

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 897 746**

51 Int. Cl.:

A61K 38/57	(2006.01)	A61P 7/02	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)	A61P 7/10	(2006.01)
A61K 31/4365	(2006.01)	A61P 9/00	(2006.01)
A61K 31/519	(2006.01)	A61P 9/10	(2006.01)
A61K 31/60	(2006.01)	A61P 11/00	(2006.01)
A61K 31/616	(2006.01)	A61P 21/00	(2006.01)
A61K 31/727	(2006.01)	A61P 25/00	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)	A61P 29/00	(2006.01)
C07K 16/36	(2006.01)	A61P 43/00	(2006.01)
A61P 3/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.06.2014 PCT/EP2014/063691**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **31.12.2014 WO14207199**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2014 E 14739078 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.08.2021 EP 3013366**

54 Título: **Terapia combinada con un inhibidor del Factor XII y un inhibidor de C1**

30 Prioridad:

28.06.2013 US 201361840662 P
16.07.2013 EP 13176605

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.03.2022

73 Titular/es:

CSL BEHRING GMBH (100.0%)
Emil-von-Behring-Strasse 76
35041 Marburg, DE

72 Inventor/es:

NOLTE, MARC y
PRAGST, INGO

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 897 746 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

Terapia combinada con un inhibidor del Factor XII y un inhibidor de C1

La presente divulgación se refiere al uso de al menos un inhibidor de C1 (inhibidor de la C1 esterasa o C1-INH) y al menos un inhibidor del Factor XII en el tratamiento de los trastornos del sistema de activación por contacto. También se proporcionan composiciones que comprenden al menos un C1-INH y al menos un inhibidor del Factor XII.

Existen dos vías convergentes para la coagulación que son desencadenadas por componentes "extrínsecos" (pared del vaso) o "intrínsecos" (transmitidos por la sangre) del sistema vascular. La vía de activación "intrínseca" o de contacto se inicia cuando el Factor XII (FXII, factor Hageman) entra en contacto con superficies cargadas negativamente en una reacción en la que intervienen el cininógeno de alto peso molecular y la calicreína plasmática. El factor XII es una serina proteasa y, una vez activado (FXIIa), activa aún más el FXII circulante en una reacción de retroalimentación positiva (directamente o a través de la activación de la precalicreína). El FXIIa también activa el Factor XI y la coagulación sanguínea procede en una cascada de reacción que implica la activación de otros factores por proteólisis limitada que culmina en la generación de trombina, que convierte el fibrinógeno plasmático en fibrina y activa las plaquetas.

Aunque el FXII es el factor iniciador de la vía intrínseca, la deficiencia de FXII no se asocia a un aumento de las complicaciones hemorrágicas espontáneas o relacionadas con lesiones (Ratnoff & Colopy, *J. Clin. Invest.* 34, 602 a 613 (1955)). De hecho, los seres humanos con deficiencia de FXII no sufren hemorragias anormales ni siquiera durante procedimientos quirúrgicos importantes (Colman, R. W. *Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles & Clinical Practice* (eds. Colman *et al.*) 103 a 122 (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001)).

En algunos informes anteriores, la deficiencia de FXII se había asociado con un mayor riesgo de trombosis venosa. (Kuhli *et al.*, *Am. J. Ophthalmol.* 137, 459 a 464 (2004); Halbmayer *et al.*, *Wiener Med. Wochschr.* 143, 43 a 50 (1993).) Los estudios e informes de casos que apoyan esta idea se refieren al caso índice de la deficiencia de FXII, John Hageman, que murió de embolia pulmonar. Sin embargo, esta hipótesis ha sido cuestionada por una reciente reevaluación de varios informes de casos que relacionan la deficiencia de FXII con la trombosis. (Girolami *et al.*, *J. Thromb. Thrombolysis* 17, 139 a 143 (2004)). En la mayoría de los casos, los autores identificaron factores de riesgo protrombóticos concomitantes, congénitos o adquiridos, en combinación con la deficiencia de FXII, que podrían ser responsables del evento trombótico independientemente del FXII. Grandes estudios epidemiológicos con pacientes bien caracterizados (Koster *et al.*, *Br. J. Haematol.* 87, 422 a 424 (1994)) y las familias con deficiencia de FXII (Zeerleder *et al.*, *Thromb. Hemost.* 82, 1240 a 1246 (1999)) indican que no hay correlación entre la deficiencia de FXII y un riesgo pro-trombótico.

