcggg	actgggatgg	caacgccgag	ttgctgcagt	tctccgtgca	cctgggtggc	1080
gaggacacgg	cctatagcct	gcagctcact	gcacccgtgg	ccggccagct	gggcgccacc	1140
accgtcccac	ccagcggcct	ctccgtacct	ttctccactt	gggaccagga	tcacgacctc	1200
cgcagggaca	agaactgcgc	caagagcctc	tctggaggct	ggtggtttgg	cacctgcagc	1260
cattccaacc	tcaacggcca	gtacttccgc	tccatcccac	agcagcggca	gaagcttaag	1320
aagggaatct	tctggaagac	ctggcggggc	cgctactacc	cgctgcaggc	caccaccatg	1380
ttgatccagc	ccatggcagc	agaggcagcc	tcttagcgtc	ctggctgggc	ctggtcccag	1440
gcccacgaaa	gacggtgact	cttggctctg	cccagaggatg	tggccgttcc	ctgcctgggc	1500
aggggctcca	aggagggggc	atctggaaac	ttgtggacag	agaagaagac	cacgactgga	1560
gaagccccct	ttctgagtgc	aggggggctg	catgcgttgc	ctcctgagat	cgaggctgca	1620
ggatatgctc	agactctaga	ggcgtggacc	aaggggcatg	gagcttcact	ccttgctggc	1680
cagggagttg	gggactcaga	gggaccactt	ggggccagcc	agactggcct	caatggcgg	1740
ctcagtcaca	ttgactgacg	gggaccaggg	cttgtgtggg	togagagcgc	cctcatggtg	1800
ctggtgctgt	tgtgtgtagg	tcccctgggg	acacaagcag	gcgccaatgg	tatctggggc	1860

ES 2 663 096 T3

gagctcacag agttcttggga ataaaagcaa cctcagaaca cttaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 1967

<210> 3  
 <211> 368  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 3

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Ala  
 1 5 10 15

Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser  
 20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu  
 35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser  
 50 55 60

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser Ala Cys  
 65 70 75 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg  
 85 90 95

Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln  
 100 105 110

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg  
 115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe  
 130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala  
 145 150 155 160

Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His  
 165 170 175

Asn Val Ser Arg Leu His His Gly Gly Trp Thr Val Ile Gln Arg Arg  
 180 185 190

His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg Pro Trp Glu Ala Tyr Lys Ala  
 195 200 205

5

10

ES 2 663 096 T3

Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Val  
 210 215 220

His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser Arg Leu Ala Val Gln Leu Arg  
 225 230 235 240

Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu Gln Phe Ser Val His Leu Gly  
 245 250 255

Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu Thr Ala Pro Val Ala Gly  
 260 265 270

Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser Gly Leu Ser Val Pro Phe  
 275 280 285

Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg Arg Asp Lys Asn Cys Ala  
 290 295 300

Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly Thr Cys Ser His Ser Asn  
 305 310 315 320

Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile Pro Gln Gln Arg Gln Lys Leu  
 325 330 335

Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Arg Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu  
 340 345 350

Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro Met Ala Ala Glu Ala Ala Ser  
 355 360 365

<210> 4  
 <211> 1853  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 4

5

ES 2 663 096 T3

ataaaaaccg	tcctcgggcg	cggcggggag	aagccgagct	gagcggatcc	tcacacgact	60
gtgatccgat	tctttccagc	ggcttctgca	accaagcggg	tcttaccccc	ggtcctccgc	120
gtctccagtc	ctcgcacctg	gaacccaac	gtccccgaga	gtccccgaat	ccccgctccc	180
aggctaccta	agaggatgag	cggtgctccg	acggccgggg	cagccctgat	gctctgcgcc	240
gccaccgccg	tgctactgag	cgctcagggc	ggacccgtgc	agtccaagtc	gccgcgcttt	300
gcgtcctggg	acgagatgaa	tgtcctggcg	cacggactcc	tgacgtcgg	ccaggggctg	360
cgcgaacacg	cggagcgcac	ccgcagtcag	ctgagcgcgc	tggagcggcg	cctgagcgcg	420
tgcgggctccg	cctgtcaggg	aaccgagggg	tccaccgacc	tcccgttagc	ccctgagagc	480
cggggtggacc	ctgaggtcct	tcacagcctg	cagacacaac	tcaaggctca	gaacagcagg	540
atccagcaac	tcttccacaa	ggtggcccag	cagcagcggc	acctggagaa	gcagcacctg	600
cgaattcagc	atctgcaaag	ccagtttggc	ctcctggacc	acaagcacct	agaccatgag	660
gtggccaagc	ctgcccgaag	aaagaggctg	cccgagatgg	cccagccagt	tgaccggct	720
cacaatgtca	gccgcctgca	ccatggaggc	tggacagtaa	ttcagaggcg	ccacgatggc	780
tcagtggact	tcaaccggcc	ctgggaagcc	tacaaggcgg	ggtttgggga	tccccacggc	840
gagttctggc	tgggtctgga	gaaggtgcat	agcatcacgg	gggaccgcaa	cagccgcctg	900
gccgtgcagc	tgcgggactg	ggatggcaac	gccgagttgc	tgacgttctc	cgtgcacctg	960
ggtggcgagg	acacggccta	tagcctgcag	ctcaactgcac	ccgtggccgg	ccagctgggc	1020
gccaccaccg	tcccaccag	cggcctctcc	gtacccttct	ccacttggga	ccaggatcac	1080
gacctccgca	gggacaagaa	ctgcgccaag	agcctctctg	gaggctggtg	gtttggcacc	1140
tgacgccatt	ccaacctcaa	cggccagtac	ttccgctcca	tcccacagca	gcggcagaag	1200
cttaagaagg	gaatcttctg	gaagacctgg	cggggccgct	actaccgct	gcaggccacc	1260
accatgttga	tccagcccat	ggcagcagag	gcagcctcct	agcgtcctgg	ctgggcctgg	1320
tcccaggccc	acgaaagacg	gtgactcttg	gctctgcccg	aggatgtggc	cgttccctgc	1380
ctgggcaggg	gctccaagga	ggggccatct	ggaaaacttg	ggacagagaa	gaagaccacg	1440
actggagaag	cccccttct	gagtgcaggg	gggctgcatg	cgttgcctcc	tgagatcgag	1500
gctgcaggat	atgctcagac	tctagaggcg	tggaccaagg	ggcatggagc	ttcactcctt	1560
gctggccagg	gagttgggga	ctcagagggg	ccacttgggg	ccagccagac	tggcctcaat	1620
ggcggactca	gtcacattga	ctgacgggga	ccagggcttg	tgtgggtcga	gagcgcctc	1680
atgggtgctgg	tgctgttggtg	tgtaggtccc	ctggggacac	aagcagggcg	caatggtatc	1740
tgggcggagc	tcacagagtt	cttgaataa	aagcaacctc	agaacactta	aaaaaaaaaa	1800
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaa	1853

ES 2 663 096 T3

<210> 5  
<211> 405  
<212> PRT  
<213> *Rattus norvegicus*

5

<400> 5

Met Arg Cys Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Val Leu Cys Ala Ala  
1 5 10 15

Thr Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gln Gly Arg Pro Ala Gln Pro Glu Pro  
20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Leu Leu Ala His Gly Leu  
35 40 45

Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Arg Glu His Val Glu Arg Thr Arg Gly  
50 55 60



