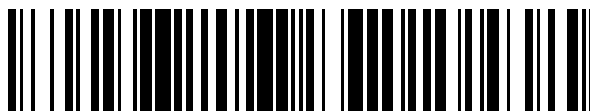


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 699**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

A61P 15/00 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.12.2011 PCT/IS2011/050014**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.06.2012 WO12081040**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2011 E 11848091 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2651430**

54 Título: **Actividad biológica de la proteína placentaria 13**

30 Prioridad:

14.12.2010 IS 8940

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.08.2018

73 Titular/es:

**HANANJA EHF (25.0%)
Aflagrandi 7
107 Reykjavik, IS;
GIZURARSON, SVEINBJORN (25.0%);
MEIRI, HAMUTAL (25.0%) y
UNIVERSITY OF ICELAND (25.0%)**

72 Inventor/es:

**GIZURARSON, SVEINBJORN y
MEIRI, HAMUTAL**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

ES 2 677 699 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

Actividad biológica de la proteína placentaria 13

5 **Campo de la invención**

[0001] La presente invención se refiere al efecto biológico, fisiológico, inmunológico y farmacológico de la proteína placentaria 13 (PP-13), sus fracciones, derivados y expresiones génicas. En particular, la invención se refiere a composiciones para uso en procedimientos para prevenir la preeclampsia de hembras de mamífero gestantes, especialmente de mujeres embarazadas. Ello facilita y hace posible una intervención clínica temprana cuando se determina una afección preecláptica o el riesgo de su padecimiento con el fin de curar, revertir o reducir la gravedad de las afecciones patológicas asociadas con el trastorno.

Antecedentes de la invención

15 **[0002]** La preeclampsia es un síndrome definido por hipertensión y proteinuria que aparece después de veinte (20) semanas de gestación y que puede estar también asociado a una multitud de otros signos y síntomas, tales como edema, trastornos visuales, enzima hepática elevada, hemolisis, pocas plaquetas, dolores de cabeza y dolor epigástrico [1]. Una forma secundaria de la enfermedad, denominada HELLP, que significa hemolisis, enzima hepática elevada y pocas plaquetas, puede producirse con o sin hipertensión y el término preeclampsia incluye esta forma secundaria a lo largo de este documento. La enfermedad complica el 3-7 % de todos los embarazos y es un trastorno materno multiorgánico que constituye la principal causa de fallecimiento de los niños y las madres durante el embarazo. Aunque las manifestaciones clínicas aparecen a partir de la semana 20, los mecanismos subyacentes pueden comenzar ya en el momento de la implantación. A medida que la enfermedad progresa, puede convertirse en el tipo grave denominado eclampsia, causada por un angioespasmo en el cerebro y un edema cerebral que pueden resultar en ataques epilépticos graves, ictus y muerte.

30 **[0003]** La etiología de la preeclampsia se desconoce, pero se piensa que, durante la placentación, la invasión por las células placentarias, los trofoblastos, de la capa de las arterias espirales de la pared uterina parece ser incompleta [2-3] y la gravedad de la hipertensión puede estar relacionada con el grado de invasión trofoblástica [4]. Como consecuencia, se produce vasoconstricción y una elevada resistencia al flujo sanguíneo. La etiología también se describe como una perfusión placentaria reducida (o insuficiencia placentaria), en combinación con estrés oxidativo que causa un daño general de las células endoteliales dentro de la placenta, que puede resultar en inflamación endotelial y afectar al sistema vascular materno y a la vascularización de los riñones.

35 **[0004]** Aproximadamente un tercio de los casos aparece en el primer embarazo. Otros factores de riesgo incluyen gestaciones multifetales, concepción a través de fertilización in vitro, en particular, la donación de ovocitos. trastornos de preeclampsia e hipertensión en un embarazo anterior, historial familiar de preeclampsia, hipertensión crónica, diabetes pregestacional, enfermedad vascular y del tejido conectivo, nefropatía, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, lupus eritematoso sistémico (LES), obesidad, una edad de 35 años y superior, adolescentes y la raza afroamericana [5]. La preeclampsia es una causa principal de mortalidad y morbilidad materna, responsable de aproximadamente el 12-18 % de todas las muertes maternas relacionadas con el embarazo. También está asociada con una elevada mortalidad y morbilidad perinatal. El único tratamiento curativo para la preeclampsia hoy día es el nacimiento del feto y la extracción de la placenta.

