

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 772 802**

51 Int. Cl.:

A61K 38/48 (2006.01)

A61P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.01.2015 PCT/IB2015/050313**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.07.2015 WO15110939**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.01.2015 E 15708578 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2019 EP 3096779**

54 Título: **Composiciones y procedimientos para tratar la hemorragia intracerebral**

30 Prioridad:

24.01.2014 US 201461931071 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.07.2020

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)
235 East 42nd Street
New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**ARKIN, STEVEN;
FRUEBIS, JOACHIM;
CARR, MARCUS E.;
HETT, SUNITA;
JASUJA, REEMA y
PITTMAN, DEBRA D.**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 772 802 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

Composiciones y procedimientos para tratar la hemorragia intracerebral

Referencia cruzada a solicitud relacionada

La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/931,071, presentada el 24 de enero de 2014.

Referencia a la lista de secuencias

El Listado de Secuencias presentado simultáneamente con la presente bajo 37 CFR §1.821 en un formato legible por ordenador (CRF) a través de EFS-Web como nombre de archivo PC072056A_SEQLIST_ST25.txt. La copia electrónica del Listado de secuencias se creó el 06 de enero de 2015, con un tamaño de archivo de 7 kilobytes.

Antecedentes de la invención

Se necesitan terapias eficaces para controlar el sangrado excesivo en una variedad de afecciones clínicas en las que el sangrado no puede controlarse mediante intervención quirúrgica u otros medios. Uno de los síndromes clínicos más devastadores que involucran sangrado incontrolado es la hemorragia intracerebral (ICH). Una ICH no traumática es un sangrado hacia el parénquima del cerebro que puede extenderse hacia los ventrículos. Al menos el diez por ciento de los casos de accidente cerebrovascular en todo el mundo se deben a ICH. Las estimaciones para el número de personas afectadas anualmente en los Estados Unidos varían de 37,000-52,400 a 79,500 (Qureshi, et al, N Engl J Med 344(19): 1450-1460 (2001); Roger, et al, Circulation 125: e2-220 (2012)) y se espera que la incidencia aumente a medida que la población envejezca. La ICH continúa siendo asociada con malos resultados clínicos. Aproximadamente el 40-50 % de los pacientes mueren dentro del lapso de un mes (Qureshi; Broderick, et al, Stroke 38: 2001-2023 (2007)) y una gran proporción de las personas afectadas no logra recuperar la independencia funcional a los seis meses (Broderick). La ICH es, por lo tanto, una causa importante de discapacidad permanente parcial o completa.

Se ha demostrado que el volumen de hematoma después de una hemorragia intracerebral es un predictor independiente de mortalidad y morbilidad en pacientes con ICH (Broderick, et al, Stroke 24: 987-993 (1993)). La expansión del volumen de hematoma se produce en aproximadamente el 26 % de los pacientes con hemorragia intracerebral dentro del lapso de 1 hora de la línea base de la tomografía computarizada (Brott, et al, Stroke 28: 1-5 (1997)) y la expansión del hematoma es un predictor independiente adicional de mortalidad y mal pronóstico del paciente (Davis, et al., Neurology 66: 1175-1181 (2006); Delcourt, et al., Neurology 79: 314-319 (2012)).

No existen terapias aprobadas para el tratamiento de la ICH y el tratamiento actual es en gran medida de apoyo (Rincon and Mayer, Critical Care 12: 237-250 (2008)). Por ejemplo, la administración del factor de coagulación recombinante VIIa redujo la expansión del hematoma en pacientes con ICH, pero no mejoró la función neurológica a los 90 días (Mayer, et al, NEJM 358: 2127-2137 (2008)). En consecuencia, para reducir la mortalidad y mejorar los resultados neurológicos funcionales, existe una necesidad imperiosa en la técnica de terapias efectivas para prevenir la ICH en pacientes susceptibles y para tratar a los pacientes con ICH.

Sumario de la invención

Los solicitantes han abordado esta necesidad clínica insatisfecha crítica proporcionando composiciones para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la ICH, incluidas las composiciones para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la ICH. En los siguientes párrafos se exponen realizaciones particulares no limitantes de la invención. La presente invención es como se describe y establece en las reivindicaciones, y en particular la presente invención proporciona; una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en el tratamiento de la hemorragia intracerebral (ICH), en la que la variante del Factor Xa (FXa) incluye al menos una mutación de sustitución seleccionada del grupo que consiste en (a) el aminoácido en la posición correspondiente a 235 en SEQ ID NO: 1 se sustituye con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly; y (b) el aminoácido en la posición correspondiente a 236 en SEQ ID NO: 1 está sustituido con Leu, Ala o Gly.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en el tratamiento de la hemorragia intracerebral (ICH) en un sujeto mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante del Factor Xa (FXa) que incluye al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 o 236 en SEQ ID NO: 1. También se divulgan variantes de FXa que incluyen al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 y/o 236 en SEQ ID NO: 1 para su uso en el tratamiento de la hemorragia intracerebral (ICH) en un sujeto. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en la reducción de la probabilidad de que un sujeto con ICH muera como resultado de la ICH, administrando al sujeto

una cantidad terapéuticamente efectiva de un Factor Xa (FXa) variante que incluye al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 o 236 en SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en la mejora de la función cerebral de un sujeto después de que el sujeto haya sufrido ICH, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un Factor Xa (FXa) variante que incluye al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 o 236 en SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly. De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, la función cerebral mejorada está asociada con la reducción de la presión intracraneal elevada (PIC) en el sujeto causada por ICH a o por debajo de una presión de 80 mm Hg, 70 mm Hg, 60 mm Hg, 50 mm Hg, 40 mm Hg , 30 mm Hg, 20 mm Hg o 10 mm Hg. En otras realizaciones divulgadas, la función cerebral mejorada está asociada con el mantenimiento de la presión de perfusión cerebral (CPP) a una presión de 40 mm Hg, 50 mm Hg, 60 mm Hg, 70 mm Hg, 80 mm Hg, 90 mm Hg, 100 mm Hg, 110 mm Hg o 120 mm Hg. En otras realizaciones divulgadas, la función cerebral mejorada se asocia con el mantenimiento de la tensión de oxígeno del tejido cerebral (P_{btO_2}) a una presión de 6 mm Hg, 8 mm Hg, 10 mm Hg, 12 mm Hg, 14 mm Hg, 16 mm Hg, 18 mm Hg, 20 mm Hg, 22 mm Hg o 24 mm Hg. En otras realizaciones divulgadas, la función cerebral mejorada está asociada con la reducción de la proporción de las concentraciones de lactato a piruvato (LAR) a 60, 50, 40, 30 o 20. En otras realizaciones divulgadas, la función cerebral mejorada está asociada con la reducción de la relación del índice de reactividad de la presión cerebrovascular (PRx) a 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,0, -0,1, -0,2 o -0,3.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en la reducción del deterioro neurológico de un sujeto después de que el sujeto haya sufrido ICH administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante del Factor Xa (FXa) incluyendo al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 o 236 en SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly. De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, se evalúa el deterioro neurológico reducido usando la Puntuación Coma de Glasgow y, como resultado del tratamiento, el puntaje del sujeto mejora de 3 a 4 o superior, de 4 a 5 o superior, de 5 a 6 o superior, de 6 a 7 o superior, de 7 a 8 o superior, de 8 a 9 o superior, de 9 a 10 o superior, de 10 a 11 o superior, de 11 a 12 o superior, de 12 a 13 o superior, de 13 a 14 o superior, o de 14 a 15. En otras realizaciones divulgadas, el deterioro neurológico se evalúa utilizando la versión extendida de la Escala de Resultados de Glasgow y como resultado del tratamiento, la puntuación promedio de los sujetos tratados mejora a 1 o mejor, 2 o mejor, 3 o mejor, 4 o mejor, 5 o mejor, 6 o mejor, 7 o mejor, u 8. En otras realizaciones divulgadas, el deterioro neurológico se evalúa usando el Índice de Barthel y como resultado del tratamiento, la puntuación promedio de los sujetos tratados mejora a 10 o mejor, 20 o mejor, 30 o mejor, 40 o mejor, 50 o mejor, 60 o mejor, 70 o mejor, o 80 o mejor, o 90 o mejor. En otras realizaciones divulgadas, el deterioro neurológico se evalúa usando la Escala de ACV NIH y como resultado del tratamiento, la puntuación promedio de los sujetos tratados se reduce de 42 a 41 o menos, de 41 a 40 o menos, de 40 a 39 o menos, de 39 a 38 o menos, 38 a 37 o menos, 37 a 36 o menos, 36 a 35 o menos, 35 a 34 o menos, 34 a 33 o menos, 33 a 32 o menos, 32 a 31 o menos, 31 a 30 o menos, 30 a 29 o menos, 29 a 28 o menos, 28 a 27 o menos, 27 a 26 o menos, 26 a 25 o menos, 25 a 24 o menos, 24 a 23 o menos, 23 a 22 o menos, 22 a 21 o menos, 21 a 20 o menos, 20 a 19 o menos, 19 a 18 o menos, 18 a 17 o menos, 17 a 16 o menos, 16 a 15 o menos, 15 a 14 o menos, 14 a 13 o menos, 13 a 12 o menos, 12 a 11 o menos, 11 a 10 o menos, 10 a 9 o menos, 9 a 8 o menos, 8 a 7 o menos, 7 a 6 o menos, 6 a 5 o menos, 5 a 4 o menos, 4 a 3 o menos, 3 a 2 o menos, 2 a 1 o menos, o 1 a 0. En otras realizaciones divulgadas, la discapacidad neurológica se evalúa usando la escala de parentesco Rankin modificada y como resultado del tratamiento, la puntuación promedio de los sujetos tratados se reduce de entre aproximadamente 5 y 6 a entre aproximadamente 4 y 5, de entre aproximadamente 4 y 5 a entre aproximadamente 3 y 4, de entre aproximadamente 3 y 4 a entre aproximadamente 2 y 3, de entre aproximadamente 2 y 3 a entre aproximadamente 1 y 2, o de entre aproximadamente 1 y 2 a entre aproximadamente 0 y 1. En otras realizaciones divulgadas, el deterioro neurológico se evalúa usando la Escala Rankin modificada y como resultado del tratamiento, la proporción de sujetos tratados con un puntaje de la Escala Rankin modificada de 5 o 6 se reduce en comparación con los que tienen un puntaje de 0, 1, 2, 3 o 4. En otras realizaciones divulgadas, el deterioro neurológico se evalúa usando la Escala Rankin modificada y como resultado del tratamiento, la proporción de sujetos tratados con una puntuación de la Escala Rankin modificada de 4, 5 o 6 se reduce en comparación con aquellos que obtienen una puntuación de 0, 1, 2 o 3.

De acuerdo con ciertas realizaciones, la divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en la reducción del edema perihemorrágico (PHE) de un sujeto después de que el sujeto haya sufrido ICH administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un Factor Xa (FXa) variante que incluye al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 o 236 en SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con

Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly. De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, el tratamiento reduce el volumen promedio de PHE en sujetos con ICH en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento reduce el aumento promedio de la presión intracraneal causada por la PHE en sujetos con ICH en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación con los controles no tratados.

De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, la divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en la reducción o prevención de la expansión del volumen de hematoma en un sujeto después de que el sujeto haya sufrido ICH, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un Factor Xa (FXa) variante que incluye al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 o 236 en SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly. De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, el tratamiento reduce la expansión del volumen de hematoma promedio en sujetos con ICH en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento reduce la expansión del volumen de hematoma promedio en sujetos en al menos aproximadamente 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml, 3 ml, 3,5 ml, 4 ml, 4,5 ml, 5 ml, 5,5 ml, 6 ml, 6,5 ml, 7 ml, 7,5 ml, 8 ml, 8,5 ml, 9 ml, 9,5 ml, 10 ml, 10,5 ml, 11 ml, 11,5 ml, 12 ml, 12,5 ml, 13 ml, 13,5 ml, 14 ml, 14,5 ml, 15 ml, 16 ml, 17 ml, 18 ml, 19 ml, 20 ml, 22 ml, 24 ml, 26 ml, 28 ml, 30 ml, 35 ml, 40 ml, 45 ml o 50 ml, en comparación con controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento da como resultado una reducción en la proporción de sujetos en quienes el volumen de hematoma se ha expandido 3 ml o más, 6 ml o más, o 12,5 ml o más en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento da como resultado una reducción en la proporción de sujetos en los que el volumen de hematoma se ha expandido en un 15 %, 20 %, 25 %, 30 % o 33 % o más en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento da como resultado una reducción en la proporción de sujetos que tienen una puntuación de signo de punto de 4, 3, 2 o 1 después del tratamiento en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados. En otras formas de realización más descritas, la puntuación del signo de punto se determina 30 min, 45 min, 60 min, 75 min, 90 min, 2 h, 2,5 h, 3 h, 3,5 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h, 9 h, 10 h, 11 h, 12 h, 18 h, 24 h, 30 h, 48 h, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 18 días, 3 semanas o 4 semanas después de la primera administración de la variante de FXa.

De acuerdo con otras realizaciones divulgadas de la divulgación, se proporcionan variantes del Factor Xa (FXa) que incluyen al menos una mutación de sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a 235 y/o 236 en la SEQ ID NO: 1 para su uso en el tratamiento de la hemorragia intracerebral (ICH) en un sujeto, mejorando la función cerebral de un sujeto con ICH, para reducir el deterioro neurológico de un sujeto con ICH, para reducir el edema perihemorrágico (PHE) en un sujeto con ICH o para reducir o prevenir la expansión del volumen de hematoma en un sujeto con ICH. En algunas realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 235 puede ser con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly. En algunas otras realizaciones divulgadas, la sustitución en la posición correspondiente a la posición 236 puede ser con Leu, Ala o Gly.

Y, de acuerdo con otras formas más de realización divulgadas, cualquiera de las formas de realización divulgadas anteriormente se puede caracterizar además porque la hemorragia intracerebral se produce en el cerebro, el lóbulo frontal, el lóbulo parietal, el lóbulo occipital, el lóbulo temporal, el cerebelo, el tronco encefálico del cerebro, mesencéfalo, protuberancia, médula, glándula pituitaria, hipotálamo, tálamo, hipocampo, amígdala, claustrum o ganglios basales.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1A muestra los resultados de un ensayo de generación de trombina (TGA) que prueba el efecto de agregar diferentes concentraciones de la variante activada del Factor X FXa^{16L} sobre la cantidad de trombina producida después de que se haya iniciado la coagulación en muestras de plasma humano normal. Durante el transcurso del tiempo de 60 minutos del experimento, la adición de FXa^{16L} resultó en un aumento dependiente de la dosis en la generación de trombina en comparación con el plasma tratado solo con vehículo.

La Figura 1B muestra los resultados de un ensayo de generación de trombina (TGA) que prueba el efecto de agregar diferentes concentraciones de Factor X pdFXa activado derivado de plasma sobre la cantidad de trombina producida después de que se inició la coagulación en muestras de plasma humano normal. Durante

el transcurso del tiempo de 60 minutos del experimento, la adición de pdFXa resultó en un aumento dependiente de la dosis en la generación de trombina en comparación con el plasma tratado solo con vehículo.

La Figura 1C muestra el tiempo de retraso para la fase de iniciación de la coagulación calculada a partir de los datos de los experimentos descritos en la Figura 1A y la Figura 1B. En comparación con el plasma humano tratado solo con vehículo, tanto pdFXa como FXa^{16L} acortaron el tiempo de retraso, aunque el tiempo de retraso para el plasma tratado con FXa^{16L} fue más largo que el plasma tratado con pdFXa.

La Figura 2A muestra el efecto del pretratamiento con concentraciones crecientes de FXa^{16L} sobre la pérdida de sangre en ratones no hemofílicos después de la transección de la cola. El tratamiento con FXa^{16L} antes de la transección de la cola causó una disminución dependiente de la dosis en la pérdida de sangre total en comparación con los ratones tratados con vehículo solamente.

La Figura 2B muestra el efecto del pretratamiento con concentraciones crecientes de FXa^{16L} sobre la pérdida de sangre en ratas no hemofílicas después de la transección de la cola. El tratamiento con FXa^{16L} antes de la transección de la cola causó una disminución dependiente de la dosis en la pérdida de sangre total en comparación con las ratas tratadas solo con vehículo.

La Figura 3A muestra el efecto del tratamiento con concentraciones crecientes de FXa^{16L} sobre el volumen de hematoma en ratones manipulados experimentalmente para producir sangrado intracerebral como modelo animal para ICH. El tratamiento con FXa^{16L} después del sangrado inducido experimentalmente en el tejido cerebral causó una disminución dependiente de la dosis en el volumen de hematoma en comparación con los ratones tratados con vehículo solamente.

La Figura 3B muestra la disminución porcentual en el volumen de hematoma en comparación con el vehículo en relación con la dosis según los datos de la Figura 3A.

La Figura 4A muestra el efecto del tratamiento con concentraciones crecientes de FXa^{16L} sobre el volumen de hematoma en ratas manipuladas experimentalmente para producir sangrado intracerebral como modelo animal para ICH. El tratamiento con FXa^{16L} después del sangrado inducido experimentalmente en el tejido cerebral causó una disminución dependiente de la dosis en el volumen de hematoma en comparación con las ratas tratadas solo con vehículo.

La Figura 4B muestra el porcentaje de disminución en el volumen de hematoma en comparación con el vehículo en relación con la dosis. Con base en los datos de la Figura 4A.