ES 2 663 096 T3

Gln Leu Gly Ala Leu Glu Arg Arg Met Ala Ala Cys Gly Asn Ala Cys  
65 70 75 80

Gln Gly Pro Lys Gly Thr Asp Pro Lys Asp Arg Val Pro Glu Gly Gln  
85 90 95

Ala Pro Glu Thr Leu Gln Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln Asn  
100 105 110

Ser Lys Ile Gln Gln Leu Phe Gln Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg Tyr  
115 120 125

Leu Ser Lys Gln Asn Leu Arg Ile Gln Asn Leu Gln Ser Gln Ile Asp  
130 135 140

Leu Leu Thr Pro Thr His Leu Asp Asn Gly Val Asp Lys Thr Ser Arg  
145 150 155 160

Gly Lys Arg Leu Pro Lys Met Ala Gln Leu Ile Gly Leu Thr Pro Asn  
165 170 175

Ala Thr Arg Leu His Arg Pro Pro Arg Asp Cys Gln Glu Leu Phe Gln  
180 185 190

Glu Gly Glu Arg His Ser Gly Leu Phe Gln Ile Gln Pro Leu Gly Ser  
195 200 205

Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Glu Met Thr Ser Asp Gly Gly Trp Thr  
210 215 220

Val Ile Gln Arg Arg Leu Asn Gly Ser Val Asp Phe Asn Gln Ser Trp  
225 230 235 240

Glu Ala Tyr Lys Asp Gly Phe Gly Asp Pro Gln Gly Glu Phe Trp Leu  
245 250 255

Gly Leu Glu Lys Met His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Gly Ser Gln Leu  
260 265 270

Ala Val Gln Leu Gln Asp Trp Asp Gly Asn Ala Lys Leu Leu Gln Phe  
275 280 285

Pro Ile His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu Thr  
290 295 300

Glu Pro Thr Ala Asn Glu Leu Gly Ala Thr Asn Val Ser Pro Asn Gly  
305 310 315 320

ES 2 663 096 T3

Leu Ser Leu Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg Gly  
325 330 335

Asp Leu Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly Thr  
340 345 350

Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe His Ser Ile Pro Arg  
355 360 365

Gln Arg Gln Gln Arg Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Lys Gly  
370 375 380

Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Leu Leu Ile Gln Pro Met Glu  
385 390 395 400

Ala Thr Ala Ala Ser  
405

<210> 6  
<211> 1218  
<212> ADN  
<213> *Rattus norvegicus*  
  
<400> 6

5

ES 2 663 096 T3

```

atgcgctgcg ctccgaccgc aggcgctgct ctagtgctat gcgcagctac tgcggggctg      60
ctgagcgcgc aagggcgccc tgcacagccg gagccgccgc gcttcgcatc ctgggatgaa      120
atgaacttgc tggctcacgg gctgctgca gctcggtcacg ggctgcggga acacgtggag      180
cgcacccgtg gacagctggg cgcgctggaa cgccgcatgg ctgcctgcgg taacgcttgt      240
caggggcccc aggggacaga cccgaaggat agagtccccg aaggccaggc tcctgagact      300
ctgcagagtt tacagactca actcaaggct cagaacagca agatccagca actgttccag      360
aaggtagccc agcagcagag atacctatca aagcagaatc tgagaataca gaatcttcag      420
agccagattg acctcttgac cccacacac ctagacaatg gggtagacia gacttcgagg      480
ggaaagaggc ttccaagat ggcccagctc attggcttga ctccaacgc caccgctta      540
cacaggcctc cccgggactg ccaggaactc tttcaagaag gggagcggca cagtggactt      600
ttccagatcc agcctctggg atctccacca tttttggtca actgtgagat gacttcagat      660
ggaggctgga cggtgattca gagacgcctg aacggctctg tggacttcaa tcagtcttgg      720
gaagcctaca aagatggctt cggagatccc caaggcgagt tctggctggg cctagagaag      780
atgcacagca tcacagggga ccgaggaagc cagttggctg tgcagctcca ggactgggat      840
ggcaatgcc aattgctcca atttcctatc catttggggg gtgaggacac agcctacagc      900
ctgcagctca ccgagcccac ggccaatgag ctgggtgcc acaatgttt cccaatggc      960
ctttccctgc ccttctctac ctgggaccaa gaccacgacc tccgagggga ccttaactgt     1020
gccaagagcc tctctggtgg ctggtggttt ggcacctgca gccattcaa tctaaatgga     1080
caatacttcc actctattcc acggcaacgg cagcagcgta aaaaggggat cttctggaaa     1140
acatggaagg gccgctacta tccactacag gctaccacc tgttgatcca gcccatggag     1200
gctacagcag cctcttag                                     1218

```

```

<210> 7
<211> 410
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 7

```

5

ES 2 663 096 T3

Met Arg Cys Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Val Leu Cys Ala Ala  
 1 5 10 15

Thr Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gln Gly Arg Pro Ala Gln Pro Glu Pro  
 20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Leu Leu Ala His Gly Leu  
 35 40 45

Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Arg Glu His Val Glu Arg Thr Arg Gly  
 50 55 60

Gln Leu Gly Ala Leu Glu Arg Arg Met Ala Ala Cys Gly Asn Ala Cys  
 65 70 75 80

Gln Gly Pro Lys Gly Lys Asp Ala Pro Phe Lys Asp Ser Glu Asp Arg  
 85 90 95

Val Pro Glu Gly Gln Thr Pro Glu Thr Leu Gln Ser Leu Gln Thr Gln  
 100 105 110

Leu Lys Ala Gln Asn Ser Lys Ile Gln Gln Leu Phe Gln Lys Val Ala  
 115 120 125

Gln Gln Gln Arg Tyr Leu Ser Lys Gln Asn Leu Arg Ile Gln Asn Leu  
 130 135 140

Gln Ser Gln Ile Asp Leu Leu Ala Pro Thr His Leu Asp Asn Gly Val  
 145 150 155 160

Asp Lys Thr Ser Arg Gly Lys Arg Leu Pro Lys Met Thr Gln Leu Ile  
 165 170 175

Gly Leu Thr Pro Asn Ala Thr His Leu His Arg Pro Pro Arg Asp Cys  
 180 185 190

Gln Glu Leu Phe Gln Glu Gly Glu Arg His Ser Gly Leu Phe Gln Ile

ES 2 663 096 T3

195		200		205											
Gln	Pro	Leu	Gly	Ser	Pro	Pro	Phe	Leu	Val	Asn	Cys	Glu	Met	Thr	Ser
	210					215					220				
Asp	Gly	Gly	Trp	Thr	Val	Ile	Gln	Arg	Arg	Leu	Asn	Gly	Ser	Val	Asp
225					230					235					240
Phe	Asn	Gln	Ser	Trp	Glu	Ala	Tyr	Lys	Asp	Gly	Phe	Gly	Asp	Pro	Gln
				245					250					255	
Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Met	His	Ser	Ile	Thr	Gly	Asn
			260					265					270		
Arg	Gly	Ser	Gln	Leu	Ala	Val	Gln	Leu	Gln	Asp	Trp	Asp	Gly	Asn	Ala
		275					280					285			
Lys	Leu	Leu	Gln	Phe	Pro	Ile	His	Leu	Gly	Gly	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr
	290					295					300				
Ser	Leu	Gln	Leu	Thr	Glu	Pro	Thr	Ala	Asn	Glu	Leu	Gly	Ala	Thr	Asn
305					310					315					320
Val	Ser	Pro	Asn	Gly	Leu	Ser	Leu	Pro	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp	Gln	Asp
				325					330					335	
His	Asp	Leu	Arg	Gly	Asp	Leu	Asn	Cys	Ala	Lys	Ser	Leu	Ser	Gly	Gly
			340					345					350		
Trp	Trp	Phe	Gly	Thr	Cys	Ser	His	Ser	Asn	Leu	Asn	Gly	Gln	Tyr	Phe
		355					360					365			
His	Ser	Ile	Pro	Arg	Gln	Arg	Gln	Glu	Arg	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Trp
	370					375					380				
Lys	Thr	Trp	Lys	Gly	Arg	Tyr	Tyr	Pro	Leu	Gln	Ala	Thr	Thr	Leu	Leu
385					390					395					400
Ile	Gln	Pro	Met	Glu	Ala	Thr	Ala	Ala	Ser						
				405					410						