45 **[0005]** Las madres que padecen preeclampsia en el embarazo presentan mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes y sus descendencias presentan riesgo de obesidad y diabetes, además de trastornos del desarrollo tales como trastornos motores y cognitivos y ceguera.

50 **[0006]** La disminución de la perfusión uterina asociada con el aumento de la resistencia vascular puede detectarse mediante una ecografía Doppler de las arterias uterinas maternas. El aumento de la impedancia en la perfusión arterial uterina o el aumento del índice de pulsabilidad y muescas en la ecografía Doppler indican que la madre puede presentar un gran riesgo de padecer eclampsia, que resulte en diversos problemas endoteliales tales como una inflamación endotelial general. Los síntomas de la preeclampsia aparecen típicamente en el tercer trimestre del embarazo y se detectan normalmente mediante una monitorización rutinaria de la presión sanguínea y las proteínas de la orina de la mujer.

[0007] Actualmente, no se conoce más cura para la preeclampsia que el nacimiento del feto. Sin embargo, la decisión de provocar el parto en una paciente con preeclampsia debe equilibrar los riesgos tanto maternos como

fetales. La gravedad de la preeclampsia puede variar de leve a potencialmente mortal. Una forma leve de la preeclampsia puede mantenerse leve con reposo en la cama y monitorización frecuente. En los casos de moderados a graves, es necesaria la hospitalización y se prescribe medicación para la presión sanguínea y medicamentos anticonvulsivos para prevenir ataques. Si la afección se convierte en potencialmente mortal para la madre o el bebé, la única cura es terminar el embarazo, lo que a menudo resulta en un recién nacido prematuro debido al nacimiento antes de término. Hay dos objetivos principales en el tratamiento de mujeres con preeclampsia: la prevención de ataques o eclampsia y el control de la hipertensión. Para la prevención de ataques se ha venido usando sulfato de magnesio, normalmente en administración intravenosa. Un complemento diario de calcio y el uso temprano de aspirina puede reducir la frecuencia del trastorno, especialmente si se administra antes de las 16 semanas. No se ha demostrado que las vitaminas antioxidantes eviten la preeclampsia. El tratamiento de los niveles de presión sanguínea con los fármacos labetalol o hidralazina ha mostrado beneficios, aunque solo por un tiempo limitado. Se han encontrado nuevos biomarcadores que pueden usarse para detectar el síndrome. Uno de estos se expresa en la placenta ya durante el primer trimestre y puede usarse para predecir embarazos de riesgo, la proteína denominada proteína placentaria 13 (PP-13) [6]. Se ha demostrado que la concentración de PP-13 está alterada en la sangre materna en caso de trastornos del embarazo como la preeclampsia. Más recientemente, algunos estudios han demostrado que los niveles séricos de PP-13 están significativamente reducidos en las semanas 6-13 en los casos en los que se produce una preeclampsia de aparición tanto temprana como tardía [7]. PP-13 es un miembro de la superfamilia de galectinas de tipo S que se unen a β -galactosidasa y solo se expresa en los tejidos placentarios de primates superiores y, dentro de los trofoblastos vellosos, sólo puede encontrarse en los sincitiotrofoblastos multinucleados [8]. PP-13 se expresa y libera al espacio intervelloso, donde entra en la circulación materna y puede detectarse en la sangre materna. Mientras que en los embarazos no afectados las concentraciones séricas de PP-13 aumentan moderadamente desde el primer al tercer trimestre del embarazo, las mujeres que padecen preeclampsia comienzan con un nivel de PP-13 inferior al normal en el primer trimestre y se ha desarrollado una prueba de diagnóstico para usar el nivel inferior de PP-13 como medida para predecir un alto riesgo de preeclampsia. Los niveles de PP-13 aumentan marcadamente entre el primer y el tercer trimestre en las mujeres que entran en la fase activa de la enfermedad. Este notable cambio en el nivel de PP-13 contribuye además a predecir el riesgo de padecer el trastorno.

Resumen de la invención

[0008] Como se muestra anteriormente, existe la necesidad de identificar a las pacientes embarazadas con riesgo de padecer enfermedades asociadas con el embarazo, preferentemente aquellas con riesgo de padecer preeclampsia y eclampsia, y de proporcionarles los regímenes de tratamiento apropiados. La presente invención proporciona tal prevención, la cual ha demostrado proporcionar el efecto biológico necesario para influir en la fisiopatología de la enfermedad, por ejemplo, previniendo la aparición de la preeclampsia o reduciendo su gravedad, cuando se administra al sistema circulatorio materno en mujeres embarazadas que han sido identificadas con riesgo de padecer o que padecen preeclampsia o se administra al embarazo de otra manera. El mejor resultado se producirá si la mujer embarazada recibe el tratamiento de acuerdo con la invención antes de la semana 20.