La Figura 5 es la secuencia de aminoácidos de la preproteína del Factor X humano de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1). El péptido de señalización corresponde a los aminoácidos 1-23. El propéptido corresponde a los aminoácidos 24-40. La cadena liviana madura del Factor X activado (FXa) corresponde a los aminoácidos 41-179. La cadena pesada madura de FXa activado (después de la eliminación del péptido de activación) corresponde a los aminoácidos 235-488. El péptido de activación (AP) corresponde a los aminoácidos 183-234.

La Figura 6 es la secuencia de nucleótidos del ADNc que codifica la preproteína del Factor X humano de tipo salvaje (SEQ ID NO: 2). La secuencia de codificación corresponde a los nucleótidos 58 a 1524.

Descripción detallada

Se demostró previamente que una variante del Factor de coagulación Xa que tiene propiedades zimogénicas es efectiva para inhibir el sangrado incontrolado en animales hemofílicos. Sin embargo, no se sabía ni se predijo si esta variante podría detener efectivamente el sangrado incontrolado en animales con sistemas de coagulación intactos. Los solicitantes han demostrado que esta variante es un procoagulante eficaz en animales no hemofílicos y también puede reducir la expansión del hematoma en modelos animales no hemofílicos de hemorragia intracerebral. Con base en estos nuevos estudios, se espera que las variantes de FXa de la divulgación, y las composiciones que comprenden tales variantes, sean útiles para su uso en el tratamiento y prevención de ICH en sujetos no hemofílicos, incluidos seres humanos y animales no humanos. El tratamiento de un sujeto de ICH con una variante de FXa puede mejorar la calidad de vida y el funcionamiento neurológico del sujeto y reducir la gravedad de los síntomas y el deterioro causado por ICH en comparación con los controles no tratados. Las variantes de Factor Xa (FXa) para su uso en el tratamiento y prevención de ICH usando las variantes y composiciones de FXa de la presente divulgación se describen con más detalle a continuación.

Factor Xa y sus variantes

El factor de coagulación X (FX) es un zimógeno que, tras la activación por el factor IX intrínseco/factor VIII o la vía extrínseca (factor tisular/factor VIIa), se convierte en FXa, que es la unidad estructural proteasa de la protrombinasa. Después de la escisión proteolítica del enlace escindible Arg-Ile, liberando un péptido de activación (AP), una serie de cambios estructurales bien definidos en el zimógeno conduce el proceso de activación a la serina proteasa activa madura (Véase Toso et al., (2008) J Biol. Chem. 283, 18627-18635; Bunce et al., (2011) Blood 117, 290-298; e Ivanciu et al., (2011) Nat. Biotechnol. 29, 1028-1033). El FXa maduro tiene una cadena liviana y una cadena pesada

que contiene el dominio catalítico. El FXa maduro se convierte en una serina proteasa activa tras la formación del complejo de protrombinasa, que incluye la unión de un cofactor activado, Factor Va (FVa).

Se han desarrollado formas variantes de FX que tras la escisión de activación producen una variante de FXa similar a zimógeno. Es decir, una vez escindida, la variante de FXa resultante tiene una función de sitio activa deficiente y es más resistente a la inactivación por inhibidores circulares (es decir, antitrombina III y TFPI). Las variantes de FXa, por lo tanto, tienen vidas medias más largas en plasma que FXa de tipo salvaje. La variante de FXa se une a FVa, membrana lipídica y calcio para formar un complejo de protrombinasa completamente activo que activa de manera eficiente la protrombina.

Las variantes similares a zimógeno de FXa circulan en la conformación similar a zimógeno y no parecen ser trombogénicas (Véase Toso et al., (2008) J. Biol. Chem. 283, 18627-18635 e Ivanciu et al., (2011) Nat. Biotechnol. 29, 1028-1033). Ejemplos de tales variantes de FXa están descritos en la Publicación Internacional de Patente WO2007/059513.

Las enzimas de coagulación son enzimas similares a la tripsina que pertenecen a la familia de proteasas peptidasa S1 que tienen un pliegue similar a la quimotripsina. Las proteasas de coagulación contienen dominios catalíticos que son altamente homólogos entre sí y con las serina proteasas ancestrales de la digestión. La homología/identidad estructural es tan grande (>70 %) que los residuos en los dominios catalíticos de las enzimas de coagulación (incluido el Factor Xa) se numeran de acuerdo con los residuos correspondientes en quimotripsinógeno. (Sistema de numeración de quimotripsina; véase Bajaj and Birktoft, Methods Enzymol. 1993; 222: 96-128, Tabla 2, y Bode W, Mayr I, Bauman Y, et al. The refined 1,9 Å crystal structure of human alpha-thrombin: interaction with D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone and significance of the Tyr-Pro-Trp insertion segment. EMBO J 1989; 8(11): 3467-3475). En consecuencia, los aminoácidos se pueden referir aquí según el sistema de numeración de quimotripsina, que es bien conocido por los expertos en la materia.

De acuerdo con la divulgación, una variante de FXa puede ser una proteína FXa que comprende una sustitución de aminoácidos que hace que la variante sea más parecida al zimógeno en comparación con una proteína FXa de tipo salvaje *in vivo* o *in vitro*. Las variantes de FXa de la divulgación recuperan sustancialmente la actividad de FXa de tipo salvaje tras la formación de protrombinasa. Ejemplos de variantes de FXa que son útiles en usos médicos de la divulgación son variantes que comprenden una modificación seleccionada del grupo que consiste en: a) Ile en la posición 16 es Thr, Leu, Phe, Asp o Gly y b) Val en la posición 17 es Leu, Ala o Gly, de acuerdo con el sistema de numeración de quimotripsina. Los aminoácidos 16 y 17 en el sistema de numeración de quimotripsina se producen en los aminoácidos 235 y 236, respectivamente, de la SEQ ID NO: 1 (preproteína del factor X humano). En ciertas realizaciones divulgadas, las variantes de FXa son FXa^{16L} y FXa^{16T} (la nomenclatura utilizada aquí para las variantes de FXa cita el aminoácido original en la posición numerada de acuerdo con el sistema de numeración de quimotripsina seguido por el aminoácido sustituido). Las variantes de FXa pueden ser variantes de cualquier FXa de mamífero. Sin embargo, son de particular interés las variantes de FXa de FXa humano.

En ciertas realizaciones divulgadas, la variante FX que se activa en una variante de FXa de la divulgación puede modificarse adicionalmente insertando un sitio de escisión proteolítica intracelular no nativa. En un ejemplo no limitante, para expresar variantes de FXa similares a zimógeno "activadas" en células de mamífero, se puede insertar un sitio de escisión proteolítica intracelular no nativa entre Arg en la posición 234 de la SEQ ID NO: 1 (posición 15 en el sistema de numeración de quimotripsina) y el aminoácido en la posición correspondiente a la posición 235 de SEQ ID NO: 1 (posición 16 en el sistema de numeración de quimotripsina) en la variante FX zimogénica. En ciertas realizaciones divulgadas, el sitio de escisión de proteasa intracelular no nativo es Arg-Lys-Arg o Arg-Lys-Arg-Arg-Lys-Arg (SEQ ID NO: 3). Estos sitios de escisión son reconocidos eficientemente por las proteasas (enzimas similares a la furina/PACE) dentro de la célula y son eliminados. Esta escisión puede dar como resultado una variante procesada de FXa en la que la cadena pesada madura de la molécula ahora comienza en el aminoácido en la posición correspondiente a la posición 235 de la SEQ ID NO: 1 (posición 16 en el sistema de numeración de quimotripsina). La introducción de este sitio de escisión en dicha posición permite la conversión intracelular de FX a FXa.

En ciertas realizaciones divulgadas, la secuencia de aminoácidos completa del péptido de activación de variante de FX (AP) (es decir, los aminoácidos 183-234 de SEQ ID NO: 1) se reemplaza con un sitio de escisión de proteasa intracelular no nativo. De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, el sitio de escisión de proteasa intracelular no nativo es Arg-Lys-Arg o Arg-Lys-Arg-Arg-Lys-Arg (SEQ ID NO: 3). Como se explicó anteriormente, esta modificación permite la escisión intracelular de la variante FX expresada por las células. La escisión intracelular convierte la variante FX en una variante de FXa de tipo zimógeno activada que luego es secretada por las células para su posterior purificación. Este enfoque evita la necesidad de una escisión extracelular que de otro modo sería necesaria para activar el factor de coagulación variante, por ejemplo, después de aislar la proteína o justo antes de la coagulación sanguínea.

En ciertas realizaciones divulgadas, las variantes de FXa de la divulgación se derivan de preproteínas variantes de FX que comprenden la secuencia de señal humana y/o la secuencia de propéptido de tipo salvaje nativo. En otras realizaciones divulgadas, las secuencias de señal FX y/o el propéptido de especies no humanas se pueden usar en lugar de las secuencias de aminoácidos nativas correspondientes. Y en otras realizaciones más divulgadas, la

secuencia de señalización y/o la secuencia de propéptido de otras proteínas secretadas humanas o no humanas se pueden usar en lugar de las secuencias de aminoácidos nativas correspondientes.

En una realización divulgada a modo de ejemplo, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 235 (isoleucina en la secuencia de tipo salvaje) está sustituido con un aminoácido diferente seleccionado del grupo que consiste en treonina (Thr), leucina (Leu), fenilalanina (Phe), ácido aspártico (Asp) o glicina (Gly). Estas sustituciones pueden escribirse respectivamente usando la nomenclatura I235T, I235L, I235F, I235D e I235G, donde la primera letra es el código de una letra para isoleucina y la última letra es el código de letra única para el aminoácido que se sustituye en el tipo salvaje secuencia. Debido a que la posición 235 de la SEQ ID NO: 1 es equivalente a la posición 16 en el sistema de numeración de quimotripsina, las mismas sustituciones se pueden escribir 116T, 116L, 116F, 116D y 116G. En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 235 está sustituido con Thr (es decir, I235T o I16T). En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 235 está sustituido con Leu (es decir, I235L o I16L). En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 235 está sustituido con Phe (es decir, I235F o I16F). En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 235 está sustituido con Asp (es decir, I235D o I16D). En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 235 está sustituido con Gly (es decir, I235G o I16G).

Según otra realización divulgada a modo de ejemplo, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 236 (valina en la secuencia de tipo salvaje) está sustituido con un aminoácido diferente seleccionado del grupo que consiste en leucina (Leu), alanina (Ala) o glicina (Gly). Estas sustituciones pueden escribirse respectivamente usando la nomenclatura V236L, V236A y V236G, donde la primera letra es el código de letra única para valina y la última letra es el código de letra única para el aminoácido que se sustituyen la secuencia de tipo salvaje. Debido a que la posición 236 de la SEQ ID NO: 1 es equivalente a la posición 17 en el sistema de numeración de quimotripsina, se pueden escribir las mismas sustituciones V17L, V17A y V17G. En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 236 está sustituido con Leu (es decir, V236L o V17L). En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 236 está sustituido con Ala (es decir, V236A o V17A). En una realización divulgada, una variante de FXa comprende los aminoácidos 41-179 y los aminoácidos 235-488 de la SEQ ID NO: 1, en donde el aminoácido en la posición 236 está sustituido con Gly (es decir, V236G o V17G).

En otras realizaciones divulgadas, las variantes de FXa de la divulgación, incluidas las variantes específicas descritas en los párrafos anteriores, pueden incluir diversas isoformas de la cadena pesada ligera y/o madura de la proteína. Las isoformas de ejemplo no limitantes de la cadena pesada madura variante de FXa incluyen las versiones alfa y beta de la cadena pesada madura. Jesty et al., J Biol Chem. 1975 Jun 25; 250(12): 4497-504. Las composiciones de la divulgación pueden incluir proteínas variantes de FXa en las que están representadas una u otra o ambas isoformas de cadena pesada madura alfa y beta.

Según aún otras realizaciones divulgadas, las isoformas de las proteínas variantes de FXa, incluidas las variantes específicas descritas en los párrafos anteriores, pueden incluir isoformas en las que un número variable de aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más aminoácidos) faltan o se agregan al terminal carboxi de la cadena liviana y/o las cadenas pesadas maduras de la proteína.

De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, las variantes de FXa de la divulgación incluyen proteínas con un cierto grado mínimo de homología o identidad de secuencia en comparación con la secuencia de aminoácidos de FXa de tipo salvaje en SEQ ID NO: 1. Así, por ejemplo, las variantes de FXa incluyen proteínas que contienen una cadena pesada ligera y madura que tienen al menos una secuencia homóloga o idéntica al 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % con las cadenas pesadas ligeras y maduras FXa de tipo salvaje en SEQ ID NO: 1, en donde tales variantes de FXa también incluyen una sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a la posición 235 de SEQ ID NO: 1 con Thr, Leu, Phe, Asp, o Gly, o una sustitución en la posición de aminoácidos correspondiente a la posición 236 de la SEQ ID NO: 1 con Leu, Ala o Gly, y además en el que dichas variantes de FXa son zimogénicas hasta que se incorporan al complejo de protrombinasa. En la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la secuencia de cadena liviana FXa de tipo salvaje corresponde a los aminoácidos 41 a 179 y la secuencia de cadena pesada madura de FXa de tipo salvaje corresponde a los aminoácidos 235 a 488. Porcentaje de homología de secuencia de aminoácidos o la identidad se puede determinar fácilmente utilizando un software como Protein BLAST disponible en el sitio web del Centro Nacional de Información Biotecnológica (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

De acuerdo con otras realizaciones divulgadas no limitantes, las variantes de FXa de la divulgación también pueden incluir variantes de FXa que contienen una o más modificaciones postraduccion que incluyen, sin limitación, uno o

más grupos carbohidrato unidos a O o N o una variable cantidad de residuos de ácido gamma-carboxiglutámico (Gla). Las variantes de FXa de la divulgación pueden incluir además proteínas variantes de FXa modificadas químicamente. También son posibles otras variantes de FXa útiles en el uso médico de la divulgación.

- 5 Como se usa en el presente documento, el término FXa^{16x} se refiere a una variante del Factor X activado en el que el aminoácido correspondiente a la posición 235 en SEQ ID NO: 1 (correspondiente a la posición 16 en el sistema de numeración de quimotripsina) se cambia del aminoácido en la secuencia de tipo salvaje (isoleucina) a un aminoácido diferente denotado "x". En algunas realizaciones divulgadas a modo de ejemplo no limitantes, el aminoácido "x" puede ser treonina (Thr o T), leucina (Leu o L), fenilalanina (Phe o F), ácido aspártico (Asp o D) o glicina (Gly o G).
- 10 Como se usa en el presente documento, el término FXa^{17y} se refiere a una variante del Factor X activado en el que el aminoácido correspondiente a la posición 236 en la SEQ ID NO: 1 (correspondiente a la posición 17 en el sistema de numeración de quimotripsina) se cambia del aminoácido en la secuencia de tipo salvaje (valina) a un aminoácido diferente denotado "y". En algunas realizaciones divulgadas a modo de ejemplo no limitantes, el aminoácido "y" puede ser leucina (Leu o L), alanina (Ala o A) o glicina (Gly o G).
- 15 Los términos FXa^{16x} y FXa^{17y} no están limitados por la secuencia de proteínas establecida en SEQ ID NO: 1. Más bien, estos términos incluyen adicionalmente la variedad de isoformas y proteínas homólogas descritas en el presente documento con las mutaciones de sustitución especificadas en las posiciones 16 o 17 en el sistema de numeración de quimotripsina que se comportan como zimógenos hasta que se incorporan al complejo de protrombinasa.
- 20 Se puede producir una variante de FXa de la divulgación por cualquier técnica para expresar una proteína.

Una "proteína aislada", "polipéptido aislado" o "variante aislada" es una proteína, polipéptido o variante que en virtud de su origen o fuente de derivación (1) no está asociada con componentes asociados naturalmente que la acompañan en su estado nativo, (2) está libre de otras proteínas de la misma especie, (3) es expresado por una célula de una especie diferente o (4) no se produce en la naturaleza. Por lo tanto, un polipéptido que se sintetiza químicamente o se sintetiza en un sistema celular diferente de la célula de la que se origina naturalmente será "aislado" de sus componentes asociados naturalmente. Una proteína también puede volverse sustancialmente libre de componentes asociados naturalmente por aislamiento, usando técnicas de purificación de proteínas, bien conocidas en la técnica.

30 Una proteína o polipéptido es "sustancialmente pura", "sustancialmente homogénea" o "sustancialmente purificada" cuando al menos aproximadamente 60 a 75 % de una muestra exhibe una sola especie de polipéptido. El polipéptido o proteína puede ser monomérico o multimérico. Un polipéptido o proteína sustancialmente puro comprenderá típicamente aproximadamente 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % p/p de una muestra de proteína, más usualmente aproximadamente 95 %, y puede tener una pureza superior al 99 %. La pureza u homogeneidad de las proteínas puede indicarse por varios medios bien conocidos en la técnica, tales como la electroforesis en gel de poliacrilamida de una muestra de proteína, seguido de la visualización de una única banda de polipéptidos al tefnir el gel con una mancha bien conocida en la técnica. Para ciertos propósitos, se puede proporcionar una resolución más alta usando HPLC u otros medios bien conocidos en la técnica para la purificación.