<210> 8  
 <211> 1869  
 <212> ADN  
 <213> *Mus musculus*

5

<400> 8

ES 2 663 096 T3

acgggctcca gatcttcttc tgcaccagag caagtctaag tctgagccgg ctccccaga 60  
actccagctg ctgggtcttg aactcctgcg ttccggagtc ctagcgttgc tgcaccaag 120  
gccaccccca gaatcatgcg ctgcgctcog acagcaggcg ctgccctggt gctatgcgcg 180  
gctactgcgg ggcttttgag cgcgcaaggg cgccctgcac agccagagcc accgcgcttt 240  
gcatcctggg acgagatgaa cttgctggct cacgggctgc tacagctcgg ccatgggctg 300  
cgcgaacacg tggagcgcac ccgtgggcag ctggggcgcg tggagcgccg catggctgcc 360  
tgtggtaacg cttgtcaggg gcccaaggga aaagatgcac ccttcaaaga ctccgaggat 420  
agagtccctg aaggccagac tcctgagact ctgcagagtt tgcagactca gctcaaggct 480  
caaacagca agatccagca attgttccag aagggtggcc agcagcagag atacctatca 540  
aagcagaatc tgagaataca gaatcttcag agccagatag acctcttggc ccccacgcac 600  
ctagacaatg gagtagaaa gacttcgagg ggaaagaggc ttccaagat gaccagctc 660  
attggcttga ctccaacgc caccactta cacaggccgc cccgggactg ccaggaactc 720  
ttccaagaag gggagaggca cagtggactt ttccagatcc agcctctggg gtctccacca 780  
tttttggca actgtgagat gacttcagat ggaggctgga cagtgattca gagacgcctg 840  
aacggctctg tggacttcaa ccagtcctgg gaagcctaca aggatggctt cggagatccc 900  
caaggcgagt tctggctggg cctggaaaag atgcacagca tcacagggaa ccgaggaagc 960  
caattggctg tgcagctcca ggactgggat ggcaatgcc aattgctcca atttccatc 1020  
catttggggg gtgaggacac agcctacagc ctgcagctca ctgagccac ggccaatgag 1080  
ctgggtgcc acaatgtttc cccaatggc ctttcctgc cttctctac ttgggaccaa 1140  
gacatgacc tccgtgggga ccttaactgt gccaaagacc tctctggtgg ctggtggttt 1200  
ggtacctgta gccattcaa tctcaatgga caatacttc actctatccc acggcaacgg 1260  
caggagcgta aaaagggtat cttctggaaa acatggaagg gccgctacta tcctctgcag 1320  
gctaccacc tgctgatcca gcccatggag gctacagcag cctcttagcc tcctcactgg 1380  
agcctggttc caggcctaag aagacagtga ctttggttgt ggccctgaga tttggccatt 1440  
ctctgctggg ggcaggagct ctaagtaggg ctatctgcgt cttgtggaca aagaagaagc 1500  
ccgtaactgg agagactgga ggacccttt tccgtgttg ggctgcaag cattgttctc 1560  
tgaaacagtc agagcaacag gaaacaaatg gccagatcc agaaaacatg ggctcgaggg 1620  
gactgaata tcacttctcg cctaccagag aagttgggga tgcagagggga ccactacagt 1680  
ccaactagct gggcccttaa tggcggactc agtcatattg actgactgga gacagggctc 1740  
caggagccct ggatacactc atggtgctgt tgtaggtgct gtggatgcac aggtgctaac 1800  
tgtggttccc aggcacaact cacagcattc ttacaataaa aacaacctca gaacaaaaa 1860  
aaaaaaaaa 1869

<210> 9  
 <211> 406  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (39)..(39)  
 <223> x = A, K, E o D  
 10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (40)..(40)  
 <223> x = A, K, E o D  
 15  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (76)..(76)  
 <223> x = A o S  
 20  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (80)..(80)  
 <223> x = A o S  
 25  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (161)..(161)  
 <223> x = D, R, K, G, A, V o S  
 30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (162)..(162)  
 <223> x = D, R, K, G, A, V o S  
 35  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (163)..(163)  
 <223> x = D, R, K, G, A, V o S  
 40  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (164)..(164)  
 <223> x = D, R, K, G, A, V o S  
 45  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (221)..(221)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 50  
 <400> 9

ES 2 663 096 T3

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Ala  
1 5 10 15

Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser  
20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Xaa Xaa Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu  
35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser  
50 55 60



ES 2 663 096 T3

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Xaa Gly Ser Ala Xaa  
65 70 75 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg  
85 90 95

Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln  
100 105 110

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg  
115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe  
130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala  
145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His  
165 170 175

Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Cys Gln Glu Leu Phe  
180 185 190

Gln Val Gly Glu Arg Gln Ser Gly Leu Phe Glu Ile Gln Pro Gln Gly  
195 200 205

Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Lys Met Thr Ser Xaa Gly Gly Trp  
210 215 220

Thr Val Ile Gln Arg Arg His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg Pro  
225 230 235 240

Trp Glu Ala Tyr Lys Ala Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe Trp  
245 250 255

Leu Gly Leu Glu Lys Val His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser Arg  
260 265 270

Leu Ala Val Gln Leu Arg Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu Gln  
275 280 285

Phe Ser Val His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu  
290 295 300

Thr Ala Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser  
305 310 315 320

Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg

ES 2 663 096 T3

	325		330			335									
Arg	Asp	Lys	Asn	Cys	Ala	Lys	Ser	Leu	Ser	Gly	Gly	Trp	Trp	Phe	Gly
			340					345					350		
Thr	Cys	Ser	His	Ser	Asn	Leu	Asn	Gly	Gln	Tyr	Phe	Arg	Ser	Ile	Pro
		355					360					365			
Gln	Gln	Arg	Gln	Lys	Leu	Lys	Lys	Gly	Ile	Phe	Trp	Lys	Thr	Trp	Arg
	370					375					380				
Gly	Arg	Tyr	Tyr	Pro	Leu	Gln	Ala	Thr	Thr	Met	Leu	Ile	Gln	Pro	Met
385					390					395					400
Ala	Ala	Glu	Ala	Ala	Ser										
					405										

- 5 <210> 10
- <211> 368
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- 10 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (39)..(39)
- <223> x = A, K, D o E
- 15 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (40)..(40)
- <223> x = A, K, D o E
- 20 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (76)..(76)
- <223> x = A o C
- 25 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (80)..(80)
- <223> x = A o C
- 30 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (161)..(161)
- <223> x = D, R, K, G, A, V o S
- 35 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (162)..(162)
- <223> x = D, R, K, G, A, V o S
- 40 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (163)..(163)
- <223> x = D, R, K, G, A, V o S