[0009] La presente invención se basa en estudios de los inventores sobre la proteína placentaria 13 (PP-13). PP-13 pertenece a un grupo de proteínas que se unen a azúcares denominadas galectinas, de las que no se ha demostrado que estén asociadas con un efecto cardiovascular o renal ni con cualquier otro efecto biológico en el nivel de estrés. Sin embargo, esta proteína o galectina ofrece más esperanza de un tratamiento significativo que cualquier otra de las sugerencias disponibles en la actualidad. Los numerosos estudios sobre PP-13 nunca han sugerido o asociado esta proteína con la recuperación de la fisiopatología de la preeclampsia. Además, el procedimiento para el diagnóstico de mujeres embarazadas con riesgo de padecer preeclampsia de acuerdo con la presente invención es muy importante para esta invención. Adicionalmente, el procedimiento para monitorizar la progresión o la regresión del factor de riesgo antes de la semana 20 también es importante para esta invención, con el fin de ayudar a las mujeres embarazadas a evitar la preeclampsia o la eclampsia con todos los graves riesgos que estas implican para las mujeres y/o los fetos.

[0010] Sorprendentemente, se ha demostrado que PP-13 causa la dilatación de las arterias y las venas, lo que resulta en una reducción de la resistencia vascular y el precondicionamiento de las arterias, así como una angiogénesis local en las arterias uterinas y disminuye el nivel de estrés después de su administración a un mamífero hembra. Inesperadamente, esto es exactamente lo que se necesita o lo que les falta a estas mujeres diagnosticadas con preeclampsia, no en la etapa activa de la enfermedad, sino también en su etapa preclínica, cuando se desarrolla la patología subyacente. Interesantemente, esta vasodilatación se produce ya en el primer trimestre, formando la conexión entre un bajo nivel de PP-13 y una alta impedancia Doppler como se identificaron en las mujeres con riesgo de padecer preeclampsia. Existe la necesidad de un fármaco o un tratamiento que pueda

usarse tan pronto como se identifiquen signos tempranos de un alto riesgo de padecer preeclampsia, preferentemente tan pronto como se detecte el embarazo, después de la concepción. El comienzo óptimo del tratamiento debe tener lugar tan pronto como se detecten bajos niveles de PP-13, por ejemplo, en las semanas 5-20, preferentemente en las semanas 6-18 o con mayor preferencia en las semanas 7-16.

5

Descripción detallada

[0011] En un primer aspecto, la invención proporciona un compuesto para usar como medicamento para afectar a la fisiopatología del embarazo con el fin de prevenir enfermedades asociadas con el embarazo en humanos (mujeres) tales como la preeclampsia y/o la eclampsia, en que el compuesto es la proteína placentaria 13 (PP-13), con la máxima preferencia la proteína nativa de longitud completa (como se expresa en tejido humano), pero también puede ser una subunidad activa de la misma.

[0012] La fisiopatología afectada por la invención puede ser la fisiología de la enfermedad relacionada con, pero sin limitarse a uno cualquiera de los sistemas cardiovascular, renal o inmunitario y/o la psicología de la enfermedad. Preferentemente, el compuesto afecta a la fisiología asociada con la vascularización uterina.

[0013] La PP-13 para usar de acuerdo con la invención puede derivar de una fuente adecuada tal como tejido placentario humano, o sobreexpresarse en un cultivo de células humanas o animales, organismos transgénicos o células que expresan la PP-13 humana.

[0014] Burger y col. [9] describen la secuencia completa de la proteína PP-13 humana y la secuencia nucleotídica que la codifica y exponen cómo puede sobreexpresarse la proteína en un cultivo de células bacterianas, y aislarse y purificarse. En realizaciones útiles de la invención, se usan otros cultivos celulares para la sobreexpresión de PP-13, tales como, pero sin limitarse a células de origen humano, células animales, células fúngicas o células vegetales, u organismos transgénicos tales como animales transgénicos, incluidos ratones, cerdos, vacas o plantas transgénicas. En una realización, la proteína se expresa y aísla de células BeWo, que se usan regularmente como modelo de cultivo celular para simular la sincitización de los trofoblastos vellosos placentarios *in vivo*.