Hemorragia intracerebral

40 La hemorragia intracerebral (ICH) es una forma de accidente cerebrovascular resultante de la ruptura de un vaso sanguíneo enfermo o dañado en el cerebro que causa sangrado en el tejido cerebral (parénquima). El daño cerebral y el consecuente deterioro neurológico o la muerte pueden resultar a través de diferentes mecanismos. Por ejemplo, se cree que la fuga de sangre reduce la oxigenación a las células cerebrales alimentadas por los vasos sanguíneos afectados. También se cree que la acumulación de sangre puede causar edema, y que el hematoma que finalmente se forma también puede ejercer presión sobre el tejido cerebral circundante. Tanto el edema como el hematoma

45 pueden aumentar la presión intracraneal. Otros mecanismos de daño cerebral causados por ICH son posibles. El mecanismo o mecanismos particulares responsables de causar daño cerebral después de ICH en general o en casos específicos no pretenden limitar de ninguna manera las realizaciones divulgadas de la divulgación.

La ICH puede producirse en cualquier parte del cerebro. Las regiones de ejemplo del cerebro en las que puede producirse ICH, o que pueden verse afectadas por ICH que se produce en una parte diferente del cerebro, incluyen pero no se limitan a cerebro (incluyendo lóbulo frontal, lóbulo parietal, lóbulo occipital, lóbulo temporal), cerebelo, tronco encefálico (incluyendo mesencéfalo, protuberancia, médula), glándula pituitaria, hipotálamo, tálamo, hipocampo, amígdala, claustrum o ganglios basales.

La ICH puede producirse como resultado del sangrado de una arteria en el cerebro. Arterias de ejemplo del cerebro incluyen, pero no se limitan a, arteria cerebral anterior (ACA), arteria cerebral media (MCA), arteria cerebral posterior (PCA), arteria oftálmica, arterias del círculo de Willis, arterias del cerebelo inferiores posteriores (PICA), o arterias lenticuloestriadas.

Aunque ciertos síntomas indicativos de aumento de la presión intracraneal, tales como dolor de cabeza, náuseas, vómitos y pérdida de conciencia, pueden sugerir la existencia de ICH, el diagnóstico definitivo requiere la generación de imágenes cerebrales. Las técnicas de generación de imágenes cerebrales (también llamadas generación de neuroimágenes) familiares para los expertos en la técnica incluyen tomografía computarizada (CT), angiografía, angiografía CT, generación de imágenes por resonancia magnética (MRI) y angiografía MR. Otras técnicas para el diagnóstico definitivo de ICH serán familiares para los expertos en la materia.

La ICH es menos común que el accidente cerebrovascular isquémico, que es causado por el bloqueo de los vasos sanguíneos en el cerebro por un trombo, pero comprende aproximadamente el 12 por ciento de todos los accidentes cerebrovasculares. A diferencia de los accidentes cerebrovasculares isquémicos, es más probable que la ICH empeore significativamente en las primeras 24 horas después de que comience el sangrado, particularmente cuando la hemorragia se acompaña de la expansión del hematoma. Como se discutirá más adelante, la expansión del hematoma se asocia con un peor resultado para el paciente.

Variantes del Factor XA (FXA) para su uso en el tratamiento de la hemorragia intracerebral (ICH)

La presente divulgación proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en el tratamiento o prevención de ICH administrando a sujetos que necesitan tratamiento para ICH una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante de FXa que tiene propiedades zimogénicas, por ejemplo, la variante de FXa FXa^{16L}.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a cualquier animal con un cerebro que es capaz de sufrir hemorragia intracerebral y un sistema de coagulación que puede activarse usando variantes de FXa de la divulgación. En algunas realizaciones divulgadas, el animal es un mamífero, por ejemplo, seres humanos y primates no humanos (por ejemplo, simios, monos, babuinos, chimpancés) u otros mamíferos, como roedores (por ejemplo, ratones, ratas), bovinos, caballos, gatos, perros, cerdos, conejos, cabras, venados, ovejas, hurones, jerbos, cobayas, hámsteres y murciélagos. Otros animales son posibles de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia.

En algunas realizaciones divulgadas, los sujetos son mamíferos no hemofílicos, por ejemplo seres humanos no hemofílicos. En otras realizaciones divulgadas, los sujetos tienen hemofilia, que puede incluir hemofilia A, hemofilia B u otros tipos de hemofilia.

Como se usa en este documento, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad de variante de FXa (por ejemplo, FXa^{16L}) que, cuando se administra a un sujeto con ICH, da como resultado una probabilidad reducida de que el sujeto muera como resultado de ICH, da como resultado una reducción de la morbilidad causada por ICH, da como resultado un deterioro neurológico reducido causado por ICH, o da como resultado una mejora en el funcionamiento, la calidad de vida o la condición del sujeto después de ICH. Una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante de FXa también puede prevenir o reducir el grado en que el hematoma causado por ICH se expande en volumen después de que comienza el sangrado o se diagnostica ICH, previene la expansión o reduce el volumen de edema perihemorrágico causado por ICH, o previene o reduce el aumento de la presión intracraneal que puede acompañar a la ICH. Una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante de FXa puede retrasar adicionalmente la aparición, o mitigar, disminuir o atenuar la gravedad de cualquiera de los signos físicos, síntomas, efectos fisiológicos o deterioro neurológico causado por la ICH. Una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante de FXa puede variar de acuerdo con factores tales como las propiedades de la variante de FXa particular que se va a utilizar, el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del sujeto por tratar, y la capacidad de la variante de FXa para obtener una respuesta deseada en el sujeto. Una cantidad terapéuticamente efectiva es también aquella en la que los efectos terapéuticamente beneficiosos compensan los efectos tóxicos o perjudiciales de la variante de FXa.

La expresión "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad de variante de FXa que, cuando se administra a un sujeto que tiene uno o más factores de riesgo para ICH, reduce la probabilidad de que el sujeto sufra ICH o reduce la incidencia de ICH en poblaciones de sujetos con perfiles de riesgo similares.

La eficacia y las cantidades eficaces de la variante de FXa pueden determinarse con base en observaciones de sujetos ICH individuales que administran la variante de FXa. La eficacia y las cantidades eficaces de la variante de FXa también se pueden determinar realizando estudios clínicos controlados en poblaciones definidas de sujetos con ICH de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia. Con base en los resultados de tales estudios clínicos, los profesionales sanitarios pueden predecir con anticipación cuál es probablemente una cantidad efectiva de la variante de FXa antes de que se administre a un sujeto que recién lo experimente y necesite tratamiento para ICH.

Aunque es deseable, no se requiere la prevención o reversión completa de los signos o síntomas físicos de ICH (incluyendo, por ejemplo, la expansión del hematoma), o el deterioro neurológico causado por ICH, para que exista eficacia. Por el contrario, como se indicó anteriormente, una cantidad efectiva de la variante de FXa solo necesita mejorar la condición de un sujeto con ICH en comparación con lo que la condición de ese sujeto probablemente hubiera estado ausente del tratamiento con la variante de FXa.

Variantes del Factor XA (FXA) para su uso en la reducción de la tasa de mortalidad debido a ICH

Se ha informado que las tasas de mortalidad a 30 días causadas por ICH oscilan entre 40 % y 50 % con aproximadamente la mitad de las muertes producidas dentro de los 2 días posteriores al inicio. ML Flaherty et al., "The epidemiology of intracerebral hemorrhage", en Intracerebral Hemorrhage, ed. JR Carhuapoma, et al (Cambridge: Cambridge University Press, 2010).

- 5 De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, la administración de una cantidad efectiva de variante de FXa (por ejemplo, FXa^{16L}) a sujetos con ICH puede reducir la incidencia de muerte (tasa de mortalidad) causada por ICH. Esto podría demostrarse, por ejemplo, comparando la capacidad relativa de la variante de FXa para reducir la tasa de mortalidad en una población definida de sujetos ICH en comparación con una población control no tratada. En algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH reduce la tasa de mortalidad causada por ICH de aproximadamente 40 %-50 % a aproximadamente 45 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 15 %, alrededor del 10 % o menos. En algunas otras realizaciones divulgadas, el tratamiento con La variante de FXa reduce la tasa de mortalidad causada por ICH en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o más en comparación con la tasa de mortalidad de sujetos ICH no tratados con la variante de FXa. La tasa de mortalidad se puede determinar en cualquier momento después del inicio de la ICH. Tiempos de ejemplo no limitantes después del inicio incluyen 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días, 14 días, 15 días, 20 días, 21 días, 25 días, 28 días, 30 días o más.

Variantes del Factor XA (FXA) para su uso en la mejora de la función cerebral después de la ICH

- 20 En una realización divulgada de los usos médicos de la divulgación, la administración de una cantidad efectiva de variante de FXa (por ejemplo, FXa^{16L}) mejora la función cerebral en un sujeto con ICH.

En una realización divulgada, la función cerebral mejorada está asociada con la reducción de la presión intracraneal elevada (ICP) causada por ICH por debajo de ciertos niveles máximos. Por ejemplo, la ICP se puede reducir a niveles iguales o inferiores a 80 mm Hg, 70 mm Hg, 60 mm Hg, 50 mm Hg, 40 mm Hg, 30 mm Hg, 20 mm Hg, 10 mm Hg o menos. Al reducir la ICP por debajo de ciertos niveles, se reduce la probabilidad de que el sujeto con ICH muera. Los procedimientos para monitorizar la ICP son familiares para los expertos en la materia. S.-B. Ko, et al., Stroke 42: 3087-3092 (2011).

30 En otra realización divulgada, la función cerebral mejorada está asociada con el mantenimiento de un cierto nivel mínimo de presión de perfusión cerebral (CPP). Por ejemplo, la CPP puede mantenerse a niveles iguales o superiores a 40 mm Hg, 50 mm Hg, 60 mm Hg, 70 mm Hg, 80 mm Hg, 90 mm Hg, 100 mm Hg, 110, mm Hg, 120 mm Hg, o mayor. Al mantener la CPP en niveles suficientes, se reduce la probabilidad de que el sujeto con ICH experimente una crisis metabólica cerebral o hipoxia del tejido cerebral. La CPP suficientemente alta también se asocia con una mortalidad reducida de los sujetos con ICH. Los procedimientos para monitorizar la CPP son familiares para los expertos en la materia. S.-B. Ko, et al., Stroke 42: 3087-3092 (2011).

35 En aún otra realización divulgada, la función cerebral mejorada está asociada con el mantenimiento de un cierto nivel mínimo de tensión de oxígeno en el tejido cerebral (P_{btO_2}). Por ejemplo, la P_{btO_2} puede mantenerse a niveles iguales o superiores a 6 mm Hg, 8 mm Hg, 10 mm Hg, 12 mm Hg, 14 mm Hg, 16 mm Hg, 18 mm Hg, 20, mm Hg, 22 mm Hg, 24 mm Hg o superior. Al mantener la P_{btO_2} en niveles suficientes, se reduce la probabilidad de que el sujeto con ICH experimente una crisis metabólica cerebral o hipoxia del tejido cerebral. Una P_{btO_2} suficientemente alta también se asocia con una reducción de la mortalidad de los sujetos con ICH. Los procedimientos para monitorizar la P_{btO_2} son familiares para los expertos en la materia. S.-B. Ko, et al., Stroke 42: 3087-3092 (2011).

45 En una realización divulgada adicionalmente, la función cerebral mejorada está asociada con la reducción de la proporción de las concentraciones de lactato a piruvato la (LAR) por debajo de ciertos niveles. Las proporciones más altas son indicativas de metabolismo anaeróbico. Por ejemplo, la LAR se puede reducir a niveles iguales o inferiores a 60, 50, 40, 30, 20 o menos. Al reducir la LAR por debajo de ciertos niveles, se reduce la probabilidad de que el sujeto con ICH muera. Los procedimientos para controlar las concentraciones de lactato y piruvato cerebrales son familiares para los expertos en la materia. S.-B. Ko, et al., Stroke 42: 3087-3092 (2011).

50 En otra realización divulgada, la función cerebral mejorada está asociada con la reducción de la relación del índice de reactividad de la presión cerebrovascular (PRx), que se calcula como el coeficiente de correlación móvil entre la presión intracraneal media (PIC) y la presión arterial media (PAM) . C. Zweifel, et al., Neurosurg. Focus, 25(10): E2 (2008). Por ejemplo, el PRx puede reducirse a niveles iguales o inferiores a 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,0, -0,1, -0,2, -0,3 o menos. Al reducir el PRx por debajo de ciertos niveles, se reduce la probabilidad de que el sujeto con ICH muera. Los procedimientos para monitorizar ICH y MAP que pueden calcular PRx son familiares para los expertos en la materia. S.-B. Ko, et al., Stroke 42: 3087-3092 (2011).

Variantes del Factor Xa (FXa) para su uso en reducción del deterioro neurológico después de la ICH

- 55 Además de la muerte, el impacto más significativo de ICH en los sujetos es el deterioro neurológico, a menudo grave, que puede devastar la calidad de vida del sujeto y la familia del sujeto, así como imponer costes sociales sustanciales. Entre otras cosas, el deterioro neurológico puede interferir o impedir que un sujeto con ICH trabaje o realice actividades cotidianas sin ayuda. Al tratar o prevenir la ICH en sujetos que usan variantes de FXa de la

divulgación, el grado de deterioro neurológico causado por ICH puede reducirse en comparación con el grado de deterioro que se produciría en ausencia de tratamiento en el mismo sujeto o en sujetos de control similares no tratados. Como resultado, se mejora la capacidad de los sujetos con ICH tratados de acuerdo con el uso médico de la divulgación para trabajar o funcionar independientemente.

- 5 El deterioro neurológico se puede cuantificar usando una herramienta de evaluación de la función neurológica. Ejemplos no limitantes de tales herramientas de evaluación incluyen la Puntuación Coma de Glasgow (GCS), la Escala de Resultados de Glasgow, la versión extendida (GOS-E), el Índice de Barthel (BI), la Escala de accidente cerebrovascular NIH (NIHSS) y la Escala Rankin modificada (mRS). También se pueden utilizar otras herramientas de evaluación de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia, que incluyen, por ejemplo, la escala
- 10 EuroQol, la Escala de calificación de Hamilton revisada para la depresión y otras.

La Puntuación Coma de Glasgow pretende describir el nivel de conciencia en un sujeto después de ICH u otra lesión cerebral. El GCS se califica entre 3 y 15, siendo 3 el peor y 15 el mejor. Se compone de tres parámetros, que incluyen la mejor respuesta ocular, la mejor respuesta verbal y la mejor respuesta motora. Para la mejor respuesta ocular, sin apertura del ojo = 1; ojo abierto al dolor = 2; apertura de los ojos al comando verbal = 3 y ojos abiertos espontáneamente = 4. Para la mejor respuesta verbal, sin respuesta verbal = 1; sonidos incomprensibles = 2; palabras inapropiadas = 3; confundido = 4 y orientado = 5. Para la mejor respuesta motora, sin respuesta motora = 1; extensión al dolor = 2; flexión al dolor = 3; abstinencia del dolor = 4; localizando el dolor = 5 y obedece los comandos = 6. Un GCS de 13 o más se correlaciona con una lesión cerebral leve, 9 a 12 es una lesión moderada y 8 o menos una lesión cerebral grave.

20 La Escala de resultados de Glasgow (GOS) y su versión extendida (GOS-E) están destinadas a describir qué tan bien se ha recuperado un sujeto después de ICH u otra lesión cerebral. El GOS tiene cinco niveles y puntajes asociados, incluyendo muerte = 1; estado vegetativo (sujeto vivo pero no responde) = 2; severamente discapacitado (el sujeto está consciente pero requiere de otros para apoyo diario debido a discapacidad) = 3; moderadamente deshabilitado (el sujeto es independiente pero deshabilitado) = 4 y buena recuperación (el sujeto ha retomado la mayoría de las actividades normales pero puede tener problemas residuales menores) = 5.

En el GOS Extendido, o GOS-E, el sistema de puntuación se expande a ocho niveles en los que Muerte = 1; Estado vegetativo = 2; Discapacidad severa inferior = 3; Discapacidad severa superior = 4; Discapacidad moderada inferior = 5; Discapacidad moderada superior = 6; Baja Buena Recuperación = 7 y Alta Buena Recuperación = 8.

30 El Índice de Barthel (BI) es una escala de clasificación para medir las limitaciones de actividad en sujetos después de ICH u otra lesión cerebral. Mahoney F. and Barthel D., Functional evaluation: the Barthel Index, Md Med J. 14: 61-65 (1965). La escala consta de diez categorías funcionales, que incluyen la capacidad de alimentación, la capacidad para bañarse, la preparación personal, la capacidad para vestirse, el control intestinal, el control de la vejiga, el uso del inodoro, la capacidad de transferirse de la cama a la silla y viceversa, la movilidad y la capacidad de usar escaleras. Los sujetos son calificados por la cantidad de asistencia requerida para realizar la actividad

35 especificada en cada categoría. Los puntajes de las categorías se suman para obtener un puntaje de actividad general. Entre las diferentes versiones de la escala de BI, las categorías son consistentes, pero los valores numéricos asignados al grado de dependencia varían de modo que los puntajes sumados mínimos y máximos varían con la versión utilizada. Por ejemplo, en algunas versiones, los puntajes varían de 0 a 20, mientras que en otras versiones, los puntajes varían de 0 a 100, pero en todas las versiones cuanto mayor es el puntaje, mayor es la capacidad del sujeto para funcionar de manera independiente.

La escala de accidente cerebrovascular NIH (NIHSS) es una escala de accidente cerebrovascular de examen neurológico de 15 ítems utilizada para evaluar el efecto de ICH, accidente cerebrovascular u otra lesión cerebral en los niveles de conciencia, lenguaje, negligencia, pérdida del campo visual, movimiento extraocular, fuerza motora, ataxia, disartria y pérdida sensorial. Un observador capacitado califica la capacidad del sujeto para responder preguntas y realizar actividades. Las calificaciones para cada ítem se califican con 3 a 5 grados con 0 como normal. Una puntuación de 0 indica que no hay síntomas de accidente cerebrovascular, una puntuación de 1-4 indica un accidente cerebrovascular leve, una puntuación de 5-15 indica un accidente cerebrovascular moderado, una puntuación de 16-20 indica un accidente cerebrovascular moderado a severo, y una puntuación de 21-42 indica un accidente cerebrovascular severo.