Más recientemente, Kleinschnitz *et al.* informaron de un papel del FXII en la trombosis patológica en la isquemia cerebral. (Kleinschnitz *et al.*, *J. Exp. Med.* 203:513 a 518 (2006)). Y los estudios en ratones deficientes en FXII han sugerido que el FXII está implicado en la formación patológica de trombos arteriales por medio de la estabilización de los trombos recién generados. Véanse los documentos US 2008/0254039 y WO 2006/066878 que desvelan el uso de un inhibidor del FXII para prevenir la formación y/o la estabilización de los trombos, pero no desvelan ningún dato real ni la administración combinada de un inhibidor del FXII con un inhibidor del C1.

El documento WO 2008/098720 desvela el uso de inhibidores particulares del FXIIa, es decir, inhibidores mutantes de Kazal derivados de SPINK-1 que están mutados para aumentar la homología con infestina-4, para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la formación de trombos arteriales, pero no desvela ninguna terapia combinada.

El inhibidor C1 (C1-INH) es un inhibidor de la serina proteasa y el inhibidor fisiológico del sistema de activación de contacto endógeno. Inhibe varias proteasas asociadas a los sistemas de complemento, calicreína-quinina y coagulación, incluido el FXII. Basándose en su papel central en la regulación de la vía clásica del complemento y en la implicación de la inflamación mediada por el complemento en la lesión por reperfusión, se han investigado los efectos de la administración de C1-INH en el déficit neurológico y el tamaño del infarto tras el accidente cerebrovascular. Se descubrió que el C1-INH tiene potentes propiedades neuroprotectoras en modelos de ratón de isquemia cerebral. (Véase, por ejemplo, De Simoni *et al.*, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 23(2): 232 a 239 (2003)). Además, el C1-INH también es una terapia aprobada para pacientes con angioedema hereditario (AEH).

La formación de trombos (coágulos de sangre) es una respuesta fisiológica a las lesiones que reduce la pérdida de sangre. La lesión de la pared del vaso desencadena la adhesión y agregación repentina de las plaquetas de la sangre, seguida por la activación del sistema de coagulación del plasma y la formación de trombos que contienen fibrina, que sellan el lugar de la lesión (es decir, la lesión en la pared del vaso). Estos eventos limitan la pérdida de sangre postraumática pero, en condiciones patológicas, también pueden ocluir los vasos enfermos, lo que provoca isquemia y/o infarto de los tejidos y órganos vitales. Posteriormente, la inflamación y/o otras respuestas fisiológicas secundarias a la oclusión o a la interrupción del flujo sanguíneo pueden dañar aún más un tejido u órgano. Otras enfermedades y trastornos asociados a la vía de activación de los contactos, tales como los de los sistemas de la quina-calicreína o del complemento, pueden igualmente provocar daños en órganos y tejidos vitales.

A pesar de estos estudios iniciales, sigue existiendo la necesidad de mejorar el tratamiento de los trastornos del sistema de activación por contacto, tal como la trombosis, y en particular de tratamientos que puedan proporcionar

una eficacia mejorada y/o permitir el uso de dosis más bajas de agentes terapéuticos costosos. A este respecto, los inventores han descubierto que el tratamiento y la protección de los trastornos del sistema de activación de contacto, tales como la trombosis arterial, se podrían mejorar sinérgicamente por medio de la administración de al menos un inhibidor del FXII (por ejemplo, rHA-infestina-4) y al menos un C1-INH (por ejemplo, BERINERT®).

5 En consecuencia, en la presente memoria se desvelan terapias combinadas que comprenden el uso de al menos un inhibidor de C1 (inhibidor de la esterasa C1 o C1-INH) y al menos un inhibidor del Factor XII (inhibidor del FXII), en el que el inhibidor del FXII no es el C1-INH, en el tratamiento de trastornos del sistema de activación de contacto. El trastorno del sistema de activación por contacto se puede seleccionar entre un trastorno trombótico, y un trastorno relacionado con la formación de kinina, en el que el trastorno relacionado con la formación de kinina se selecciona entre angioedema hereditario (AEH), edema cerebral secundario, edema del sistema nervioso central, shock hipotensivo y edema durante o después del contacto de la sangre con una superficie artificial, y la terapia puede comprender la administración de una cantidad eficaz de al menos un inhibidor del FXII y al menos un inhibidor de la C1-INH, en el que el al menos un C1-INH es un inhibidor de la C1 Esterasa humano derivado del plasma y/o un inhibidor de la C1 Esterasa humano recombinante.