30

[0015] La proteína comprende 139 aminoácidos y tiene un peso molecular de aproximadamente 16 kDa (calculado 15,6 kDa). La secuencia de la proteína se representa en el listado de secuencias adjunto como SEQ ID NO:1 y la secuencia de ADNc que la codifica como SEQ ID NO:2 (codón iniciador en la posición 15). La proteína PP-13 se encuentra en el cuerpo como una proteína dimerica de 32 kDa que se secreta al fluido extracelular de la placenta y alcanza la circulación sanguínea materna, el líquido amniótico y la orina. De acuerdo con la presente invención, pueden usarse tanto el monómero como el dímero, así como también oligómeros. La proteína se expresa en y puede aislarse de la placenta y sus diversas capas, de sincitiotrofoblastos, trofoblastos extravelosos y del vello coriónico de la placenta.

[0016] La proteína como se encuentra en el cuerpo humano está glucosilada y en realizaciones preferidas se usan formas glucosiladas en la presente invención, es decir, un monómero, dímero o fragmento glucosilado; sin embargo, las formas sin glucosilar también son útiles y dentro del alcance de esta invención, tales como aquellas formas que se expresan en sistemas de expresión que no son capaces de glucosilar proteínas. En algunos de los ejemplos acompañantes, se usa PP-13 sin glucosilar, expresada en sistemas de expresión bacterianos y estas formas muestran actividad de acuerdo con la invención.

[0017] En realizaciones útiles de la invención, se usa la proteína PP-13 nativa pegilada. La pegilación se refiere a la unión covalente de cadenas poliméricas de polietilenglicol a la proteína. Los procedimientos para la pegilación de proteínas son bien conocidos para los expertos en la técnica, véase, por ejemplo, Fee [10].

50

[0018] El compuesto y los procedimientos de la presente invención proporcionan diversas vías de administración de acuerdo con la presente invención. Estas incluyen, pero no se limitan a inyecciones (inyecciones intravenosas, intradérmicas, subcutáneas o uterinas), infusiones, administración por vía nasal, pulmonar, rectal o vaginal o administración a través del cuello uterino o mediante cualquier dispositivo transdérmico o subdérmico.

55

[0019] De acuerdo con la invención, la administración de PP-13 proporciona un preacondicionamiento de las arterias y angiogénesis, así como un efecto endotelial y/o un efecto neuronal sobre la vascularización uterina, las arterias y/o las venas, que causa su dilatación y prepara el útero para la necesidad de recibir un aumento del flujo sanguíneo para soportar, entre otras cosas, el rápido crecimiento fetal después de la semana 20 del embarazo.

[0020] De acuerdo con la invención, la administración de PP-13 proporciona un preacondicionamiento de las arterias y angiogénesis, un efecto endotelial y/o un efecto neuronal sobre la vascularización sistémica, las arterias y/o las venas, que causa su dilatación, lo que resulta en menor resistencia vascular y una disminución de la presión sanguínea sistémica, tanto la presión sanguínea sistólica como diastólica, para proporcionar la presión sanguínea óptima para que la placenta, los riñones y también otros órganos funcionen adecuadamente durante el embarazo. La vasodilatación en los riñones y otros órganos no reproductores es una de las primeras adaptaciones maternas que se producen durante el embarazo. De acuerdo con la invención, la administración de PP-13 proporciona un efecto endotelial y/o neuronal sobre la vascularización renal, las arterias y/o las venas, que causa su dilatación, lo que es muy importante que ocurra antes de finalizar el primer trimestre. De acuerdo con la invención, el bajo nivel de PP-13 o su falta no pueden proporcionar los cambios necesarios en la tasa de filtración glomerular o en la reabsorción tubular antes de la semana 20 después de la concepción, a menos que se proporcione al cuerpo materno una administración externa de PP-13 para preparar los riñones para los cambios necesarios.

[0021] De acuerdo con la invención, la administración de PP-13 afecta al nivel de estrés de la madre causando un efecto en el sistema nervioso central (SNC) y/o afectando a las glándulas suprarrenales que producen los glucocorticoides, lo que hace que las mujeres embarazadas estén más relajadas y preparadas para el tiempo de gestación restante.

[0022] La administración de PP-13 debe tener lugar tan a menudo como sea necesario, tal como una vez o más a menudo, y hasta un número de veces sin límite. Preferentemente de manera regular, en una variedad de regímenes desde una dosis diaria hasta una vez a la semana, para proporcionar al cuerpo materno la cantidad necesaria de la proteína. Preferentemente, la dosis debe calcularse de acuerdo con la fórmula siguiente, pero sin limitarse a ella:

$$D = (C_{deseada} - C_{actual}) \cdot V_d \cdot W$$

en la que D es la dosis; $C_{deseada}$ es la concentración plasmática deseada de PP-13; C_{actual} es la concentración plasmática actual de PP-13; V_d es el volumen de distribución y W es el peso corporal. Los cálculos pueden tener que ajustarse con respecto a la creatinina sérica, el aclaramiento renal, la albúmina y/u otros parámetros biológicos.