50 La Escala Rankin modificada (mRS) mide el grado de discapacidad o dependencia en las actividades diarias de los sujetos después de ICH, accidente cerebrovascular u otra lesión cerebral. Los puntajes varían de 0 a 6, donde 0 indica que no hay síntomas de déficit neurológico; 1 indica que no hay discapacidad significativa a pesar de la presencia de algunos síntomas; 2 indica una discapacidad leve (por ejemplo, puede funcionar de manera independiente, pero no puede llevar a cabo todas las actividades anteriores); 3 indica discapacidad moderada (por ejemplo, requiere ayuda, pero puede caminar sin ayuda); 4 indica una discapacidad moderadamente grave (por ejemplo, no poder atender las necesidades corporales o caminar sin ayuda); 5 indica discapacidad grave (por ejemplo, requiere atención de enfermería constante, postrado en cama, incontinente) y 6 indica muerte.

En algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para reducir el deterioro neurológico causado por ICH medido

usando una herramienta de evaluación del deterioro neurológico. De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, las herramientas de evaluación de la función neurológica incluyen la Puntuación Coma de Glasgow (GCS), la Escala de Resultados de Glasgow, la versión extendida (GOS-E), el Índice de Barthel (BI), la Escala de accidente cerebrovascular NIH (NIHSS) o la versión modificada Escala Rankin (mRS). El uso de otros también es posible. Si se utilizan los GCS, GOS, GOS-E, BI, la disminución del deterioro neurológico se refleja al aumentar las puntuaciones.

En algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de un sujeto de ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para aumentar la puntuación de un sujeto en la Puntuación Coma de Glasgow en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de un sujeto con ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es efectivo para aumentar la puntuación de un sujeto en el Escala de Resultados de Glasgow, incluida su versión extendida, en 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7. En otras formas de realización divulgadas, tratar a un sujeto de ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para aumentar la puntuación de un sujeto en el Índice de Barthel en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20, o si se usa un rango de puntaje más amplio, por al menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o más.

Si se usan los NIHSS o mRS, la disminución del deterioro neurológico se refleja al disminuir las puntuaciones. En algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de un sujeto con ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para reducir la puntuación de un sujeto en la Escala de ACV NIH en al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41 o 42.

La Escala Rankin modificada se usa comúnmente para evaluar el grado de discapacidad o dependencia de un sujeto causada por ICH. En algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para reducir la puntuación media de mRS de entre aproximadamente 5 y 6 a entre aproximadamente 4 y 5, de entre aproximadamente 4 y 5 a entre aproximadamente 3 y 4, de entre aproximadamente 3 y 4 a entre aproximadamente 2 y 3, de entre aproximadamente 2 y 3 a entre aproximadamente 1 y 2, de entre aproximadamente 1 y 2 a entre aproximadamente 0 y 1. En otras realizaciones divulgadas, en comparación con ningún tratamiento, el tratamiento de sujetos ICH con una dosis efectiva de la variante de FXa aumenta la proporción de sujetos que experimentan una reducción de la puntuación media de mRS de entre aproximadamente 5 y 6 a entre aproximadamente 3 y 4, o de entre aproximadamente 3 y 4 a entre aproximadamente 1 y 2.

En otras realizaciones divulgadas, en comparación con ausencia de tratamiento, el tratamiento de sujetos con ICH con una dosis efectiva de la variante de FXa reduce la proporción de sujetos con una puntuación de la Escala Rankin modificada de 5 o 6 en comparación con aquellos que obtienen una puntuación de 0, 1, 2, 3 o 4, o reduce la proporción de sujetos con una puntuación de 4, 5 o 6 (caracterizados como pobres) en comparación con aquellos que obtienen una puntuación de 0, 1, 2 o 3 (caracterizados como buenos). En otras realizaciones divulgadas, en comparación con ningún tratamiento, el tratamiento de sujetos con ICH con una dosis efectiva de la variante de FXa reduce la proporción de sujetos con un puntaje de 2, 3, 4, 5 o 6 en comparación con los que obtienen 0 o 1. Y en otras realizaciones divulgadas, en comparación con ningún tratamiento, el tratamiento de sujetos con ICH con una dosis efectiva de la variante de FXa reduce la proporción de sujetos que progresan a un puntaje mRS de 6 a partir de puntajes mRS de 2, 3, 4 o 5.

De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para aumentar la proporción de sujetos con ICH para quienes el deterioro neurológico se ha reducido como resultado del tratamiento por al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o más en comparación con los sujetos ICH de control no tratados.

La evaluación del deterioro neurológico se puede realizar usando las herramientas de evaluación en diferentes momentos después del tratamiento para ICH. Por ejemplo, el deterioro neurológico se puede medir 7 días, 10 días, 14 días, 20 días, 21 días, 28 días, 30 días, 40 días, 50 días, 60 días, 70 días, 80 días o 90 días o más después del tratamiento para ICH con una variante de FXa. La medición en otros momentos después del tratamiento también es posible de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia.

Variantes del Factor XA (FXA) para su uso en la prevención o reducción del edema después de la ICH

El edema perihemorrágico (PHE), secundario a ICH, también puede contribuir a la morbilidad del paciente. Sin desear limitarse a ninguna teoría particular de la operación, se cree que los productos de la coagulación y el colapso del hematoma después de la lesión inicial inician una cascada secundaria de daño al tejido cerebral perihemorrágico que conduce al desarrollo de PHE. El edema, que promedia aproximadamente el doble del volumen del hematoma subyacente, puede contribuir a aumentar la presión intracraneal y los efectos de masa, como la formación de hernias. D. Staykov, et al., Stroke 42: 2625-2629 (2011). El aumento en el volumen del edema se correlaciona positivamente con la muerte y la discapacidad. H. Arima, et al., Neurology 73: 1963-1968 (2009). El volumen del

edema se puede medir utilizando técnicas de generación de neuroimágenes, como la resonancia magnética o la tomografía computarizada, como se describe en otra parte de este documento.

La presente divulgación también proporciona una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en la prevención o atenuación del edema perihemorrágico (PHE) asociado con ICH mediante la administración a sujetos, incluidos pacientes humanos, que han experimentado ICH, de una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante de FXa que tenga propiedades zimogénicas. En algunas realizaciones divulgadas, la variante de FXa es FXa^{16L}. El volumen del edema después del tratamiento con una dosis terapéuticamente efectiva de la variante de FXa se puede reducir en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o más en comparación con el volumen de edema en pacientes con ICH no tratados con La variante de FXa. En algunas realizaciones divulgadas, el volumen del edema se mide usando generación de neuroimágenes u otra técnica familiar para los expertos en la técnica poco antes de administrar La variante de FXa al sujeto con ICH. El volumen del edema se puede medir al menos una vez después de que el tratamiento con La variante de FXa comience a controlar el cambio, si lo hay, en el volumen del edema. En ciertas realizaciones divulgadas, el volumen del edema se puede medir 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas, 9 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 5 días, 6 días, 7 días, 14 días, 21 días o más después de que el tratamiento con la variante de FXa comience a controlar los cambios en el volumen del edema.

De acuerdo con otras realizaciones divulgadas, la incidencia o la gravedad de las secuelas de PHE, tales como el aumento de la presión intracraneal o la hernia causada por la compresión del tejido cerebral, pueden reducirse administrando a pacientes con ICH una cantidad terapéuticamente efectiva de una variante de FXa que tiene propiedades zimogénicas. En algunas realizaciones divulgadas, la variante de FXa es FXa^{16L}. La incidencia o la gravedad de las secuelas de PHE en pacientes con ICH (incluidos, entre otros, edema o hernia) tratados con una dosis terapéuticamente efectiva de la variante de FXa se pueden reducir en aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o más en comparación con el de pacientes con ICH no tratados con la variante de FXa .

Variantes del Factor XA (FXA) para su uso en reducir o prevenir la expansión de hematoma

Después de la hemorragia inicial causada por ICH, aproximadamente el 30 % de los pacientes con ICH continúan sangrando, lo que produce una expansión significativa del hematoma. Brouwersand Greenberg, Cerebrovasc. Dis. 35: 195-201 (2013). Desafortunadamente, la expansión del hematoma se asocia con un peor resultado del paciente. Davis (2006); Dowlatshahi, et al, Neurology 76: 1238-1244 (2011). Para tratar esta subpoblación de pacientes con ICH, las composiciones que comprenden variantes de FXa de la divulgación se pueden administrar a una dosis eficaz para reducir o incluso prevenir la expansión del hematoma.

Una variedad de técnicas para medir el volumen de hematoma, inicialmente después de ICH y luego a medida que cambia con el tiempo, son familiares para los expertos en la materia. Ejemplos no limitantes incluyen tecnologías de generación de imágenes cerebrales como CT, CTA, MRI o MRA. Los procedimientos específicos incluyen ABC/2, ABC/2 con valores C ajustados, planimetría y representación de volumen 3D. El uso de software para calcular el volumen en función de los datos recopilados durante los escáneres cerebrales es común.

El volumen del hematoma se puede calcular con base en los datos recopilados con el primer escáner cerebral utilizado para diagnosticar definitivamente la ICH, estableciendo así el volumen de referencia. El volumen de hematoma se puede determinar adicionalmente en uno o más momentos predeterminados a partir de entonces para controlar si el volumen de hematoma es estático o está en expansión, y si se expande, entonces a qué rata.

En algunas realizaciones divulgadas, la expansión del hematoma se puede cuantificar como el aumento porcentual de volumen en uno o más momentos predeterminados después de la exploración cerebral inicial. Los aumentos relativos de ejemplo no limitantes en el volumen de hematoma durante un período de tiempo en comparación con el valor inicial incluyen aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 150 % o más. En otras realizaciones divulgadas, la expansión del hematoma se puede cuantificar como el aumento absoluto en el volumen en uno o más momentos predeterminados después de la exploración del cerebro en su línea base. Los aumentos absolutos de ejemplo no limitantes en el volumen de hematoma durante un período de tiempo en comparación con el valor inicial incluyen aproximadamente 1 mililitro (ml), 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml, 3 ml, 3,5 ml, 4 ml, 4,5 ml, 5 ml, 5,5 ml, 6 ml, 6,5 ml, 7 ml, 7,5 ml, 8 ml, 8,5 ml, 9 ml, 9,5 ml, 10 ml, 10,5 ml, 11 ml, 11,5 ml, 12 ml, 12,5 ml, 13 ml, 13,5 ml, 14 ml, 14,5 ml, 15 ml, 16 ml, 17 ml, 18 ml, 19 ml, 20 ml, 22 ml, 24 ml, 26 ml, 28 ml, 30 ml, 35 ml, 40 ml, 45 ml, 50 ml, o más.

En ejemplos no limitantes, el volumen de hematoma se puede medir en aproximadamente 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas, 9 horas, 12 horas, 15 horas, 18 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 60 horas, 72 horas o más después de la medición inicial del volumen de hematoma para determinar si el volumen ha aumentado y, en caso afirmativo, en qué cantidad. Se pueden realizar múltiples escaneos del mismo sujeto para rastrear la expansión del hematoma a lo largo del tiempo con mayor resolución.

De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas no limitantes, la expansión del hematoma se puede definir por producirse cuando el aumento calculado en el volumen del hematoma, si está presente, excede algún umbral, ya

sea con base en el volumen absoluto o al aumento porcentual relativo del volumen. Así, por ejemplo, se puede decir que la expansión del hematoma se produce cuando el volumen en comparación con el valor inicial ha aumentado en 3 mililitros (ml) o más, en 6 ml o más, o en 12,5 ml o más, o por algún otro aumento en el volumen absoluto después de un período de tiempo predeterminado. Alternativamente, se puede decir que la expansión del hematoma se produce cuando el volumen en comparación con el valor inicial ha aumentado en un 15 % o más, en un 20 % o más, en un 25 % o más, en un 30 % o más, en un 33 % o más, o en algunos otro aumento porcentual en el volumen después de un período de tiempo predeterminado.

De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una dosis efectiva de una variante de FXa de la divulgación (por ejemplo, FXa^{16L}) es eficaz para reducir o prevenir la expansión del hematoma que de otro modo se produciría, por ejemplo, en controles no tratados. En algunas realizaciones divulgadas, un sujeto con ICH estaba o está recibiendo terapia anticoagulante antes de presentarse con ICH. En algunas otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de un sujeto con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la expansión promedio en el volumen de hematoma que de otro modo se habría producido durante algún período de tiempo en al menos 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml, 3 ml, 3,5 ml, 4 ml, 4,5 ml, 5 ml, 5,5 ml, 6 ml, 6,5 ml, 7 ml, 7,5 ml, 8 ml, 8,5 ml, 9 ml, 9,5 ml, 10 ml, 10,5 ml, 11 ml, 11,5 ml, 12 ml, 12,5 ml, 13 ml, 13,5 ml, 14 ml, 14,5 ml, 15 ml, 16 ml, 17 ml, 18 ml, 19 ml, 20 ml, 22 ml, 24 ml, 26 ml, 28 ml, 30 ml, 35 ml, 40 ml, 45 ml, 50 ml o más en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la expansión promedio en el volumen de hematoma que de otro modo se habría producido durante algún período de tiempo en al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la expansión promedio en el volumen de hematoma que de otro modo se habría producido durante un período de tiempo de aproximadamente 5 % a 15 %, aproximadamente 10 % a 20 %, aproximadamente 15 % a 25 %, aproximadamente 20 % a 30 %, aproximadamente 25 % a 35 %, aproximadamente 30 % a 40 %, aproximadamente 35 % a 45 %, aproximadamente 40 % a 50 %, aproximadamente 45 % a 55 %, aproximadamente 50 % a 60 %, aproximadamente 55 % a 65 %, aproximadamente 60 % a 70 %, aproximadamente 65 % a 75 %, aproximadamente 70 % a 80 %, aproximadamente 75 % a 85 %, aproximadamente 80 % a 90 %, aproximadamente 85 % a 95 %, o aproximadamente 90 % a 100 %, en comparación con los controles no tratados.

De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de tales sujetos que experimentan expansión de hematoma. En algunas realizaciones divulgadas, la proporción se reduce de aproximadamente 30 % o más a aproximadamente 25 % o menos, 20 % o menos, 15 % o menos, 10 % o menos, o 5 % o menos. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento con una variante de FXa de la divulgación reduce la proporción de sujetos con ICH que experimentan expansión de hematoma durante algún período de tiempo en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más en comparación con los controles no tratados.

En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de sujetos en los que el volumen de hematoma ha aumentado en 3 ml o más, en 6 ml o más, o en 12,5 ml o más (o por alguna otra cantidad o más) durante un período de tiempo de aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más, en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de sujetos en los que el volumen de hematoma ha aumentado en un 15 % o más, en un 20 % o más, en un 25 % o más, en 30 % o más, en 33 % o más (o en algún otro porcentaje o más) durante algún período de tiempo en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más, en comparación con los controles no tratados.

La existencia de un denominado "signo de punto", identificado mediante angiografía por TC u otro procedimiento, está asociado y es predictivo de la expansión del hematoma y un peor resultado del paciente. El valor predictivo del signo de punto para la expansión del hematoma existe incluso para pacientes que acuden al hospital más de 6 horas después del inicio de los síntomas. Brouwers, et al., *Neurocrit Care* 17: 421-428 (2012).

Los signos de punto son uno o más focos pequeños de mejora de contraste dentro de un hematoma parenquimatoso primario agudo. Sin desear limitarse a ninguna teoría particular de la operación, se cree que la existencia de signos de punto se debe a una extravasación activa. Wada et al., *Stroke* 38: 1257-1262 (2007); Brouwers, et al, *Stroke* 43: 3427-3432 (2012); Demchuk et al., *Lancet Neurol.* 11: 307-314 (2012).

Se ha propuesto un sistema de puntuación basado en las características de los signos de punto en función de los signos de punto numéricos, la dimensión axial máxima y la atenuación máxima. Delgado, et al, *Stroke* 40: 2994-3000 (2009). Cuando hay presentes signos de punto, los puntajes varían de 1, que corresponde a la presencia de uno o dos signos de punto, cada uno de los cuales tiene un tamaño inferior a 5 mm y presenta una atenuación de menos de 180 HU, hasta 4, que corresponde a la presencia de tres o más signos de puntos, el mayor de los cuales tiene una dimensión axial de 5 mm o más y exhibe una atenuación máxima de 180 HU o más. Una puntuación de

cero indica que no había signos de punto presentes. La puntuación está altamente correlacionada con el riesgo de expansión del hematoma.

De acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, los sujetos con ICH con puntuaciones de signos de punto particulares pueden tratarse con una variante de FXa de la divulgación. Así, por ejemplo, un sujeto con ICH y una puntuación de signo de punto de 4, 3, 2 o 1 puede tratarse con una variante de FXa de la divulgación. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos ICH con una variante de FXa reduce las puntuaciones de signos de punto en sujetos particulares. Así, por ejemplo, un sujeto de ICH que se presenta inicialmente con un puntaje de 4 puntos puede reducir su puntaje a 3, 2, 1 o 0 como resultado del tratamiento con una variante de FXa. Un sujeto de ICH que se presenta inicialmente con un puntaje de 3 puntos puede reducir su puntaje a 2, 1 o 0 como resultado del tratamiento con una variante de FXa. Un sujeto de ICH que se presenta inicialmente con un puntaje de 2 puntos puede reducir su puntaje a 1 o 0 como resultado del tratamiento con una variante de FXa. Y un sujeto de ICH que se presenta inicialmente con una puntuación de signo de punto de 1 puede reducir su puntuación a 0 como resultado del tratamiento con una variante de FXa.