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (164)..(164)  
<223> x = D, R, K, G, A, V o S

5

<400> 10

ES 2 663 096 T3

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys Ala Ala  
1 5 10 15

Thr Ala Val Leu Leu Ser Ala Gln Gly Gly Pro Val Gln Ser Lys Ser  
20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Xaa Xaa Met Asn Val Leu Ala His Gly Leu  
35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr Arg Ser  
50 55 60

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Xaa Gly Ser Ala Xaa  
65 70 75 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu Ser Arg  
85 90 95

Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys Ala Gln  
100 105 110

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln Gln Arg  
115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser Gln Phe  
130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys Pro Ala  
145 150 155 160

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro Ala His  
165 170 175

Asn Val Ser Arg Leu His His Gly Gly Trp Thr Val Ile Gln Arg Arg  
180 185 190

His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn Arg Pro Trp Glu Ala Tyr Lys Ala  
195 200 205

Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Val  
210 215 220

His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn Ser Arg Leu Ala Val Gln Leu Arg  
225 230 235 240

ES 2 663 096 T3

Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu Leu Gln Phe Ser Val His Leu Gly  
 245 250 255

Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu Gln Leu Thr Ala Pro Val Ala Gly  
 260 265 270

Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser Gly Leu Ser Val Pro Phe  
 275 280 285

Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg Arg Asp Lys Asn Cys Ala  
 290 295 300

Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly Thr Cys Ser His Ser Asn  
 305 310 315 320

Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile Pro Gln Gln Arg Gln Lys Leu  
 325 330 335

Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Arg Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu  
 340 345 350

Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro Met Ala Ala Glu Ala Ala Ser  
 355 360 365

5  
 <210> 11  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10  
 <400> 11  
 tctgggatct ccaccattt tg 22

15  
 <210> 12  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

20  
 <400> 12  
 tcaccgtcca gcctccat 18

25  
 <210> 13  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

30  
 <400> 13  
 caactgtgag atgacttc 18

35  
 <210> 14  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 14  
 cgccacccgc ttacaca 17

ES 2 663 096 T3

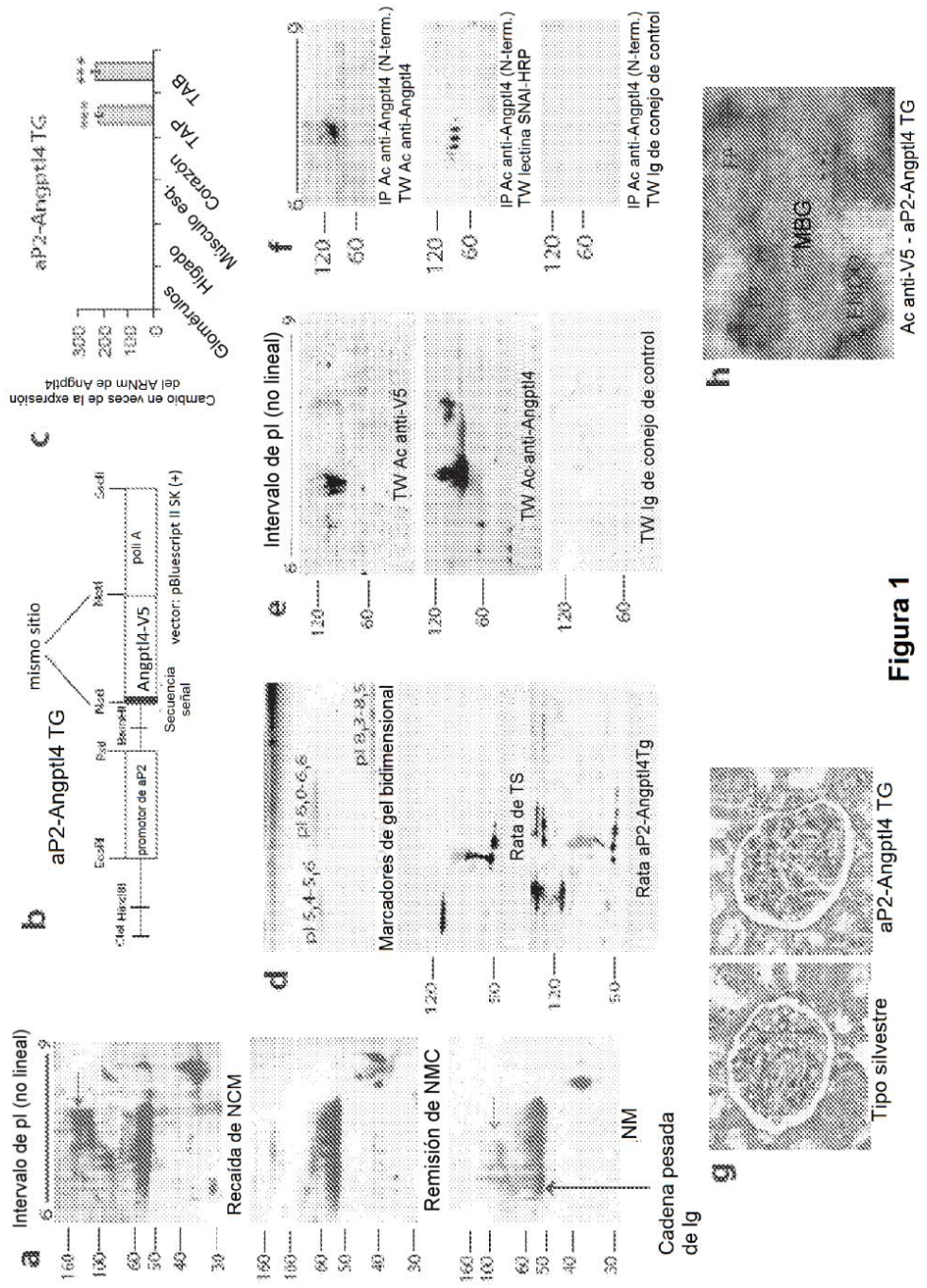
<210> 15  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 15  
 cagaggctgg atctggaaaa gt 22  
 <210> 16  
 <211> 15  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 16  
 tgccaggaac tcttt 15  
 <210> 17  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <400> 17  
 tacaggctac caccctgttg atc 23  
 <210> 18  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 18  
 aaccgcgggc cctctag 17  
 <210> 19  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 19  
 ccatggaggc tacagca 17  
 <210> 20  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 20  
 ctgaaggga tgaaaagat aattagc 27  
 <210> 21  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40  
 <400> 21  
 ccatgagtca gaaaagcatt gaac 24  
 <210> 22  
 <211> 17  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 22  
 aggtgagcat ttctctg 17