[0023] En una realización preferida, el mamífero es humano (una mujer).

[0024] En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención se administra en dosis que proporcionan una concentración sérica de PP-13 en el intervalo de 100-600 pg/ml, preferentemente en el intervalo de aproximadamente 150-300 pg/ml y, con mayor preferencia, una concentración en el intervalo de aproximadamente 175-260 pg/ml. Preferentemente, el compuesto se administra en una dosis que proporciona concentraciones séricas equivalentes de PP-13 en el intervalo de aproximadamente 100-600 pg/ml, preferentemente en el intervalo de aproximadamente 150-300 pg/ml de la proteína placentaria 13. La administración de PP-13 de acuerdo con la invención puede llevarse a cabo en solitario o en combinación con otros compuestos biológicamente activos tales como, pero sin limitarse a relaxina, 17β -estradiol y/o progesterona.

[0025] Tales concentraciones pueden obtenerse adecuadamente con concentraciones de las dosis en disoluciones de inyección en el intervalo de aproximadamente 1-10 $\mu\text{g/ml}$, tales como en el intervalo de 2-6 $\mu\text{g/ml}$, tales como de aproximadamente 2, 3 o 5 $\mu\text{g/ml}$. Las dosis de inyección adecuadas de tales formulaciones de inyección estarían en el intervalo de 200 μl a 2 ml, tales como en el intervalo de 0,5-1 ml.

En las realizaciones que usan dispositivos de nebulización nasal, pueden administrarse adecuadamente dosis en el intervalo de 50-200 μl , tales como de aproximadamente 100 μl , en una o dos descargas, como se ilustra en los ejemplos acompañantes.

En las realizaciones que usan un pesario vaginal, pueden mezclarse dosis en el intervalo de 5-200 μl , tales como de aproximadamente 50 μl , con un gel vaginal para hacerlas adecuadas para su administración en uno o dos usos o en un uso diario, de manera similar a cómo se usa la progesterona para prevenir el parto prematuro.

[0026] Además, la administración de PP-13 puede usarse de acuerdo con esta invención para preacondicionar las arterias en general, especialmente arterias tales como las cardíacas, tanto en hombres como en mujeres, así como para usar PP-13 o sus derivados para inducir angiogénesis en regiones específicas del cuerpo, tales como el cerebro o el corazón, tanto en hombres como en mujeres.

EJEMPLOS

[0027] La PP-13 usada en todos los experimentos fue una PP-13 humana purificada, expresada en un cultivo celular y/o un cultivo bacteriano (*E. coli*), producida (aislada y purificada) por Hy-Labs, Ltd- Rehovot, Israel (www.hylabs.co.il).

Ejemplo 1

10 **[0028]** Un grupo de conejos recibió 15 ng/kg de PP-13 diluida en disolución salina. La administración tuvo lugar en la vena marginal de la oreja, lentamente durante 30 segundos. Los animales se observaron y se les tomaron muestras de sangre durante las horas siguientes.

15 **[0029]** *Resultados:* se encontró que el volumen de distribución era de 221,9 ml/kg y que la semivida era de 10,6 horas. En un plazo de 5 minutos desde el comienzo de la administración intravenosa del fármaco, el comportamiento de los animales cambió de estar muy alerta a quedar relajados, tranquilos y sin escaparse al acercarse a ellos para tomar la siguiente muestra de sangre.

20 **[0030]** *Discusión:* PP-13 afecta a los niveles de estrés y relaja y tranquiliza a los animales, lo que es una función importante de PP-13 durante la gestación.

Ejemplo 2

25 **[0031]** Se produjeron formulaciones de PP-13 con PP-13 purificada (3,0 µg/ml) y PP-13 pegilada (equivalente a 3,0 µg/ml de PP-13 pura) en disolución salina. Aproximadamente 1 ml de estas disoluciones se administró lentamente por vía intravenosa a mujeres embarazadas en la semana 11, que tenían niveles de PP-13 de aproximadamente 20 pg/ml. La toma de muestras de sangre subsiguiente demostró que la concentración sérica final, una hora después de la administración era de aproximadamente 200 µg/ml. Las mujeres que recibieron la PP-13 purificada requirieron dosis adicionales diarias hasta la semana 20 desde de la concepción, mientras que las 30 mujeres que habían recibido la PP-13 pegilada requirieron dosis adicionales a intervalos semanales.