En ciertas realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de dichos sujetos que presentan una puntuación de 4 puntos en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de dichos sujetos que presentan una puntuación de signo de punto de 3 en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más en comparación con los controles no tratados. De acuerdo con otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de tales sujetos que presentan una puntuación de signo de punto de 2 en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más en comparación con los controles no tratados. En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la proporción de dichos sujetos que presentan una puntuación de signo de punto de 1 en aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más en comparación con los controles no tratados. Y en otras formas de realización divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para aumentar la proporción de dichos sujetos que presentan una puntuación de signo de punto de 0 en aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 150 %, 200 %, 250 %, 300 %, 350 %, 400 % o más en comparación con los controles no tratados. De acuerdo con otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la incidencia de cualquier signo de punto en aproximadamente 5 % a 15 %, aproximadamente 10 % a 20 %, aproximadamente 15 % a 25 %, aproximadamente 20 % a 30 %, aproximadamente 25 % a 35 %, aproximadamente 30 % a 40 %, aproximadamente 35 % a 45 %, aproximadamente 40 % a 50 %, aproximadamente 45 % a 55 %, aproximadamente 50 % a 60 %, aproximadamente 55 % a 65 %, aproximadamente 60 % a 70 %, aproximadamente 65 % a 75 %, aproximadamente 70 % a 80 %, aproximadamente 75 % a 85 %, aproximadamente 80 % a 90 %, aproximadamente 85 % a 95 %, o aproximadamente 90 % a 100 %.

De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, se puede determinar una puntuación de signo de punto después de la generación de neuroimágenes en un tiempo predeterminado antes o después de administrar una variante de FXa de la divulgación. En algunas realizaciones divulgadas, por ejemplo, la puntuación de los signos de punto se determina a los 30 min, 45 min, 60 min, 75 min, 90 min, 2 h, 2,5 h, 3 h, 3,5 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 horas, 8 horas, 9 horas, 10 horas, 11 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 30 horas, 48 horas, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 18 días, 3 semanas, 4 semanas o algún otro período de tiempo después de la primera o posterior administración de la variante de FXa.

Variantes de Factor XA (FXa) para su uso en tratamiento de pacientes con factores de riesgo para ICH

Se han identificado una variedad de factores de riesgo para pacientes humanos que contribuyen al aumento del riesgo de ICH. ML Flaherty et al., "The epidemiology of intracerebral hemorrhage", in Intracerebral Hemorrhage, ed. JR Carhuapoma, et al (Cambridge: Cambridge University Press, 2010); Brouwers, et al., Neurocrit Care 17: 421-428 (2012); Appelboom, et al., J. Stroke Cereb Dis., 22: 713-717 (2013). De acuerdo con ciertas realizaciones divulgadas, las variantes de FXa de la divulgación, por ejemplo FXa^{16L}, se pueden administrar en una cantidad terapéuticamente efectiva a pacientes humanos con ICH que tienen uno o más factores de riesgo de ICH para tratar o prevenir la ICH en tales pacientes.

La edad es el factor de riesgo más significativo con tasas de ICH que aumentan dramáticamente entre individuos mayores de 60 años. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente de 60 años de edad o mayor para tratar o prevenir la ICH.

Por el contrario, la hipertensión es el factor de riesgo modificable más importante para ICH, presente en más del 70 % de los pacientes con ICH. La hipertensión no tratada es un factor de riesgo mayor que la hipertensión controlada por el tratamiento, y los pacientes hipertensos en tratamiento que suspenden sus medicamentos tienen

- un mayor riesgo que aquellos que continúan con ellos. La hipertensión es un factor de riesgo de hemorragia en regiones hemisféricas profundas y del tronco encefálico, así como para ICH lobular. El impacto relativo de la hipertensión como factor de riesgo de ICH es mayor en los pacientes jóvenes en comparación con los ancianos. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente hipertenso para tratar o prevenir la ICH.
- El uso de drogas simpaticomiméticas ilícitas, por ejemplo cocaína y anfetaminas, se ha asociado con ICH. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente con ICH que usó drogas simpaticomiméticas ilícitas.
- La angiopatía amiloide cerebral (AAC) también es un factor de riesgo importante para la ICH lobular en los ancianos. El CAA se caracteriza por el depósito de proteína amiloide en los medios y en la adventicia de las arterias leptomenígeas, arteriolas, capilares y, a veces, venas. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente con angiopatía amiloide cerebral para tratar o prevenir la ICH.
- Los alelos de apolipoproteína E (APOE) ε2 y ε4 son factores de riesgo independientes para ICH en las regiones cerebrales lobulares, potencialmente como resultado de la participación de estos genes en CAA. Brouwers et al, Stroke 43: 2120-2125 (2012). Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente que tiene alelos APOE ε2 o ε4 para tratar o prevenir la ICH.
- Las malformaciones vasculares, que incluyen malformaciones arteriovenosas (MAV), malformaciones cavernosas, fístulas arteriovenosas durales, malformaciones venosas y telangiectasias capilares, están todas asociadas con la ICH. Los aneurismas de Berry también pueden causar ICH si sangran en el parénquima cerebral en lugar del espacio subaracnoideo, como es más típico. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente con una malformación vascular para tratar o prevenir la ICH.
- El uso de anticoagulantes, como la warfarina, para prevenir el accidente cerebrovascular isquémico, se asocia con una mayor incidencia de ICH. El riesgo relativo de ICH en pacientes anticoagulados es aproximadamente 7-10 veces mayor en comparación con la población general. De manera relacionada, el uso de agentes trombolíticos y anticoagulantes para efectuar la trombolisis en el infarto de miocardio o accidente cerebrovascular isquémico se asocia con un riesgo pequeño pero mayor de ICH. En la trombolisis para el infarto de miocardio, la mayoría de las hemorragias se encuentran en las regiones lobulares del cerebro. El uso de medicamentos antiplaquetarios, como la aspirina o el clopidogrel, también es un factor de riesgo menor para la ICH. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente que ha estado tomando medicamentos anticoagulantes (por ejemplo, warfarina) o antiplaquetarios (por ejemplo, clopidogrel) para tratar o prevenir la ICH.
- Las microhemorragias en el parénquima cerebral, detectadas con resonancia magnética de eco de gradiente, son comunes en pacientes que padecen ICH y se consideran marcadores de enfermedad de vasos pequeños y estado propenso a ICH. Además, el infarto cerebral previo se asocia con un aumento de 5 a 22 veces en el riesgo de ICH. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente con microhemorragias cerebrales o que tuvo un infarto cerebral previo para tratar o prevenir la ICH.
- La hipocolesterolemia (en contraste con la hipercolesterolemia, que es un factor de riesgo de accidente cerebrovascular isquémico) es un factor de riesgo de ICH. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente con hipocolesterolemia para tratar o prevenir la ICH.
- Los factores de riesgo adicionales para ICH incluyen el consumo excesivo de alcohol, que se ha asociado con la expansión del hematoma y el consumo de tabaco. También se cree que la diabetes es un factor de riesgo menor para ICH. Por lo tanto, en algunos usos médicos de la divulgación, se administra una variante de FXa, por ejemplo FXa^{16L}, a un paciente que abusa del alcohol o consume tabaco, o a un paciente diabético para tratar o prevenir la ICH. FXa^{16L}, u otra variante de FXa, también se puede administrar a pacientes en quienes el trauma, las infecciones o los tumores son causas únicas o contribuyentes de ICH para tratar o prevenir la ICH.

Otros usos para el tratamiento relacionados con ICH

- En otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para reducir la discapacidad causada por ICH en un sujeto. Ejemplos no limitantes de discapacidad incluyen la incapacidad o la capacidad reducida o deteriorada para conducir un automóvil, cuidarse sin ayuda, trabajar, leer, hablar, moverse, caminar, interactuar con otros u otros tipos de discapacidad.
- De acuerdo con otras realizaciones divulgadas, el tratamiento de sujetos con ICH con una variante de FXa de la divulgación es eficaz para mejorar el estado clínico de dichos sujetos. Ejemplos no limitantes de mejora del estado clínico incluyen la reducción en el número de días de hospitalización antes del alta en un centro de rehabilitación (por ejemplo, reducción de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más días en la hospitalización); degradar la gravedad del estado

de un paciente (por ejemplo, de crítico a grave o mejor, grave a regular o mejor, de regular a bueno); reducción en el número de días que un paciente con ICH ingresa en una unidad de cuidados neurointensivos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más días); o reducción en el número de días que se requiere que un paciente con ICH sea asistido por un ventilador mecánico antes de recuperar la capacidad de respirar sin asistencia (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más días) .

Administración de variantes de FXa para tratamiento o prevención de ICH

Las variantes de FXa, tales como FXa^{16L}, deben administrarse a un paciente lo antes posible después de la aparición de los síntomas de ICH o después de que se haya confirmado el diagnóstico de ICH. Como se indica en el presente documento, se puede sospechar ICH tras la presentación de ciertos síntomas y se puede confirmar mediante generación de neuroimágenes, por ejemplo, mediante resonancia magnética o tomografía computarizada. De acuerdo con ciertas realizaciones de la divulgación, la variante de FXa se administra a un paciente dentro de las 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 horas o menos después del inicio de los síntomas de ICH. En otras realizaciones divulgadas, la variante de FXa se administra a un paciente dentro de las 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 horas o menos después del diagnóstico confirmado de ICH por generación de neuroimágenes u otra técnica familiar para los expertos en la técnica.

Lograr una concentración plasmática objetivo de la variante de FXa suficiente para tratar o prevenir la ICH está dentro del conocimiento de los expertos en la materia. En un ejemplo no limitativo, las estimaciones de los parámetros farmacocinéticos relevantes, como el volumen plasmático del sujeto u otros parámetros, se pueden hacer en función del sexo, la altura y el peso del sujeto, u otros factores, y se pueden usar para calcular la cantidad de FXa que se debe administrar para lograr una concentración objetivo. Después de administrar la variante de FXa, las concentraciones plasmáticas se pueden controlar de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia y esta información se utiliza para mantener la concentración en cualquier rango deseado.

Los regímenes de dosificación se pueden ajustar para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica). Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas con el tiempo o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica.

Los valores de dosificación pueden variar dependiendo de factores tales como la variante de FXa particular usada y si se usa sola o en combinación con otro agente terapéutico, las características únicas de poblaciones, subpoblaciones o sujetos individuales por tratar, y el tratamiento terapéutico particular o efecto profiláctico previsto. Los expertos en la técnica apreciarán otros factores que pueden influir en los valores de dosificación. Además, para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos pueden necesitar ajustarse con el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional del proveedor de atención que administra o supervisa la administración de composiciones variantes de FXa. Por lo tanto, los intervalos de dosificación establecidos aquí son solo de ejemplo y no pretenden limitar el alcance o la práctica de las composiciones de FXa reivindicadas o su uso médico.

En ciertas realizaciones, una cantidad terapéuticamente o profilácticamente efectiva de una variante de FXa de la divulgación es aproximadamente 0,0001 a 50 mg/kg, aproximadamente 0,001 a 50 mg/kg, aproximadamente 0,001 a 5 mg/kg, aproximadamente 0,001 a 0,5 mg/kg, aproximadamente 0,001 a 0,05 mg/kg, aproximadamente 0,01 a 5 mg/kg o aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/kg. En otras realizaciones divulgadas, una concentración en sangre o plasma terapéutica o profilácticamente efectiva de una variante de FXa de la divulgación es de aproximadamente 0,0003 a 300 nM, de aproximadamente 0,003 a 300 nM, de aproximadamente 0,03 a 300 nM, de aproximadamente 0,003 a 30 nM, de aproximadamente 0,03 a 30 nM o aproximadamente 0,3 a 3 nM. También son posibles otras dosis, o concentraciones en sangre o plasma. La concentración de la variante de FXa, por ejemplo en sangre o plasma, se puede medir por cualquier procedimiento conocido en la técnica.

Se puede administrar una variante de FXa, por ejemplo, en una composición que comprende dicha variante, una o varias veces a un sujeto hasta que se logre un efecto terapéutico o profiláctico adecuado. Cuando se usan administraciones múltiples, pueden administrarse cada hora, diariamente o en cualquier otro intervalo apropiado, incluyendo por ejemplo dosis diarias múltiples. Se pueden administrar dosis múltiples en un horario tal como cada 10 minutos, cada 15 minutos, cada 20 minutos, cada 30 minutos, cada hora, cada 2 horas, cada 3 horas, cada 4 horas, cada 5 horas, cada 6 horas, 3 veces al día, dos veces al día, una vez al día, una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez a la semana o en algún otro horario. La variante de FXa también se puede administrar de forma continua, por ejemplo, a través de una minibomba. La variante de FXa se puede administrar, por ejemplo, a través de una vía parenteral (por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular). La variante de FXa generalmente se administrará como parte de una composición farmacéutica como se describe en el presente documento.

La administración de la variante de FXa se puede combinar con la monitorización del sujeto para personalizar un régimen de dosificación que trate de manera óptima la ICH y los efectos del sujeto, tales como edema o expansión de hematoma. Por lo tanto, de acuerdo con algunas realizaciones divulgadas, se administra una dosis de la variante de FXa a un sujeto con ICH que luego se somete a generación de neuroimágenes para determinar si el sangrado

intracerebral, el edema o la expansión del hematoma se ha detenido o al menos disminuido. Cuando los resultados de la exploración indiquen que la expansión de sangrado, edema o hematoma no se ha detenido o al menos no ha mejorado lo suficiente, se puede administrar otra dosis de la variante de FXa. El proceso de dosificación y monitorización iterativo del sujeto para evaluar el efecto de la variante de FXa en el sangrado intracerebral, edema o expansión de hematoma puede continuarse hasta que la condición del sujeto haya mejorado lo suficiente. Los intervalos adecuados entre la dosificación y la monitorización se pueden determinar de acuerdo con el conocimiento de los expertos en la materia. Ejemplos no limitantes incluyen 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 1,5 horas, 2 horas, 2,5 horas, 3 horas, 3,5 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas o más.

En otra realización divulgada, una variante de FXa de la divulgación puede coadministrarse con al menos un segundo agente terapéutico activo (terapia de combinación). En algunas realizaciones divulgadas, el segundo agente puede ser una variante de FXa diferente de la divulgación. En otras realizaciones divulgadas, el segundo agente puede ser otro factor de coagulación o variante del mismo, que incluye, por ejemplo, Factor IX, Factor XIa, Factor XIIa, Factor VIII, Factor VIIa, una composición procoagulante como FEIBA o concentrado de complejo de protrombina (PCC), o un agente antifibrinolítico tal como ϵ -aminocaproico, ácido tranexémico o aprotinina.

Cuando una variante de FXa de la divulgación se coadministra con al menos un segundo agente terapéutico, se pueden administrar juntas al mismo tiempo en la misma composición o en composiciones separadas simultáneamente o secuencialmente. Alternativamente, la variante de FXa y el al menos segundo agente terapéutico se pueden administrar en diferentes momentos en composiciones separadas. La composición que comprende la variante de FXa se puede administrar antes o después de la composición que comprende al menos el segundo agente terapéutico. Los intervalos entre administraciones secuenciales pueden variar con la administración de la variante de FXa y un segundo agente terapéutico que se produce el mismo día en ciertas realizaciones divulgadas. Por ejemplo, la variante de FXa se puede administrar una vez cada dos días, mientras que el segundo agente terapéutico se administra una vez al día, ya sea al mismo tiempo que la variante de FXa, o en un momento diferente en los días en que se administran ambos agentes.

La terapia combinada se puede administrar varias veces por hora, diariamente o semanalmente. Las administraciones pueden administrarse en un horario tal como cada 10 minutos, cada 15 minutos, cada 20 minutos, cada 30 minutos, cada hora, cada 2 horas, cada 3 horas, cada 4 horas, cada 5 horas, cada 6 horas, 3 veces diariamente, dos veces al día, una vez al día, una vez cada 2 días, una vez cada 3 días, una vez a la semana o en algún otro horario. La variante de FXa también se puede administrar de forma continua, por ejemplo, a través de una minibomba. La terapia de combinación se puede administrar, por ejemplo, a través de una vía parenteral (por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular).

En otras realizaciones divulgadas, una variante de FXa de la divulgación se puede administrar en concierto con otra terapia que se considera efectiva para tratar la ICH. En ejemplos no limitantes, se puede administrar una variante de FXa antes, con o después de administrar medicamentos para reducir la presión sanguínea o la presión intracraneal de un sujeto con ICH, o cirugía, tal como para eliminar un hematoma causado por ICH. En otros ejemplos, se puede administrar una variante de FXa antes, con o después de los medicamentos para prevenir o tratar las convulsiones o la fiebre, cada uno de los cuales puede acompañar a la ICH. R. Sahni and J. Weinberger, Vasc Health Risk Manag 3: 701-709 (2007).