## REIVINDICACIONES

1. Polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico.
- 5 2. Un polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico, que contiene la secuencia de aminoácidos de una de las SEQ ID NO: 9 o 10.
- 10 3. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 1, en el que el síndrome nefrótico se caracteriza como nefropatía de cambios mínimos, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, nefropatía membranosa/glomerulonefritis membranosa, glomerulonefritis membranoproliferativa o una afección diabética.
- 15 4. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 1, en el que dicho polipéptido Angptl4 comprende la secuencia de las SEQ ID NO: 1 o 3.
5. El polipéptido Angptl4 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho polipéptido Angptl4 está modificado para tener actividad inhibidora de la lipoproteína lipasa disminuida en comparación con el polipéptido Angptl4 de tipo silvestre, es resistente a la escisión o una combinación de los anteriores.
- 20 6. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 contiene una sustitución de aminoácido en la posición 40 con respecto al polipéptido Angptl4 de tipo silvestre.
- 25 7. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 contiene una sustitución E40K, una sustitución E40A, una D39K, una sustitución D39A o una combinación de los anteriores.
- 30 8. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 contiene una sustitución E40K, una sustitución E40A, una sustitución D39K, una sustitución D39A.
- 35 9. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 contiene al menos una sustitución de aminoácido, en el que el resto de arginina en una o más de las posiciones 161, 162 y 164 está sustituido con D, R, K, G, A, V o S, y el resto de lisina en la posición 163 está sustituido con D, R, K, G, A, V o S.
- 40 10. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 contiene una sustitución de R161RKR164 a una G161 SGS164.
- 45 11. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 tiene la secuencia de las SEQ ID NO: 9 o 10, en las que X39 es D, X40 es A o K, X76 y X80 son C, y X161, X162, X163 y X164 están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X161, X162, X163 y X164, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3.
- 50 12. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 tiene la secuencia de las SEQ ID NO: 9 o 10, en las que X39 es D, X40 es A o K, uno de X76 y X80 es A o S, y el otro de X76 y X80 es C, y X161, X162, X163 y X164 están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X161, X162, X163 y X164, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3.
- 55 13. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 tiene la secuencia de las SEQ ID NO: 9 o 10, en las que X39 es A o K, X40 es E, X76 y X80 son C, y X161, X162, X163 y X164 están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X161, X162, X163 y X164, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3.
- 60 14. El polipéptido Angptl4 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angptl4 tiene la secuencia de las SEQ ID NO: 9 o 10, en las que X39 es D, X40 es K, X76 y X80 son C, y X161, X162, X163 y X164 están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X161, X162, X163 y X164, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3.

15. El polipéptido Angpt14 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 2 o la reivindicación 5, en el que el polipéptido Angpt14 tiene la secuencia de las SEQ ID NO: 9 o 10, en las que X39 es D, X40 es K, uno de X76 y X80 es A o S, y el otro de X76 y X80 es C, y X161, X162, X163 y X164 están sustituidos independientemente con D, R, K, G, A, V o S, de forma opcional, siempre que al menos uno de X161, X162, X163 y X164, sea un aminoácido no encontrado en las SEQ ID NO: 1 o 3.
16. El polipéptido Angpt14 para su uso en el tratamiento o la prevención del síndrome nefrótico de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el polipéptido Angpt14 es sialilado.
17. Uso de un polipéptido Angpt14 como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en la fabricación de un medicamento para el síndrome nefrótico.





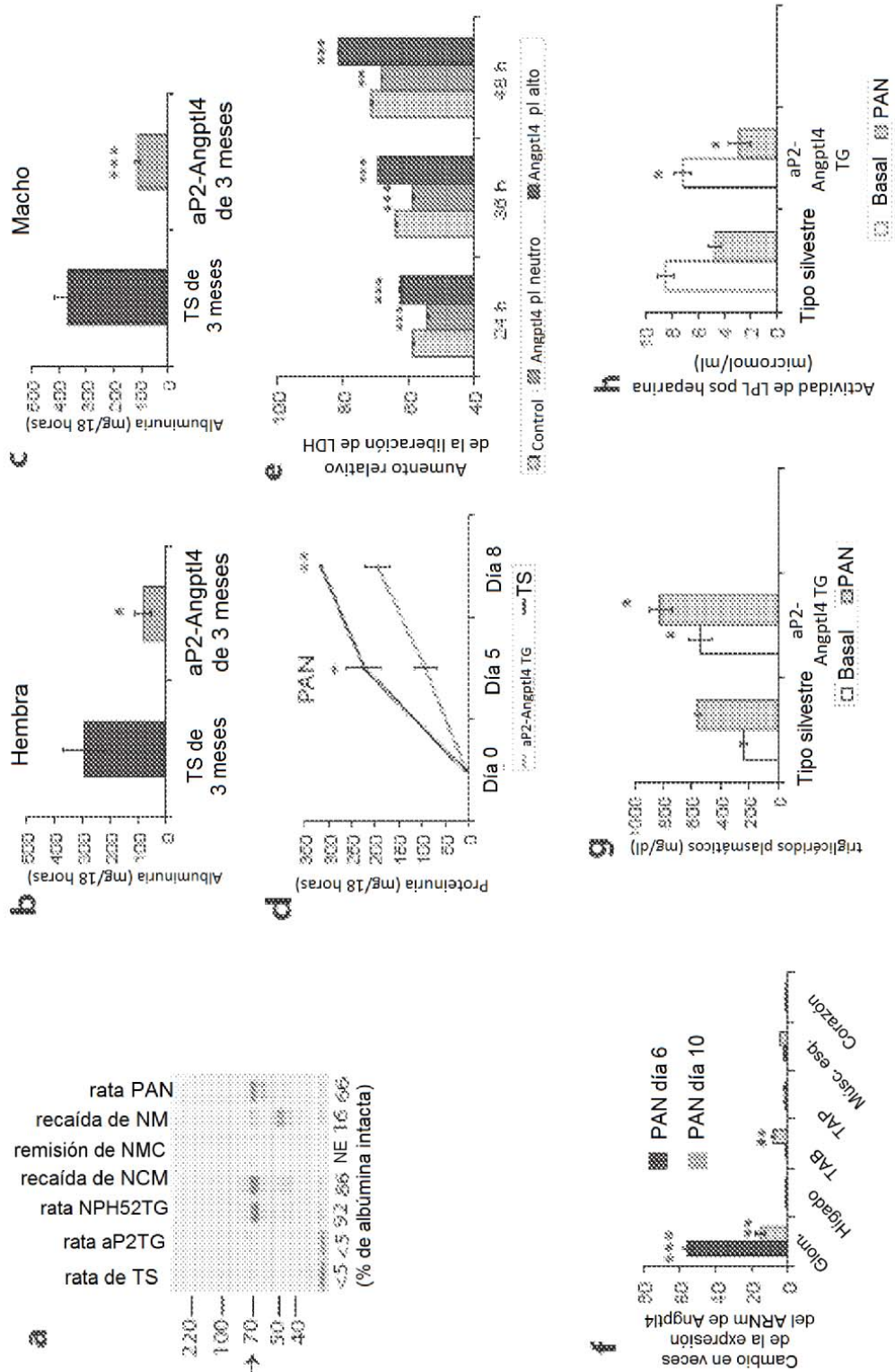


Figura 2

Gen/Transgén	Especie	Cebador directo	Cebador inverso	Sonda Taqman
Angptl4	Rata	tcgggatactccaccattttg	tcaccgtccagctctccat	ccactgagagagacttc
Angptl4	Rata	cgccaccccgtttacaca	cagagctgggatctggaaaagt	tgccaggaactctt
Construcción de aP2-Angptl4	Rata	tgttgatccagcccattgga	aggatagggttaccttcgaaatg	cagcagcctccc
Prolactina (genómica)	Rata	ctgaaaggatgaaaagataattagc	ccatgafcagaaaagcattgac	aggtgagcatttctctg