Ejemplo 3

35 **[0032]** Se preparó una formulación de PP-13 con PP-13 purificada (60 µg/ml) y PP-13 pegilada (equivalente a 60 µg/ml de PP-13 pura) en disolución salina que contenía metoxipolietilenglicol (mPEG 350) al 2 %. La formulación se puso en una botella de nebulización nasal multidosis. Dos veces al día, las mujeres embarazadas que tenían un bajo nivel sérico de PP-13 o presentaban al menos un factor importante de riesgo de preeclampsia (o dos más leves, clasificados de acuerdo con la OMS) usaron una descarga (aproximadamente 0,1 ml o 6 µg) de estas disoluciones en la semana 11, con niveles de PP-13 de aproximadamente 20 pg/ml. La toma de muestras de sangre subsiguiente 40 demostró que la concentración sérica final, una hora después de la administración era de aproximadamente 200 pg/ml. Las mujeres que recibieron la PP-13 pegilada necesitaron solo una descarga al día hasta la semana 20 desde la concepción, en que la edad gestacional se predefinió por el último periodo menstrual o se determinó mediante ecografía.

45 **Ejemplo 4**

[0033] Se recogen muestras de mujeres embarazadas. La mujer embarazada puede ser una persona en la que se ha determinado un alto riesgo de preeclampsia sobre la base de su historial personal o familiar u otros factores de riesgo según define la OMS y/o después de la determinación de su bajo nivel de PP-13.

50

[0034] Se produce una formulación de PP-13 y se administra al cuello uterino mediante técnicas y formulaciones farmacéuticamente aceptables, de tal manera que la PP-13 se absorbe en el útero a través del cuello uterino.

55 **Ejemplo 5**

[0035] Una rata de 244 g se anestesió con Brietal (50 mg/kg) y después con Inactin (110 mg/kg). Después de la anestesia, la rata se preparó y se equipó con un tensiómetro (intraarterial) sobre una placa de temperatura controlada para mantener su temperatura a aproximadamente 37 °C. Cuando la presión sanguínea se estabilizó

(aproximadamente 45-60 min), la rata recibió una dosis IV de 0,1 ml de la disolución de PP-13 (dosis = 15 ng). Los resultados obtenidos se muestran en la figura 1, que ilustra los efectos reductores de la presión sanguínea por parte de PP-13 de acuerdo con la invención, en que la línea superior muestra la presión sanguínea, la línea media muestra el pulso y la inferior (punteada) muestra la presión arterial media.

5

Ejemplo 6

[0036] Se puso PP-13 en un sistema de bombas osmóticas Alzet que liberaba aproximadamente 0,14 ng/min. Las bombas se colocaron quirúrgicamente en hembras gestantes de rata Sprague-Dawley de 15 semanas de edad, mientras que los controles recibieron las bombas con disolución salina. Periódicamente se determinó la PP-13 sanguínea en muestras de sangre y recogidas de orina.

10

[0037] El grupo de PP-13 mostró una presión sanguínea, tanto sistólica como diastólica, significativamente inferior a la de los animales de control. Al mismo tiempo, el ritmo cardíaco aumentó significativamente en el grupo de PP-13, indicativo de que se había producido una vasodilatación general, y la resistencia periférica se redujo en aproximadamente el 35 %. La placenta también mostró angiogénesis.