En otro aspecto, la divulgación proporciona composiciones que comprenden una variante de FXa para su uso en el tratamiento o prevención de ICH en un sujeto. Las composiciones pueden comprender un portador, vehículo u otros ingredientes farmacéuticamente aceptables que sean fisiológicamente compatibles. Ejemplos no limitantes de tales portadores, vehículos y otros ingredientes incluyen solventes (por ejemplo, agua, etanol, solución salina, solución salina tamponada con fosfato), detergentes, tensioactivos, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos o antifúngicos, agentes de isotonicidad, agentes retardantes de absorción, azúcares (por ejemplo, sacarosa, dextrosa, lactosa), polialcoholes (por ejemplo, glicerol, manitol, sorbitol), sales (por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio), agentes humectantes, agentes emulsionantes, conservantes, tampones y agentes capaces de mejorar la estabilidad o efectividad de la variante de FXa.

Una composición para su uso de acuerdo con la divulgación puede estar en cualquier forma adecuada para la administración a un sujeto, tal como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infusionables). Las composiciones se pueden proporcionar en un formato premezclado listo para la administración a un sujeto, por ejemplo, en un vial o jeringa precargada. Dichos formatos no requieren reconstitución con diluyente antes de la administración. Alternativamente, las composiciones pueden proporcionarse en forma liofilizada que requiere reconstitución con diluyente (por ejemplo, agua estéril o solución salina) antes de la administración. Si es lo último, se puede proporcionar diluyente con el liofilizado en un recipiente separado. De acuerdo con el conocimiento de los expertos en la técnica, las composiciones pueden formularse para almacenamiento bajo refrigeración o a temperatura ambiente. La forma de la composición depende, al menos en parte, del modo de administración previsto. En ciertas realizaciones divulgadas, el modo de administración es parenteral, que incluye, por ejemplo, la administración intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular.

Las composiciones parenterales, así como otros tipos, pueden formularse en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación se refiere a unidades

físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos por tratar, cada unidad que contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, dispersión, en liposomas u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando la variante de FXa en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos preferidos de preparación son el secado al vacío y la liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente filtrada estéril del mismo. La fluidez adecuada de una solución se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

La divulgación también proporciona kits que comprenden una variante de FXa o una composición que comprende dicha variante de FXa. Un kit puede incluir además un diagnóstico o uno o más agentes terapéuticos adicionales. Un kit también puede incluir instrucciones para su uso en un uso terapéutico, así como materiales de embalaje. Un kit puede incluir adicionalmente una o más formas de dosis unitarias en recipientes diseñados para una administración conveniente por parte de un proveedor de atención. Ejemplos no limitantes incluyen viales o jeringas prellenadas. También se pueden incluir diluyentes para composiciones liofilizadas.

Ejemplos

Ejemplo 1

FXa^{16L} promueve la formación de coágulos en plasma normal

Se evaluó la actividad de FXa^{16L} y FXa derivado de plasma (pdFXa) midiendo el tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) en plasma agrupado tratado con citrato aislado de sujetos humanos sanos. La prueba de aPTT se realizó agregando un activador de superficie y fosfolípidos diluidos al plasma tratado con citrato. Después de una incubación para permitir la activación de los factores de contacto (Factor XII, Factor XI, Precalicroína y quininógeno de alto peso molecular), se añadió calcio y se midió el tiempo de coagulación. Se generan niveles bajos de FVa y FVIIIa durante el ensayo.

La adición de concentraciones crecientes de pdFXa o FXa^{16L} dio como resultado un acortamiento del tiempo de coagulación dependiente de la dosis. La EC₅₀ estimada calculada para FXa^{16L} y pdFXa fue de 45 ng/ml y 9 ng/ml, respectivamente.

La actividad de FXa^{16L} se examinó adicionalmente en plasma con tratamiento con citrato aislado de ratones normales, ratas y monos cynomolgus. El tiempo de coagulación se midió usando el ensayo aPTT. Similar a lo observado en el plasma humano, la adición de FXa^{16L} resultó en un acortamiento dependiente de la dosis del tiempo de coagulación en las tres especies. La EC₅₀ estimada calculada para FXa^{16L} en plasma de mono cynomolgus, ratón y rata fue de 49, 89 y 91 ng/ml, respectivamente.

El ensayo de generación de trombina (TGA) mide la fase de inicio, la fase de activación y la fase de inactivación de la generación de trombina. El TGA mide la producción de trombina en plasma a lo largo del tiempo después del inicio de la coagulación y se realizó como se describió previamente (Bunce et al., Blood 117: 290-298 (2011)). En las condiciones utilizadas para estos estudios, se usó factor tisular (TF) 1 pM para iniciar la coagulación. La generación de trombina (TG) se midió en plasma humano tratado con citrato, pobre en plaquetas aislado de sujetos sanos. Durante el transcurso del tiempo de 60 minutos del experimento, la adición de FXa^{16L} o pdFXa dio como resultado un aumento dependiente de la dosis en la generación de trombina (Figura 1A, Figura 1B). En comparación con el plasma humano tratado con vehículo, se observó un acortamiento del tiempo de retraso (fase de inicio) tanto para pdFXa como para FXa^{16L}. Sin embargo, en números absolutos, el tiempo de retraso para FXa^{16L} fue más largo en comparación con pdFXa (Figura 1C). La EC₅₀ estimada calculada para FXa^{16L} para el efecto descrito sobre el tiempo de retraso de TGA fue de 9 ng/ml. La generación máxima de trombina para FXa^{16L} y pdFXa fue similar, con concentraciones de trombina máxima que oscilaron entre 233-352 nM y 198-349 nM, respectivamente.

Los datos resumidos anteriormente demuestran que FXa^{16L} es eficaz para acelerar la formación de coágulos en plasma de animales no hemofílicos, incluidos los seres humanos.

Ejemplo 2

FXa^{16L} causa hemostasis en modelos de sangrado de roedores no hemofílicos

La capacidad de FXa^{16L} para causar hemostasis en animales no hemofílicos se probó midiendo el efecto sobre la pérdida de sangre después de la lesión por corte de cola en ratones y ratas no hemofílicos. El clip en la cola provoca un sangrado severo que desafía el sistema de coagulación

Se administró FXa^{16L} por vía intravenosa a ratones C57Bl/6 normales a diferentes dosis (0, 1, 10, 25, 50, 100 y 200 µg/kg). Dos minutos después, se cortaron las colas a 3 mm del extremo y la pérdida total de sangre hasta la hemostasis se midió en microlitros (µl). Los ratones de control fueron inyectados con vehículo. Los resultados se muestran en la Figura 2A en la cual los datos se presentan como media ± SEM, "*" indica significado estadístico a un valor p<0,05, y "****" indica significado estadístico a un valor p<0,001. Para el vehículo, se probaron 5 animales. Para los animales a los que se administraron diferentes dosis de FXa^{16L}, 6 se probaron a 1 µg/kg, 8 a 10 µg/kg, 8 a 25 µg/kg, 6 a 50 µg/kg, 8 a 100 µg/kg, y 5 se probaron a 200 µg/kg.

El tratamiento con FXa^{16L} antes de la transección de la cola causó una disminución dependiente de la dosis en la pérdida de sangre total del 12 % (1 µg/kg), 16,6 % (10 µg/kg), 26,7 % (25 µg/kg), 45,3 % (50 µg/kg), 62,9 % (100 µg/kg) y 69,6 % (200 µg/kg) en comparación con los ratones tratados con vehículo. La ED₅₀ estimada fue de 46 µg/kg.

En un segundo estudio, dos minutos después de que los ratones CD-1 machos normales fueron tratados con 25 µg/kg de FXa^{16L} o vehículo, se midió la actividad de coagulación del plasma usando el ensayo de tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) y el ensayo de generación de trombina (TGA). En plasma de animales tratados, aPTT mostró un 67 % de tiempo más corto para la coagulación y el tiempo de retraso TGA se acortó en un 85 %. La actividad de coagulación en sangre completa de ratones CD-1 tratados con 10 µg/kg o 25 µg/kg de FXa^{16L} o vehículo también se midió con TEG. Dos minutos después de la dosificación, los valores R de TEG de sangre de animales tratados con ambas dosis de FXa^{16L} disminuyeron en un 70 % en comparación con los ratones que recibieron solo el vehículo.

La actividad hemostática de FXa^{16L} también se probó en ratas Sprague-Dawley macho normales en el modelo de lesión severa con clip de cola. Las ratas pretratadas con FXa^{16L} mostraron una disminución de la hemorragia dependiente de la dosis de 5,7 % (10 µg/kg), 11,3 % (30 µg/kg), 49,0 % (50 µg/kg), 63,2 % (100 µg/kg) y 59,45 % (200 µg/kg) en comparación con las ratas tratadas con vehículo. Los resultados se muestran en la Figura 2B en la cual "*" indica significancia estadística con un valor p<0,05. Se usó un total de 5-7 ratas para cada dosis. Los procedimientos fueron similares a los de los experimentos con ratones. La ED₅₀ estimada fue de 38 µg/kg. La actividad ex vivo en sangre completa se midió usando TEG. Dos minutos después de tratar ratas con 1, 5, 10 o 30 µg/kg de FXa^{16L}, se observó una disminución en el valor de TEG-R de 38,2 % y 43,6 % a dosis de 10 µg/kg y 30 µg/kg, respectivamente, en comparación con las ratas tratadas solo con vehículo.

Ejemplo 3

FXa^{16L} reduce el volumen de hematoma en modelos de roedores con ICH

Se estudió FXa^{16L} en un modelo de ratón con ICH. En este modelo, la collagenasa bacteriana se inyecta en el cuerpo estriado del cerebro estereotácticamente. F. Schlunk, et al., Stroke 43: 246-249 (2012); C. Foerch, et al., Stroke 39: 3397-3404 (2008). La digestión proteolítica de la matriz extracelular que rodea los capilares cerca del sitio de inyección produce una hemorragia que imita la expansión del hematoma en pacientes con ICH causada por sangrado continuo.

En el experimento usando la variante de FXa, se indujo ICH por inyección estereotáctica de collagenasa bacteriana en el cuerpo estriado derecho de los ratones. Cuarenta y cinco minutos después de la inyección de collagenasa, se administró FXa^{16L} o vehículo por vía intravenosa a diferentes dosis. El volumen de sangre que se había filtrado en el parénquima cerebral como resultado de la alteración de los capilares por collagenasa se midió 24 horas después de la lesión. En ese momento, se sacó sangre de la vasculatura, se extrajeron los cerebros y se homogeneizaron, y se cuantificó el contenido de hemoglobina del tejido cerebral homogeneizado en comparación con una curva estándar.

El tratamiento con FXa^{16L} redujo el volumen de hematoma en ratones de una manera sensible a la dosis en comparación con los ratones tratados con vehículo solamente. Los resultados se muestran en la Figura 3A en la cual "*" indica significancia estadística a un valor p<0,05. ED₅₀ estimado = 3,05 µg/kg. Los animales probados por grupo oscilaron entre 7 y 15. La Figura 3B muestra el porcentaje de disminución en el volumen de hematoma en comparación con el vehículo en relación con la dosis.

Utilizando procedimientos similares a los utilizados en ratones, se indujo ICH en ratas macho Sprague Dawley. Quince minutos después de la inyección de collagenasa, a las ratas se les administraron por vía intravenosa diferentes dosis de FXa^{16L}, la actividad de derivación del inhibidor del factor ocho de composición procoagulante (FEIBA) a 100 U/kg, o vehículo solo. El volumen de hematoma basado en el contenido de hemoglobina cerebral se determinó a las 2 horas después de la lesión.

El tratamiento con FXa^{16L} redujo el volumen de hematoma en ratas en comparación con las ratas tratadas solo con vehículo. Los resultados se muestran en la Figura 4A en la cual "*" indica significancia estadística a un valor p<0,05.

La Figura 4B muestra el porcentaje de disminución en el volumen de hematoma en comparación con el vehículo en relación con la dosis. Aunque no tan marcada como en ratones, era evidente una tendencia hacia la respuesta a la dosis.

- 5 A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente invención tendrán los significados que comúnmente entienden los expertos en la materia. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos singulares incluirán pluralidades y los términos plurales incluirán el singular. Generalmente, la nomenclatura utilizada en conexión con las técnicas de cultivo de células y tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química e hibridación de proteínas y ácidos nucleicos descritas en el presente documento son las bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica.
- 10 Los usos y técnicas médicas divulgados en este documento se realizan en general de acuerdo con procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente memoria descriptiva a menos que se indique lo contrario. Véase, por ejemplo, Sambrook J. and Russell D., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology: A
- 15 Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow and Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); y Coligan et al., Short Protocols in Protein Science, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en este documento. La nomenclatura utilizada en relación
- 20 con los procedimientos y técnicas de laboratorio de química analítica, química orgánica sintética y química farmacéutica y medicinal descritas en el presente documento son las bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica.

- 25 A lo largo de esta especificación y reivindicaciones, se entenderá que la palabra "comprender" o variaciones tales como "comprende" o "que comprende" implica la inclusión de un número entero o grupo de números enteros pero no la exclusión de ningún otro número entero o grupo de enteros.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> PFIZER INC.
- <120> COMPOSICIONES Y PROCEDIMIENTOS PARA TRATAR LA HEMORRAGIA INTRACEREBRAL
- 30 <130> PC072056A
- <150> US 61/931,071
- <151> 2014-01-24
- <160> 2
- <170> PatentIn version 3,5
- 35 <210> 1
- <211> 488
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

ES 2 772 802 T3

Met 1	Gly	Arg	Pro	Leu 5	His	Leu	Val	Leu	Leu 10	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala 15	Gly
Leu	Leu	Leu	Leu 20	Gly	Glu	Ser	Leu	Phe 25	Ile	Arg	Arg	Glu	Gln 30	Ala	Asn
Asn	Ile	Leu 35	Ala	Arg	Val	Thr	Arg 40	Ala	Asn	Ser	Phe	Leu 45	Glu	Glu	Met
Lys 50	Lys	Gly	His	Leu	Glu	Arg 55	Glu	Cys	Met	Glu	Glu 60	Thr	Cys	Ser	Tyr
Glu 65	Glu	Ala	Arg	Glu	Val 70	Phe	Glu	Asp	Ser	Asp 75	Lys	Thr	Asn	Glu	Phe 80
Trp	Asn	Lys	Tyr	Lys 85	Asp	Gly	Asp	Gln	Cys 90	Glu	Thr	Ser	Pro	Cys 95	Gln
Asn	Gln	Gly	Lys 100	Cys	Lys	Asp	Gly	Leu 105	Gly	Glu	Tyr	Thr	Cys 110	Thr	Cys
Leu	Glu	Gly 115	Phe	Glu	Gly	Lys	Asn 120	Cys	Glu	Leu	Phe	Thr 125	Arg	Lys	Leu
Cys 130	Ser	Leu	Asp	Asn	Gly	Asp 135	Cys	Asp	Gln	Phe	Cys 140	His	Glu	Glu	Gln
Asn 145	Ser	Val	Val	Cys	Ser 150	Cys	Ala	Arg	Gly	Tyr 155	Thr	Leu	Ala	Asp	Asn 160
Gly	Lys	Ala	Cys	Ile	Pro	Thr	Gly	Pro	Tyr	Pro	Cys	Gly	Lys	Gln	Thr

ES 2 772 802 T3

165								170					175				
Leu	Glu	Arg	Arg	Lys	Arg	Ser	Val	Ala	Gln	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Gly		
			180					185						190			
Glu	Ala	Pro	Asp	Ser	Ile	Thr	Trp	Lys	Pro	Tyr	Asp	Ala	Ala	Asp	Leu		
			195					200						205			
Asp	Pro	Thr	Glu	Asn	Pro	Phe	Asp	Leu	Leu	Asp	Phe	Asn	Gln	Thr	Gln		
		210					215						220				
Pro	Glu	Arg	Gly	Asp	Asn	Asn	Leu	Thr	Arg	Ile	Val	Gly	Gly	Gln	Glu		
		225					230						235				
Cys	Lys	Asp	Gly	Glu	Cys	Pro	Trp	Gln	Ala	Leu	Leu	Ile	Asn	Glu	Glu		
				245					250						255		
Asn	Glu	Gly	Phe	Cys	Gly	Gly	Thr	Ile	Leu	Ser	Glu	Phe	Tyr	Ile	Leu		
			260					265						270			
Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Tyr	Gln	Ala	Lys	Arg	Phe	Lys	Val	Arg	Val		
			275					280						285			
Gly	Asp	Arg	Asn	Thr	Glu	Gln	Glu	Glu	Gly	Gly	Glu	Ala	Val	His	Glu		
		290					295						300				
Val	Glu	Val	Val	Ile	Lys	His	Asn	Arg	Phe	Thr	Lys	Glu	Thr	Tyr	Asp		
		305					310						315				
Phe	Asp	Ile	Ala	Val	Leu	Arg	Leu	Lys	Thr	Pro	Ile	Thr	Phe	Arg	Met		
				325					330						335		
Asn	Val	Ala	Pro	Ala	Cys	Leu	Pro	Glu	Arg	Asp	Trp	Ala	Glu	Ser	Thr		
			340					345						350			
Leu	Met	Thr	Gln	Lys	Thr	Gly	Ile	Val	Ser	Gly	Phe	Gly	Arg	Thr	His		
			355					360						365			
Glu	Lys	Gly	Arg	Gln	Ser	Thr	Arg	Leu	Lys	Met	Leu	Glu	Val	Pro	Tyr		
		370					375						380				
Val	Asp	Arg	Asn	Ser	Cys	Lys	Leu	Ser	Ser	Ser	Phe	Ile	Ile	Thr	Gln		
		385					390						395				
Asn	Met	Phe	Cys	Ala	Gly	Tyr	Asp	Thr	Lys	Gln	Glu	Asp	Ala	Cys	Gln		
				405					410						415		

ES 2 772 802 T3

Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Val Thr Arg Phe Lys Asp Thr Tyr Phe
 420 425 430