Figura 3

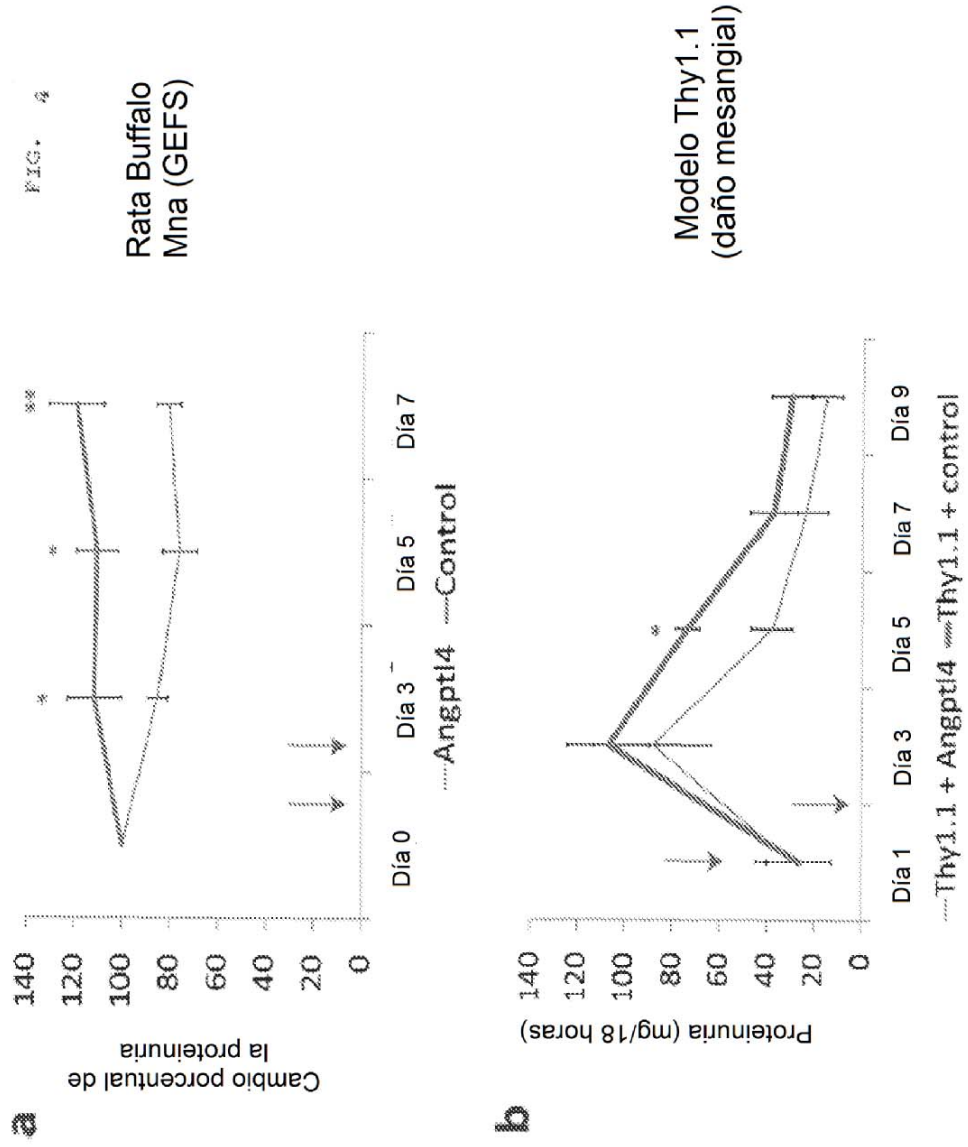


FIG. 5

SEQ ID NO: 1

MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQLSALER  
 RLSACGSACQGTEGSTDLPLAPESRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQSQFGL  
 LDHKHLDHEVAKPARRKRLPEMAQVDPAHNVSRLLHRLPRDCQELFQVGERQSGLFETIQPGSPFFLVNCKMTSD  
 GGWTVIQRRHDGSDVFNRPWEAYKAGFGDPHGEFWLGLKLVHSITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGE  
 DTAYSLQLTAPVAGQLGATTVPSPGLSVPFSTWDQDHLDRDKNCAKSLSGGWVFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQR  
 QKLKKGIFWKTWRGRYYPLQATTMLIQPMAAEAAAS  
 406 aminoácidos

SEQ ID NO: 2

1	ataaaaaaccg	tctctggggcg	cggcgggggag	aagccgagct	gagcggatcc	tcacacgact
61	gtgatccgat	tctttccagc	ggcttctgca	accaagcggg	tcttaccccc	ggctctccgc
121	gtctccagtc	ctcgcaectg	gaaccccaac	gtccccgaga	gtccccgaat	ccccgcctcc
181	aggctaccta	agaggatgag	cggtgctccg	acggccgggg	cagccctgat	gctctgccc
241	gccaccgccc	tgctactgag	cgctcagggc	ggaccctgct	agtccaagtc	gccgcgcttt
301	cgctctggg	acgagatgaa	tgtctggcg	cacggactcc	tgcagctcgg	ccaggggctg
361	cgcaaacacg	cggagcgcac	ccgcagtcag	ctgagcgcgc	tggagcggcg	cctgagcgcg
421	tgccgggtccg	cctgtcaggg	aaccgagggg	tccaccgacc	tcccgttagc	ccctgagagc
481	cgggtggacc	ctgaggtcct	tcacagcctg	cagacacaa	tcaaggctca	gaacagcagg
541	atccagcaac	tcttccacaa	ggtggcccag	cagcagcggc	acctggagaa	gcagcacctg
601	cgaattcagc	atctgcaaa	ccagtttggc	ctcctggacc	acaagcacct	agaccatgag
661	gtggccaagc	ctgcccgaag	aaagaggctg	cccagatgg	cccagccagt	tgaccgggct
721	cacaatgtca	gccgcctgca	ccggctgccc	agggattgcc	aggagctgtt	ccaggttggg
781	gagaggcaga	gtggactatt	tgaatccag	cctcaggggt	ctccgccatt	tttggtagac
841	tgcaagatga	cctcagatgg	aggctggaca	gtaattcaga	ggcgccacga	tggtcagtg
901	gacttcaacc	ggccctggga	agcctacaag	gcgggggttg	gggatcccc	cggcgagttc
961	tggtctgggtc	tgagagaagg	gcatagcatt	acgggggacc	gcaacagccg	cctggccctg
1021	cagctgcggg	actgggatgg	caacgccag	ttgctgcagt	tctccctgca	cctgggtggc
1081	gaggacacgg	cctatagcct	gcagctcact	gcaccctggg	ccggccagct	ggggccacc
1141	accgtcccac	ccagcggcct	ctccgtacc	ttctccactt	gggaccagga	tcacgacctc
1201	cgcagggaca	agaactgccc	caagctgccc	tctggaggct	ggtggtttgg	cacctgcagc
1261	cattccaacc	tcaacggcca	gtacttccgc	tccatccac	agcagcggca	gaagcttaag
1321	aagggaaatct	tctggaagac	ctggcggggc	cgctactacc	cgctgcaggc	caccaccatg
1381	ttgatccagc	ccatggcagc	agagggcagc	tcctagcgtc	ctggctgggc	ctggtcccag
1441	gcccacgaaa	gacggtgact	cttggtctctg	cccagggatg	tggccgttcc	ctgcctgggc
1501	aggggctcca	aggagggggc	atctggaaac	ttgtggacag	agaagaagac	cacgactgga
1561	gaagccccct	ttctgagtgc	aggggggctg	catgctgtgc	ctcctgagat	cgaggtctga
1621	ggatatgctc	agactctaga	ggcgtggacc	aagggcagtc	gagcttact	ccttgcctggc
1681	cagggagtgg	gggactcaga	gggaccactt	ggggccagcc	agactggcct	caatggcgga
1741	ctcagtcaca	ttgactgacg	gggaccaggg	cttgtgtggg	tcgagagcgc	cctcatggtg
1801	ctgggtgctgt	tgtgtgtagg	tcccctgggg	acacaagcag	gcgccaatgg	tatctggggc
1861	gagctcacag	agttcttgg	ataaaagcaa	cctcagaaca	cttaaaaaaa	aaaaaaaaaa
1921	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaa	