15

REFERENCIAS

20 **[0038]**

1. ACOG Practical Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists: Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia, número 33, enero de 2002, págs. 159-167.
2. Zhou Y., Fisher S. J., Janatpour M., Genbacev O., Dejana E., Wheelock M. y col. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate: a strategy for successful endovascular invasion? J. Clin. Invest. 1997; 99: 2139-2151.
3. Fox H. The placenta in pregnancy hypertension. En: Rubin PC ed. Handgook of hypertension, volumen 10: Hypertension in pregnancy. Nueva York: Elsevier 1988: 16-37.
4. Madazli R., Budak E., Calay Z., Aksu M. F. Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule and fibronectin levels in pre-eclampsia. BJOG 2000; 107: 514-518.
5. Walker J. J. Pre-eclampsia. Lancet 2000; 356: 1260-1265.
6. Than N. G., Sumegi B., Than G. N., Berente Z., Bohn H. Isolation and sequence analysis of a cDNA encoding human placental tissue protein 13 (PP13), a new lysophospholipase, homologue of human eosinophil Charcot-Leyden crystal protein. Placenta 1999; 20: 703-710.
7. Huppertz B., Sammar M., Chefetz I., Neumaier-Wagner P., Bartz C., Meiri H. Longitudinal determination of serum placental protein 13 during development of preeclampsia. Fetal Diagn. Ther. 2008; 24: 230-236.
8. Than N. G., Romero R., Goodman M., Weckle A., Xing J., Dong Z. y col. A primate subfamily of galectins expressed at the maternal-fetal interface that promote immune cell death. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2009; 106: 9731-9736.
9. Burger O., Pick E., Zwickel J., Klayman M., Meiri H., Slotky R., Mandle S., Rabinovitch L., Paltieli Y., Admon A., Gonen R. Placental Proten 13 (PP-13): Effects on Cultured Trophoblasts, and Its Detection in Human Body Fluids in normal and Pathological Pregnancies. Placenta 2004; 25: 608-622.
10. Fee C. J. (2009), "Protein conjugates purification and characterization", PEGylated Protein Drugs: Basic Science and Clinical Applications, Veronese F. M., ed. Birkhauser Publishing: Basilea, 113-125.

45

LISTADO DE SECUENCIAS

[0039]

50 <110> Hananja ehf.; Universidad de Islandia; GIZURARSON, Sveinbjorn; MEIRI, Hamutal

<120> ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LA PROTEÍNA PLACENTARIA 13

<130> P8727PC00

55

<150> IS8940

<151> 14.12.2010

<160> 2

ES 2 677 699 T3

<170> BiSSAP 1.0

<210> 1

5 <211> 139

<212> Proteína

<213> *Homo sapiens*

<220>

10 <221> Fuente

<222> 1...139

<223> /tipo de molécula = "proteína" /organismo = "*Homo sapiens*"

<400> 1

15

```

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

```

<210> 2

<211> 578

20 <212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> Fuente

25 <222> 1...578

<223> /tipo de molécula = "ADN" /organismo = "*Homo sapiens*"

<400> 2

ES 2 677 699 T3

caacacgagg aacaatgtct tctttaccgg tgccatacaa actgcctgtg tctttgtctg 60
ttggttcctg cgtgataatc aaagggacac caatccactc ttttatcaat gacccacagc 120
tgcaggtgga tttctacact gacatggatg aggattcaga tattgccttc cgtttccgag 180
tgcactttgg caatcatgtg gtcatagaaca ggcgtgagtt tgggatatgg atgttggagg 240
agacaacaga ctacgtgccc tttgaggatg gcaaacaatt tgagctgtgc atctacgtac 300
attacaatga gtatgagata aaggccaatg gcatacgcat ttacggcttt gtccatcgaa 360
tcccgccatc atttgtgaag atggtgcaag tgtcgagaga tatctcctg acctcagtgt 420
gtgtctgcaa ttgagggaga tgatcacact cctcattggt gaggaatccc tctttctacc 480
tgacatggg attcccagaa cctgctaaca gaataatccc tgctcacatt ttcccctaca 540
ctttgtcatt aaaacagcac caaaactcaa aaaaaaaaa 578

REIVINDICACIONES

1. Proteína placentaria 13 (PP-13), que se selecciona entre la PP-13 nativa humana y una subunidad activa de la PP-13 humana, para uso en la prevención de enfermedades asociadas con el embarazo en una mujer embarazada seleccionadas entre una o más del grupo que consta de trastornos de hipertensión tales como preeclampsia, HELLP y eclampsia
2. PP-13 para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en que el compuesto es PP-13 humana pegilada.
- 10 3. PP-13 para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en que el compuesto se administra al cuerpo mediante un procedimiento seleccionado entre inyecciones, infusiones, la vía nasal, pulmonar, rectal o vaginal o se administra a través del cuello uterino o mediante cualquier dispositivo transdérmico o subdérmico.
4. PP-13 para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en que el compuesto se deriva de una fuente seleccionada entre la placenta humana, un cultivo de células humanas, células madre placentarias o cualquier otro sistema de células madre, un cultivo celular transgénico que sobreexpresa la PP-13 humana, incluido un cultivo de células bacterianas, un cultivo de células de mamíferos y un cultivo de células de plantas, y organismos transgénicos que sobreexpresan la PP-13 humana, incluidos animales transgénicos y plantas transgénicas.
- 15 5. PP-13 para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en que dicho compuesto es la proteína glucosilada.
- 20 6. PP-13 para uso de acuerdo con la reivindicación 1, cuyo compuesto se formula para una administración seleccionada entre inyección, infusión, administración por vía nasal, administración por vía pulmonar, administración por vía rectal, administración por vía vaginal, administración a través del cuello uterino y administración mediante un dispositivo transdérmico o subdérmico.
- 25 7. PP-13 para uso de acuerdo con la reivindicación 1, que se formula en una formulación para inyección y preferentemente en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 µg/ml.
- 30