Val Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Arg Lys Gly Lys
 435 440 445

Tyr Gly Ile Tyr Thr Lys Val Thr Ala Phe Leu Lys Trp Ile Asp Arg
 450 455 460

Ser Met Lys Thr Arg Gly Leu Pro Lys Ala Lys Ser His Ala Pro Glu
 465 470 475 480

Val Ile Thr Ser Ser Pro Leu Lys
 485

<210> 2

<211> 1560

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400>2

ES 2 772 802 T3

gactttgctc cagcagcctg tcccagtgag gacagggaca cagtactcgg ccacaccatg	60
gggcgcccac tgcacctcgt cctgctcagt gcctccctgg ctggcctcct gctgctcggg	120
gaaagtctgt tcatccgcag ggagcaggcc aacaacatcc tggcgagggt cacgagggcc	180
aattcctttc ttgaagagat gaagaaagga cacctcgaaa gagagtgcac ggaagagacc	240
tgctcatacg aagaggcccg cgaggtcttt gaggacagcg acaagacgaa tgaattctgg	300
aataaataca aagatggcga ccagtgtgag accagtcctt gccagaacca gggcaaatgt	360
aaagacggcc tcggggaata cacctgcacc tgtttagaag gattcgaagg caaaaactgt	420
gaattattca cacggaagct ctgcagcctg gacaacgggg actgtgacca gttctgccac	480
gaggaacaga actctgtggt gtgctcctgc gcccgcgggg acaccctggc tgacaacggc	540
aaggcctgca ttcccacagg gccctacccc tgtgggaaac agaccctgga acgcaggaag	600
aggtcagtgg ccagggccac cagcagcagc ggggaggccc ctgacagcat cacatggaag	660
ccatatgatg cagccgacct ggaccccacc gagaaccctt tcgacctgct tgacttcaac	720
cagacgcagc ctgagagggg cgacaacaac ctaccagga tcgtgggagg ccaggaatgc	780
aaggacgggg agtgtccctg gcaggccctg ctcatcaatg aggaaaacga gggtttctgt	840
ggtggaacca ttctgagcga gttctacatc ctaacggcag cccactgtct ctaccaagcc	900
aagagattca aggtgagggt aggggaccgg aacacggagc aggaggaggg cggtgaggcg	960
gtgcacgagg tggaggtggt catcaagcac aaccggttca caaaggagac ctatgacttc	1020
gacatcgccg tgctccggct caagaccccc atcaccttcc gcatgaacgt ggcgccctgcc	1080
tgcctccccg agcgtgactg ggccgagtcc acgctgatga cgcagaagac ggggattgtg	1140
agcggcttcg ggcgcacca cgagaagggc cggcagtcca ccaggctcaa gatgctggag	1200
gtgccctacg tggaccgcaa cagctgcaag ctgtccagca gttcatcat caccagaac	1260
atgttctgtg ccggctacga caccaagcag gaggatgcct gccaggggga cagcgggggc	1320
ccgcacgtca cccgcttcaa ggacacctac ttcgtgacag gcatcgtcag ctggggagag	1380
ggctgtgccc gtaaggggaa gtacgggatc tacaccaagg tcaccgcctt cctcaagtgg	1440
atcgacaggt ccatgaaaac caggggcttg cccaaggcca agagccatgc cccggaggtc	1500
ataacgtcct ctccattaaa gtgagatccc actcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1560

REIVINDICACIONES

1. Una variante del Factor Xa (FXa) para su uso en el tratamiento de la hemorragia intracerebral (ICH), en la que la variante del Factor Xa (FXa) incluye al menos una mutación de sustitución seleccionada del grupo que consiste en:
 - a) el aminoácido en la posición correspondiente a 235 en SEQ ID NO: 1 está sustituido con Thr, Leu, Phe, Asp o Gly; y
 - b) el aminoácido en la posición correspondiente a 236 en SEQ ID NO: 1 está sustituido con Leu, Ala o Gly.
2. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que
 - (i) se reduce la probabilidad de que un sujeto con ICH muera,
 - (ii) se mejora la función cerebral de un sujeto con ICH,
 - (iii) se reduce el deterioro neurológico de un sujeto con ICH,
 - (iv) se reduce el edema perihemorrágico (PHE), o
 - (v) se reduce o previene la expansión del volumen del hematoma.
3. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el aminoácido en la posición correspondiente a 235 en la SEQ ID NO: 1 está sustituido con Leu.
4. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 2(ii) o 3, en la que la función cerebral mejorada está asociada con;
 - (a) reducir la presión intracraneal elevada (PIC) causada por ICH igual o inferior a un valor de presión seleccionado del grupo que consiste en 80 mm Hg, 70 mm Hg, 60 mm Hg, 50 mm Hg, 40 mm Hg, 30 mm Hg, 20 mm Hg y 10 mm Hg,
 - (b) mantener la presión de perfusión cerebral (CPP) a un valor de presión igual a o superior a un valor seleccionado del grupo que consiste en 40 mm Hg, 50 mm Hg, 60 mm Hg, 70 mm Hg, 80 mm Hg, 90 mm Hg, 100 mm Hg, 110, mm Hg y 120 mm Hg,
 - (c) mantener la tensión de oxígeno del tejido cerebral (P_{tO_2}) a un valor de presión igual a o superior a un valor seleccionado del grupo que consiste en 6 mm Hg, 8 mm Hg, 10 mm Hg, 12 mm Hg, 14 mm Hg, 16 mm Hg, 18 mm Hg, 20, mm Hg, 22 mm Hg y 24 mm Hg,
 - (d) reducir la proporción de las concentraciones de lactato a piruvato (LAR) igual o inferior a un valor seleccionado del grupo que consiste en 60, 50, 40, 30 y 20, o
 - (e) reducir la proporción del índice de reactividad de la presión cerebrovascular (PRx) igual o inferior a un valor seleccionado del grupo que consiste en 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,0, -0,1, -0,2 y -0,3.
5. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 2(iii) o 3, en el que se evalúa el deterioro neurológico usando;
 - (a) la Puntuación Coma de Glasgow y en la que, como resultado del tratamiento, el puntaje del sujeto mejora de 3 a 4 o más, de 4 a 5 o más, de 5 a 6 o más, de 6 a 7 o más, de 7 a 8 o superior, de 8 a 9 o superior, de 9 a 10 o superior, de 10 a 11 o superior, de 11 a 12 o superior, de 12 a 13 o superior, de 13 a 14 o superior, o de 14 a 15,
 - (b) la versión extendida de la Escala de Resultados de Glasgow y en la que, como resultado del tratamiento, la puntuación promedio de los sujetos tratados mejora a 1 o mejor, 2 o mejor, 3 o mejor, 4 o mejor, 5 o mejor, 6 o mejor, 7 o mejor, o 8,
 - (c) el índice de Barthel y en el que, como resultado del tratamiento, el puntaje promedio de los sujetos tratados mejora a 10 o mejor, 20 o mejor, 30 o mejor, 40 o mejor, 50 o mejor, 60 o mejor, 70 o mejor, o 80 o mejor, o 90 o mejor,
 - (d) la escala de accidente cerebrovascular NIH y en la que, como resultado del tratamiento, la puntuación promedio de los sujetos tratados se reduce de 42 a 41 o menos, de 41 a 40 o menos, de 40 a 39 o menos, de 39 a 38 o menos, de 38 a 37 o menos, 37 a 36 o menos, 36 a 35 o menos, 35 a 34 o menos, 34 a 33 o menos, 33 a 32 o menos, 32 a 31 o menos, 31 a 30 o menos, 30 a 29 o menos, 29 a 28 o menos, 28 a 27 o menos, 27 a 26 o menos, 26 a 25 o menos, 25 a 24 o menos, 24 a 23 o menos, 23 a 22 o menos, 22 a 21 o menos, 21 a 20 o menos, 20 a 19 o menos, 19 a 18 o menos, 18 a 17 o menos, 17 a 16 o menos, 16 a 15 o menos, 15 a 14 o menos, 14 a 13 o menos, 13 a 12 o menos, 12 a 11 o menos, 11 a 10 o menos, 10 a 9 o menos, 9 a 8 o

menos, 8 a 7 o menos, 7 a 6 o menos, 6 a 5 o menos, 5 a 4 o menos, 4 a 3 o menos, 3 a 2 o menos, 2 a 1 o menos, o 1 a 0,

5 (e) la Escala Rankin modificada y en la que, como resultado del tratamiento, la puntuación media de los sujetos tratados se reduce de entre aproximadamente 5 y 6 a entre aproximadamente 4 y 5, de entre aproximadamente 4 y 5 a entre aproximadamente 3 y 4, de entre de aproximadamente 3 y 4 a entre aproximadamente 2 y 3, de entre aproximadamente 2 y 3 a entre aproximadamente 1 y 2, o de entre aproximadamente 1 y 2 a entre aproximadamente 0 y 1,

10 (f) la Escala Rankin modificada y en la que, como resultado del tratamiento, la proporción de sujetos tratados con una puntuación de la Escala Rankin modificada de 5 o 6 se reduce en comparación con los que obtienen una puntuación de 0, 1, 2, 3 o 4, o

(g) la Escala Rankin modificada y en la que, como resultado del tratamiento, la proporción de sujetos tratados con una puntuación de la Escala Rankin modificada de 4, 5 o 6 se reduce en comparación con los que obtienen una puntuación de 0, 1, 2 o 3.

15 6. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 2(iv) o 3, en el que, como resultado del tratamiento, el volumen promedio de PHE en sujetos con ICH se reduce al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación a controles no tratados, o el aumento promedio de la presión intracraneal causada por la PHE en sujetos con ICH se reduce en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación con los controles no tratados.

20 7. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 2(v) o 3, en el que,

(a) como resultado del tratamiento, la expansión del volumen de hematoma promedio en sujetos con ICH se reduce al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % en comparación con los controles no tratados,

25 (b) como resultado del tratamiento, la expansión del volumen de hematoma promedio en sujetos con ICH se reduce en al menos aproximadamente 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml, 3 ml, 3,5 ml, 4 ml, 4,5 ml, 5 ml, 5,5 ml, 6 ml, 6,5 ml, 7 ml, 7,5 ml, 8 ml, 8,5 ml, 9 ml, 9,5 ml, 10 ml, 10,5 ml, 11 ml, 11,5 ml, 12 ml, 12,5 ml, 13 ml, 13,5 ml, 14 ml, 14,5 ml, 15 ml, 16 ml, 17 ml, 18 ml, 19 ml, 20 ml, 22 ml, 24 ml, 26 ml, 28 ml, 30 ml, 35 ml, 40 ml, 45 ml, o 50 ml, en comparación con los controles no tratados,

30 (c) la proporción de sujetos con ICH en los que el volumen de hematoma que se ha expandido 3 ml o más, 6 ml o más, o 12,5 ml o más se reduce en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados,

35 (d) la proporción de sujetos con ICH en los que el volumen de hematoma que se ha expandido en un 15 % o más, en un 20 % o más, en un 25 % o más, en un 30 % o más, en un 33 % o más se reduce al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados,

(e) la proporción de sujetos con ICH que tienen una puntuación de signo de punto de 4 después del tratamiento se reduce al menos en aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados,

40 (f) la proporción de sujetos con ICH que tienen una puntuación de signo de punto de 3 después del tratamiento se reduce en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados,

45 (g) la proporción de sujetos con ICH que tienen una puntuación de signo de punto de 2 después del tratamiento se reduce en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados, o

(h) la proporción de sujetos con ICH que tienen una puntuación de signo de punto de 1 después del tratamiento se reduce en al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 %, en comparación con los controles no tratados.

50 8. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con la reivindicación 7(e) a (h), en el que la puntuación de signo de punto se determina un período de tiempo después de la primera administración de la variante de FXa seleccionada del grupo que consiste en 30 minutos, 45 min, 60 min, 75 min, 90 min, 2 h, 2,5 h, 3 h, 3,5 h, 4 h, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h, 9 h, 10 h, 11 h, 12 h, 18 h, 24 h, 30 h, 48 h, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 18 días, 3 semanas y 4 semanas.

9. La variante del Factor Xa (FXa) para su uso de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que la hemorragia intracerebral se produce en una región del cerebro seleccionada del grupo que consiste en cerebro, lóbulo frontal, lóbulo parietal, lóbulo occipital, lóbulo temporal, cerebelo, tallo cerebral, mesencéfalo, protuberancia anular, médula, glándula pituitaria, hipotálamo, tálamo, hipocampo, amígdala, claustrum y ganglios basales.