SEQ ID NO: 3

MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVQSKSPRFASWDEMNVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQLSALERRLSA  
 CGSACQGTEGSTDLPLAPESRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQSQFGLLDHK  
 HLDHEVAKPARRKRLPEMAQVDPAHNVSRLLHGGWTVIQRRHDGSDVFNRPWEAYKAGFGDPHGEFWLGLKLVH  
 SITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGEDTAYSLQLTAPVAGQLGATTVPSPGLSVPFSTWDQDHLDRR  
 KCAKSLSGGWVFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQRQKLKKGIFWKTWRGRYYPLQATTMLIQPMAAEAAAS  
 368 aminoácidos

SEQ ID NO: 4

1	ataaaaaaccg	tctctggggcg	cggcgggggag	aagccgagct	gagcggatcc	tcacacgact
61	gtgatccgat	tctttccagc	ggcttctgca	accaagcggg	tcttaccccc	ggctctccgc

```

121 gtctccagtc ctcgcaectg gaaccccaac gtccccgaga gtccccgaat ccccgctccc
181 aggctacctg agaggatgag cgggtgctccg acggccgggg cagccctgat gctctgcgcc
241 gccaccgccg tgctactgag cgctcagggc ggaccctgctc agtccaagtc gcccgctttt
301 gcgtcctggg acgagatgaa tgtcctggcg cacggactcc tgcagctcgg ccaggggctg
361 cgcgaacacg cggagcgcac ccgcagtcag ctgagcgcgc tggagcggcg cctgagcgcg
421 tgcgggtccg cctgtcaggg aaccgagggg tccaccgacc tcccgttagc ccctgagagc
481 cgggtggacc ctgaggtcct tcacagcctg cagacacaac tcaaggctca gaacagcagg
541 atccagcaac tcttccacaa ggtggcccag cagcagcggc acctggagaa gcagcacctg
601 cgaattcagc atctgcaaag ccagtttggc ctctgggacc acaagcacct agaccatgag
661 gtggccaagc ctgcccgaag aaagaggtg cccgagatgg cccagccagt tgaccggct
721 cacaatgtca gccgcctgca ccatggagge tggacagtaa ttcagagggc ccacatggc
781 tcagtggaact tcaaccggcc ctgggaagcc tacaaggcgg ggtttgggga tcccacggc
841 gagttctggc tgggtctgga gaaggtgcat agcatcacgg gggaccgcaa cagccgctg
901 gccgtgcagc tgcgggactg ggatggcaac gccgagttgc tgcagttctc cgtgcacctg
961 ggtggcgagg acacggccta tagcctgcag ctactgcac ccgtggccgg ccagctgggc
1021 gccaccaccg tcccaccag cggcctctcc gtacccttct cacttggga ccaggatcac
1081 gacctccgca gggacaagaa ctgcgccaa agcctctctg gaggtggtg gtttggcacc
1141 tgcagccatt ccaacctcaa cggccagtac ttccgctcca tcccacagca gcggcagaag
1201 cttaagaagg gaatcttctg gaagacctgg cggggccgct actaccgct gcagggcacc
1261 accatgttga tccagcccat ggcagcagag gcagcctct agcgtcctgg ctgggcctgg
1321 tcccaggccc acgaaagacg gtgactcttg gctctgccc aggatgtggc cgttccctgc
1381 ctgggcaggg gctccaagga gggccatct ggaacttgt ggacagagaa gaagaccacg
1441 actggagaag ccccttctct gagtgcaggg gggctgcat cgttgcctcc tgagatcgag
1501 gctgcaggat atgctcagac tctagaggcg tggaccaagg ggcagggagc ttcactcctt
1561 gctggccagg gagttgggga ctcagaggga ccactgggg ccagccagac tggcctcaat
1621 ggcggactca gtcacattga ctgacgggga ccagggttg tgtgggtcga gagcgcctc
1681 atggtgctgg tgctgttgg tgtaggtccc ctggggacac aagcagggc caatggtatc
1741 tgggcggagc tcacagagtt cttggaataa aagcaacctc agaactta aaaaaaaaaa
1801 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa

```

SEQ ID NO: 5

MRCAPTAGAALVLC AATAGLLSAQGRPAQPEPPRFASWDEMNL LAHGLLQLGHGLREHVERTRGQLGALERRM;  
CGNACQGPKGTDPKDRVPEGQAPETLQSLQTQLKAQNSKIQQLFQKVAQQQRYLSKQNLRIQNLQSQIDLLTP'  
LDNGVDKTSRGRKRLPKMAQLIGLTPNATRLHRPPRDCQELFQEGERHSGLFQIQPLGSPFFLVNCEMTSDGGW'  
IQRRLNQSVDFNQSW EAYKDFGDPQGEFWLGLKMH S ITGDRGSQLAVQLQDWDGNAKLLQFP IHLGGEDTA'  
LQLTEPTANELGATNVSPNGLSLPFSTWDQDHLRGLDNLCAKSLSGGWWFGTCSHSNLNGQYFHSIPRQRQR'  
GIFWKTWKGRYYPLQATLLIQPMEATAAS

405 aminoácidos

SEQ ID NO: 6

```

1 atgcgctgeg ctccgaccgc aggcgctgct ctagtgtat ggcagctactgcggggctg
61 ctgagcgcgc aagggcgccc tgcacagccg gagccgcgc gcttcgcatcctgggatgaa
121 atgaacttgc tggctcacgg gctgctgcag ctcggtcacg ggctgcgggaacacgtggag
181 cgcaccctg gacagctggg cgcgctggaa cgccgcatgg ctgcctgcggtaacgcttgt
241 caggggcccc aggggacaga cccgaaggat agagtcccc aaggccaggctcctgagact
301 ctgcagagtt tacagactca actcaaggct cagaacagca agatccagcaactgttccag
361 aaggtagccc agcagcagag atacctatca aagcagaatc tgagaatacagaatcttcag
421 agccagattg acctcttgac cccacacac ctagacaatg gggtagacaagacttcgagg
481 ggaaagagge tcccgaagat ggcccagctc attggcttga ctcccacgccaccgctta
541 cacaggcctc cccgggactg ccaggaactc tttcaagaag gggagcggcacagtggactt
601 ttccagatcc agcctctggg atctccacca tttttggtca actgtgagatgacttcagat
661 ggaggctgga cgggtgattca gagagcctg aacggctctg tggacttcaatcagctctgg
721 gaagcctaca aagatggctt cggagatccc caaggcgagt tctggctggcctagagaag
781 atgcacagca tcacagggga ccgaggaagc cagttggctg tgcagctccaggactgggat
841 ggcaatgcca aattgctcca atttctatc catttggggg gtgaggacacagcctacagc
901 ctgcagctca ccgagccac ggccaatgag ctgggtgcca ccaatgtttcccccaatggc
961 ctttccctgc ctttctctac ctgggaccaa gaccacgacc tccgaggggaccttaactgt