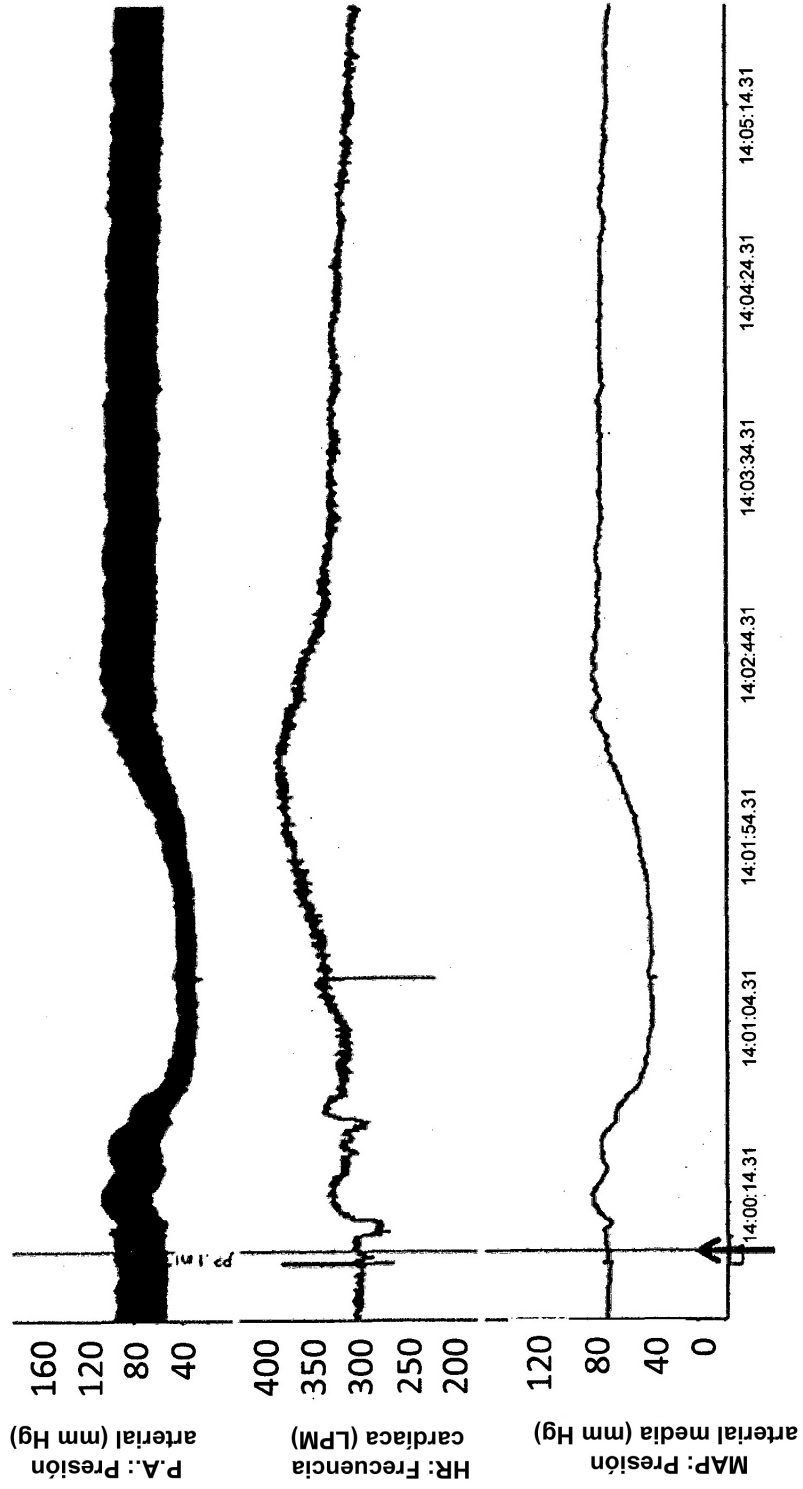


Figura 1