FIG. 1A

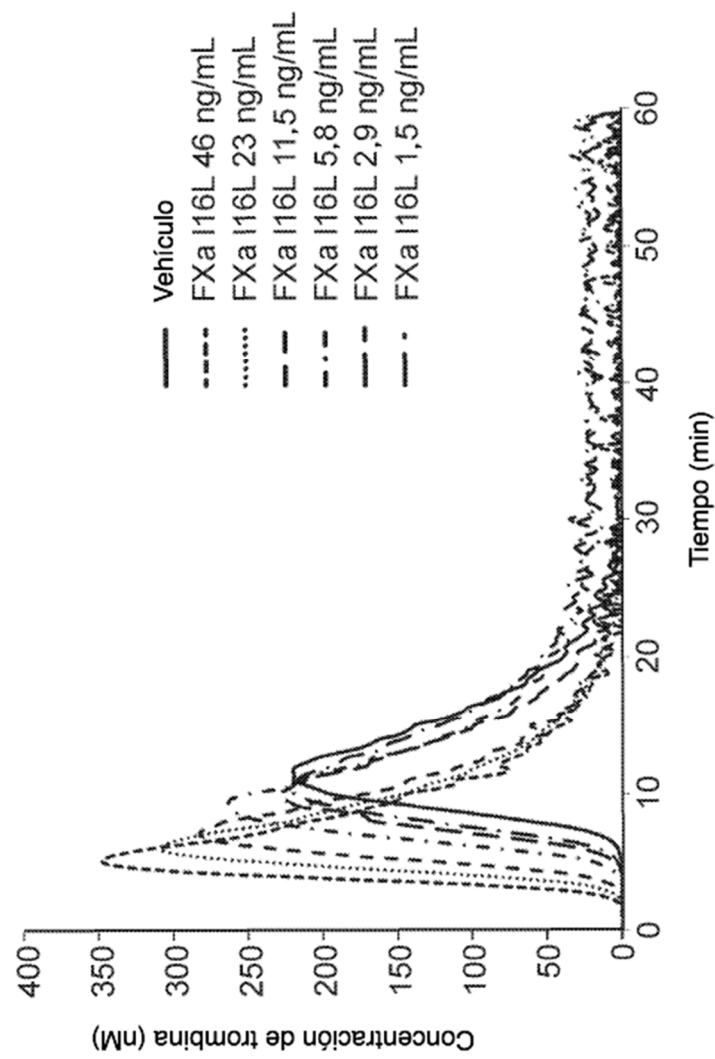


FIG. 1B

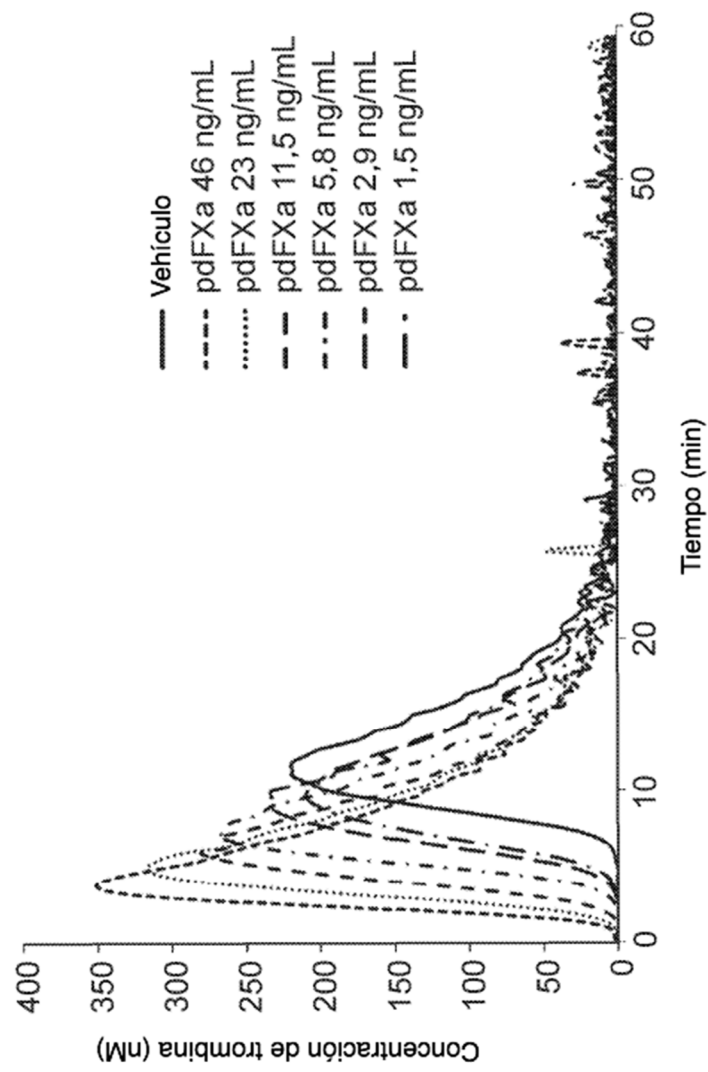


FIG. 1C

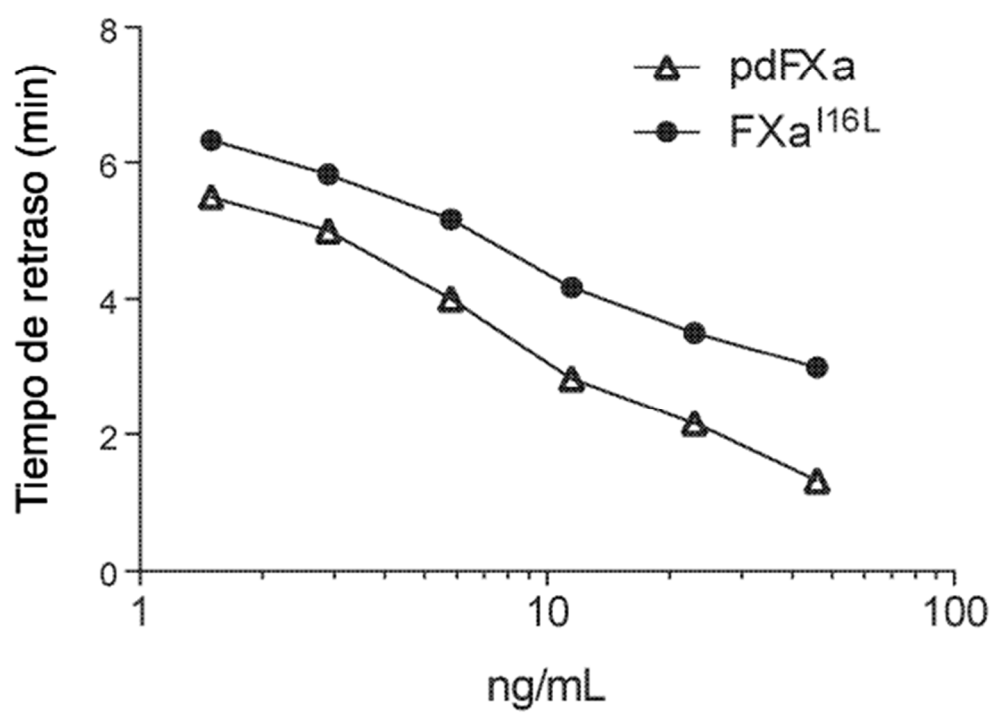


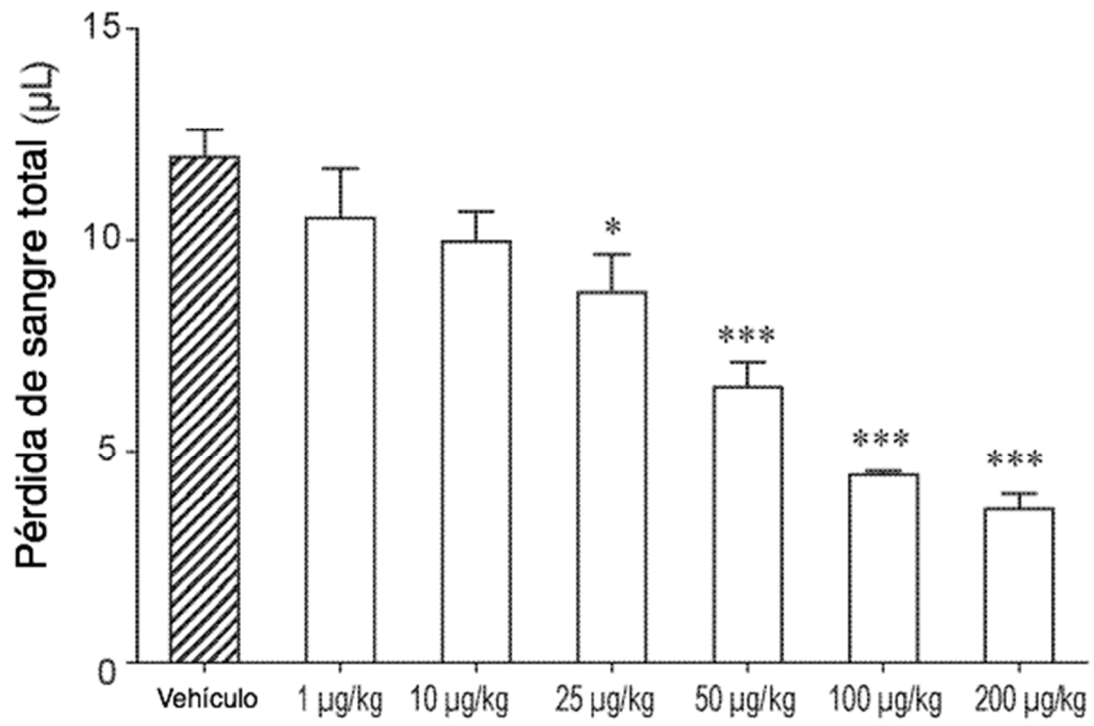
FIG. 2A

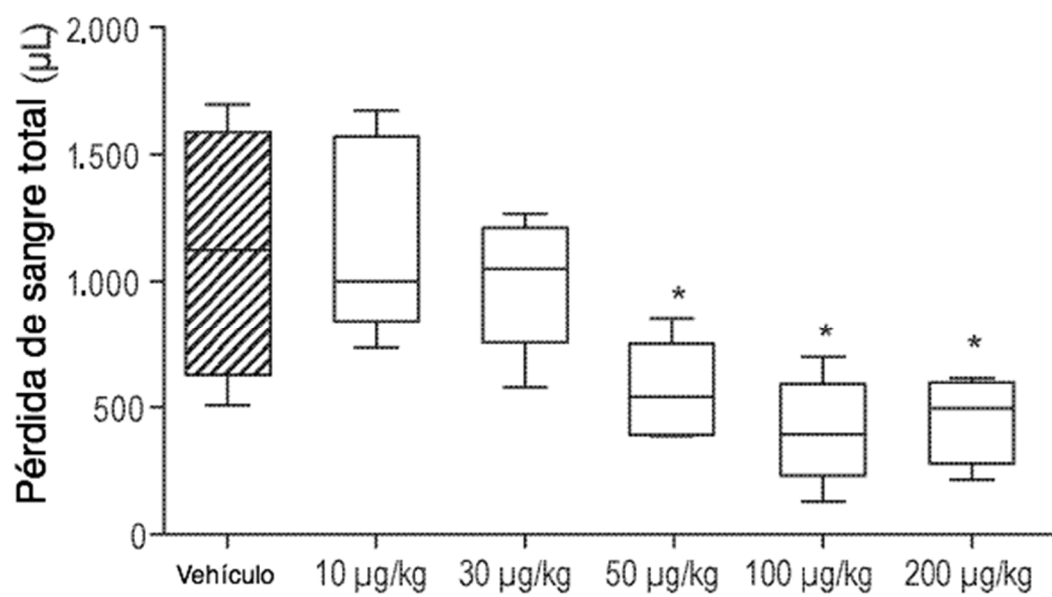
FIG. 2B

FIG. 3A

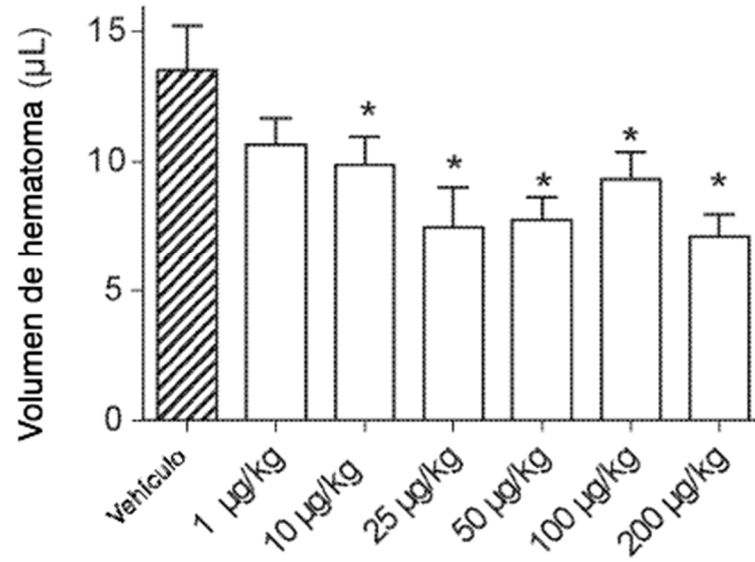


FIG. 3B

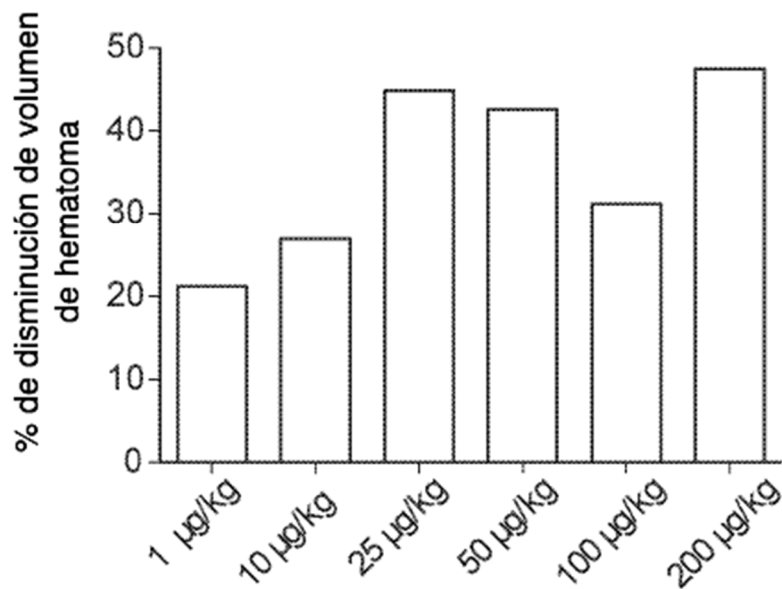


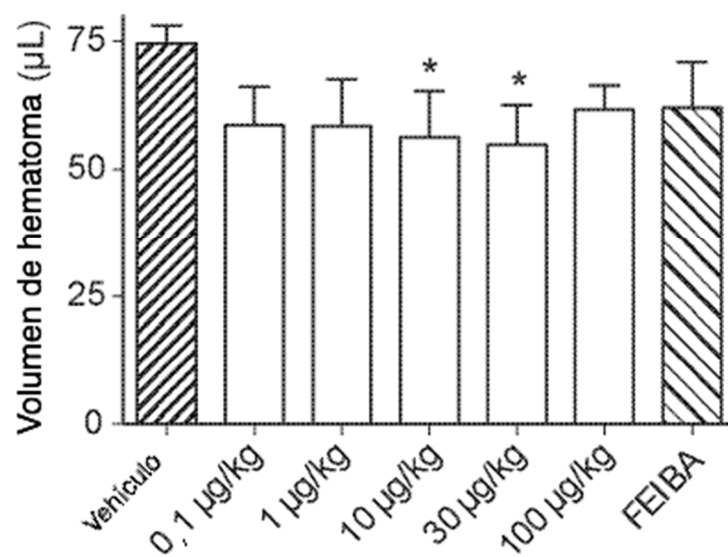
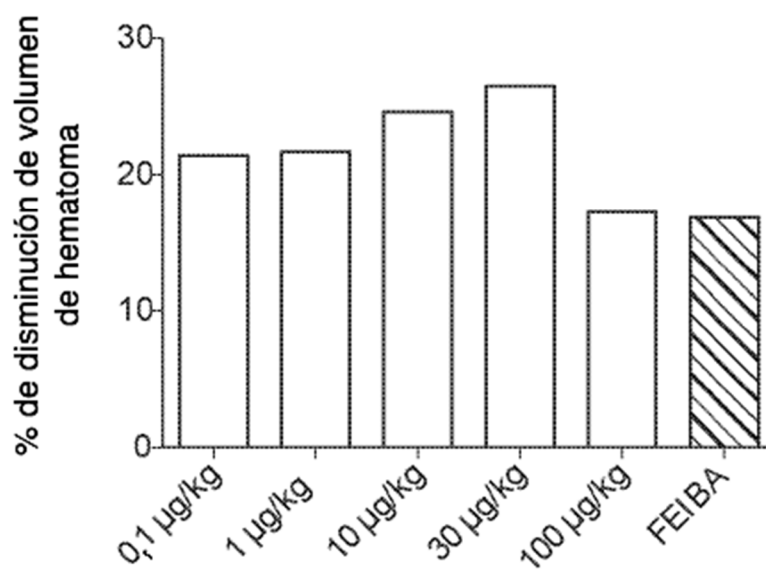
FIG. 4A**FIG. 4B**

FIG. 5

Preproteína X de Factor Humano (SEQ ID NO:1)

1 MGRPLHLVLL SASLAGLLLL GESLFIRREQ ANNILARVTR ANSFLEEMKK GHLERECMEE
 61 TCSYEEAREV FEDSDKTNEF WNKYKDGQDC ETSPCQNQ GK CKDGLGEYTC TCLEGFEGKN
 121 CELFTRKLCS LDNGDCDQFC HEEQNSVVC CARGYTLADN GKACIPTGPY PCGKQTLERR
 181 KRSVAQATSS SGEAPDSITW KPYDAADLDF TENPFDLLDF NQTQPERGDN NLTRIVGGQE
 241 CKDGECPWQA LLINEENEGF CGGTILSEFY ILTAAHCLYQ AKRFKVRVGD RNTEQEEGGE
 301 AVHEVEVVIK HNRFTKETD FDI AVLRLKT PITFRMNVAP ACLPERDWA E STLMTQKTGI
 361 VSGFGRTHEK GRQSTRKML E VPYVDRNSC KLSSEFIITQ NMFCAGYDTK QEDACQGD SG
 421 GPHVTRFKDT YFVTGIVSWG EGCARKGKYG IYTKVTAF LK WIDRSMKTRG LPKAKSHAPE
 481 VITSSPLK

FIG. 6**ADNc de proproteína X de Factor Human (SEQ ID NO:2)**

1 GACTTTGCTC CAGCAGCCTG TCCAGTGAG GACAGGGACA CAGTACTCGG CCACACCATG
 61 GGGCGCCAC TGCACCTCGT CCTGCTCAGT GCCTCCCTGG CTGGCCTCCT GCTGCTCGGG
 121 GAAAGTCTGT TCATCCGCAG GGAGCAGGCC AACACATCC TGGCGAGGGT CACGAGGGCC
 181 AATTCTTTC TTGAAGAGAT GAAGAAAGGA CACCTCGAAA GAGAGTGCAT GGAAGAGACC
 241 TGCTCATACG AAGAGGCCCG CGAGGTCCTT GAGGACAGCG ACAAGACGAA TGAATTCTGG
 301 AATAAATACA AAGATGGCGA CCAGTGTGAG ACCAGTCTT GCCAGAACCA GGGCAAATGT
 361 AAAGACGGCC TCGGGGAATA CACCTGCACC TGTTTAGAAG GATTCGAAGG CAAAACCTGT
 421 GAATTATTCA CACGGAAGCT CTGCAGCCTG GACAACGGGG ACTGTGACCA GTTCTGCCAC
 481 GAGGAACAGA ACTCTGTGGT GTGCTCCTGC GCCCGCGGGT ACACCTGGC TGACAAACGGC
 541 AAGGCCTGCA TTCCCACAGG GCCCTACCCC TGTGGGAAC AGACCTGGA ACGCAGGAAG
 601 AGGTCAGTGG CCCAGGCCAC CAGCAGCAGC GGGGAGGCCC CTGACAGCAT CACATGGAAG
 661 CCATATGATG CAGCCGACCT GGACCCACCC GAGAACCCTT TCGACCTGCT TGACTTCAAC
 721 CAGACGCAGC CTGAGAGGGG CGACAACAAC CTCACCAGGA TCGTGGGAGG CCAGGAATGC
 781 AAGGACGGG AGTGTCCTG GCAGGCCCTG CTCATCAATG AGGAAAACGA GGGTTTCTGT

continuación

FIG. 6 continuación

```

841 GGTGGAACCA TTCTGAGCGA GTTCTACATC CTAACGGCAG CCCACTGTCT CTACCAAGCC
901 AAGAGATTCA AGGTGAGGGT AGGGGACCGG AACACGGAGC AGGAGGAGGG CGGTGAGGCG
961 GTGCACGAGG TGGAGGTGGT CATCAAGCAC AACCGGTTCA CAAAGGAGAC CTATGACTTC
1021 GACATCGCCG TGCTCCGGCT CAAAGACCCC ATCACCTTCC GCATGAACGT GGCGCCTGCC
1081 TGCCCTCCCC AGCGTGA CTG GCGCGAGTCC ACGCTGATGA CGCAGAAGAC GGGGATTGTG
1141 AGCGGCTTCG GCGGCACCCA CGAGAAGGGC CGGCAGTCCA CCAGGCTCAA GATGCTGGAG
1201 GTGCCCTACG TGGACCGCAA CAGCTGCAAG CTGTCCAGCA GCTTCATCAT CACCCAGAAC
1261 ATGTTCTGTG CCGGCTACGA CACCAAGCAG GAGGATGCCT GCCAGGGGGA CAGCGGGGGC
1321 CCGCACGTCA CCGGCTTCAA GGACACCTAC TTCGTGACAG GCATCGTCAG CTGGGGAGAG
1381 GGCTGTGCCC GTAAGGGGAA GTACGGGATC TACACCAAGG TCACCGCCTT CCTCAAGTGG
1441 ATCGACAGGT CCATGAAAAC CAGGGGCTTG CCCAAGGCCA AGAGCCATGC CCCGGAGGTC
1501 ATAACTCCT CTCCATTAAA GTGAGATCCC ACTCAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

```