```

ES 2 663 096 T3

1021 gccaaagagcc tctctgggtg ctggtggttt ggcacctgca gccattccaatctaaatgga  
 1081 caatacttcc actctattcc acggcaacgg cagcagcgta aaaaggggatcttctggaaa  
 1141 acatggaag gccgctacta tccactacag gctaccaccc tgttgatccagcccattggag  
 1201 gctacagcag cctcttag

SEQ ID NO: 7

MRCAPTAGAALVLC AATAGLLSAQGRPAQPEPPRFASWDEMNL LAHGLLQLGHGLREHVERTRGQLGALERRMAA  
 CGNACQGPKGK DAPFKDSEDRVPEGQTPETLQSLQTQLKAQNSKIQLFQKVAQQQRYLSKQNLRIQNLSQSIDL  
 LAPTHLDNGVDKTSRGRKLPKMTQLIGLTPNATHLHRPPRDCQELFQEGERHSGLFQIQPLGSPFLVNC EMTSD  
 GGWTVIQRR LINGSVDFNQSW EAYKDFGDPQGEFWLGL EKMHSITGNRGSQ LAVQLQDWDGN AKLLQFP IHLGGE  
 DTAYS LQLTEPTANELGATNVS PNGLSLPFSTWDQD HDLRGDLNCAKSLSGGWWF GTCSHSNLNGQYFHSI PRQR  
 QERKKGIFWK TWKGRYYPLQAT TLLIQPMEATAAS  
 410 aminoácidos

SEQ ID NO: 8

1 acgggctcca gatcttcttc tgcaccagag caagtctaag tctgagccggctccccaga  
 61 actccagctg ctgggtcttg aactcctgcg ttccggagtc cttagcgttctgcacccaag  
 121 gccaccccc aatcatgctg ctgcgctccg acagcaggcg ctgccctggtgctatgcgcg  
 181 gctactgctg ggcttttgag cgcgcaaggg cgccctgcac agccagagccaccgcttt  
 241 gcatcctggg acgagatgaa ctgtctggct cacgggctgc tacagctcggccatgggctg  
 301 cgcgaacacg tggagcgcac ccgtgggcag ctgggcgcgc tggagcgcgcagctggctgcc  
 361 tgtggtaacg cttgtcaggg gcccaagggg aaagatgcac ccttcaaagactccgaggat  
 421 agagtccctg aaggccagac tcctgagact ctgcagagtt tgcagactcagctcaaggct  
 481 caaaacagca agatccagca attgttccag aagggtggccc agcagcagagatacctatca  
 541 aagcagaatc tgagaataca gaatcttcag agccagatag acctcttggccccacgcac  
 601 ctagacaatg gagtagacaa gacttcgagg ggaaagaggc ttcccaagatgaccagctc  
 661 attggcttga ctcccaacgc caccactta cacaggcgcg cccgggactgccaggaactc  
 721 ttccaagaag gggagaggca cagtggactt ttccagatcc agcctctggggtctccacca  
 781 tttttggtca actgtgagat gacttcagat ggaggctgga cagtgattcagagacgctg  
 841 aacggctctg tggacttcaa ccagtcctgg gaagcctaca aggatggctctggagatccc  
 901 caaggcaggt tctggctggg cctggaaaag atgcacagca tcacagggaaaccgaggaagc  
 961 caattggctg tgcagctcca ggactgggat ggcaatgcca aattgctccaatttccatc  
 1021 catttggggg gtgaggacac agcctacagc ctgcagctca ctgagcccaaggccaatgag  
 1081 ctgggtgcca ccaatgttcc cccaatggc ctttccctgc ccttctctacttgggaccaa  
 1141 gaccatgacc tccgtgggga ccttaactgt gccaaagacc tctctggtggctgggtggtt  
 1201 ggtacctgta gccattccaa tctcaatgga caatacttcc actctatcccacggcaacgg  
 1261 caggagcgtg aaaaggggat cttctggaaa acatggaagg gccgctactatcctctgcag  
 1321 gctaccaccc tgctgatcca gcccatggag gctacagcag cctcttagcctcctcactgg  
 1381 agcctggttc caggcctaag aagacagtga ctttgggtgt ggccctgagatttggccatt  
 1441 ctctgctggg ggcaggagct ctaagtaggg ctatctgctg cttgtggacaaagaagaagc  
 1501 ccgtaactgg agagactgga ggacccttt tccgtgttgg ggtctgcaagcattgtgtc  
 1561 tgaacagctc agagcaacag gaaacaaat gccagatcc agaaaacatgggctcgaggg  
 1621 gcaactgaata tcaacttctcg cctaccagag aagttgggga tgcagagggaccactacagt  
 1681 ccaactagct gggcccttaa tggcggactc agtcatattg actgactggagacaggggtgc  
 1741 caggagccct ggatacactc atggtgctgt tgtaggctgt gtaggagcagaggtgtaac  
 1801 tgtggttccc aggcacaact cacagcttc ttacaataaa aacaacctcagaacaaaaa  
 1861 aaaaaaaaa

SEQ ID NO: 9

MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVSQSKSPRFASWX<sub>39</sub>X<sub>40</sub>MNVLAHGLLQLGQLREHAERTRSQLSALERR  
 LSAX<sub>76</sub>GSAX<sub>80</sub>QTEGSTDLPLAPESRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLSQSF  
 GLLDHKHL DHEVAKPAX<sub>161</sub>X<sub>162</sub>X<sub>163</sub>X<sub>164</sub>LP EMAQPVDP AHNVSR LHLR LPRDCQELFQVGERQSGLFEIQPGSPP  
 FLVNCM TSX<sub>221</sub>GGWTVIQRR HDGSVDFNRPWEAYKAGFGDPHGEFWLGL EKVHSITGDRNSRLAVQLRDWDGNA  
 ELIQF SVHLGGEDTAYS LQLTAPVAGQLGATTVP SGLSVPFSTWDQD HDLRDRDKNCAKSLSGGWWF GTCSHSNL  
 NGQYFRSIPQQRQLKKGI FWKTRGRYYPLQAT TMLIQPMAAEAAAS  
 406 aminoácidos

ES 2 663 096 T3

SEQ ID NO: 10

MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVQSKSPRFASWX<sub>39</sub>X<sub>40</sub>MNVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQLSALERR  
LSAX<sub>76</sub>GSAX<sub>80</sub>QGTEGSTDLPLAPESRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQSQF  
GLLDHKHLDHEVAKPAX<sub>161</sub>X<sub>162</sub>X<sub>163</sub>X<sub>164</sub>LPEMAQPVDPAHNVSRLHHGGWTVIQRRHDGSVDFNRPWEAYKAGFG  
DPHGEFWLGLKVVHSITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGEDTAYSLQLTAPVAGQLGATTVPVPSGLSV  
PFSTWDQDHLRDRDKNCAKSLSGGWWFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQRQKLLKGI FWKTWRGRYYPLQATTMLIQP  
MAAEAAS

368 aminoácidos