15 En algunas realizaciones, el al menos un inhibidor del FXII puede comprender una secuencia polipeptídica de infestina-4 de tipo salvaje (SEC. ID Núm.: 1) o una secuencia de infestina-4 con 1 a 5 mutaciones aminoacídicas fuera de las posiciones aminoacídicas N-terminales 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1 y/o una homología de al menos el 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% con la SEC. ID Núm.: 1 y que conserva seis residuos de cisteína conservados de la SEC. ID Núm.: 1. En ciertas realizaciones, el al menos un inhibidor del FXII puede comprender un anticuerpo anti-FXII en el que el anticuerpo anti-FXII se une e inhibe la activación y/o actividad del FXIIa. En algunas realizaciones, el al menos un inhibidor del FXII puede estar vinculado a un compañero de fusión (por ejemplo, un polipéptido potenciador de la vida media) directamente o a través de un enlazador.

El al menos un C1-INH es un Inhibidor de Esterasa C1 humano derivado del plasma y/o un Inhibidor de Esterasa C1 humano recombinante.

25 En varias realizaciones, el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran profilácticamente, o se administran después de que un paciente desarrolle un trastorno del sistema de activación de contacto. El al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se pueden administrar al mismo tiempo, el inhibidor del FXII se puede administrar primero, o el C1-INH se puede administrar primero. El al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se pueden administrar una vez, o varias veces (por ejemplo, administración repetida para tratar un trastorno crónico, como tratamiento profiláctico repetido, o como tratamiento repetido durante o después de una incidencia de un trastorno del sistema de activación de contacto).

Breve descripción de los dibujos

35 La Figura 1 muestra el curso temporal de la oclusión arterial, así como las tasas de oclusión, en un modelo de trombosis arterial inducida por FeCl₃ en ratas tras el tratamiento con un inhibidor del Factor XII (rHA-infestina-4), C1-INH o una combinación de ambos.

La Figura 2 muestra la tasa de oclusión en un modelo de trombosis arterial inducida por FeCl₃ en ratas tras el tratamiento con un inhibidor del Factor XII (rHA-infestina-4) o C1-INH individualmente o en combinación.

Descripción detallada de algunas realizaciones

40 Las realizaciones de la divulgación pertenecen a procedimientos que comprenden la administración de al menos un inhibidor del Factor XII (FXII) y al menos un inhibidor de la C1 esterasa (C1-INH) a un paciente para tratar trastornos del sistema de activación de contacto. En algunas realizaciones, la combinación proporciona efectos sinérgicos en comparación con cualquiera de los componentes cuando se administra como monoterapia. En algunas realizaciones, la eficacia sinérgica de la combinación permite el uso de dosis reducidas para uno o ambos componentes de la combinación, lo cual reduce potencialmente el coste del tratamiento y el riesgo de posibles efectos secundarios, tales como una respuesta inmunitaria a uno o ambos componentes. Además, una terapia combinada puede interactuar con múltiples vías subyacentes a la fisiopatología de las enfermedades tratadas por la combinación, lo cual proporcionan potencialmente un tratamiento más eficaz a una gama más amplia de poblaciones de pacientes.

Definiciones

50 En esta divulgación, el uso del singular (tal como "un/una" o "el/la") incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. También en esta divulgación, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "que incluye", así como otras formas, tal como "incluye" e "incluido", no son limitantes. Se entenderá que cualquier intervalo descrito en la presente memoria incluye los puntos finales y todos los valores entre los puntos finales.

55 Los títulos de las secciones son sólo para fines de organización y no se deben interpretar como una limitación de la materia descrita.

Como se utiliza en la presente memoria, un "inhibidor del FXII" se refiere a un inhibidor de uno o ambos Factores XII (antes de la activación) y del Factor XII activado (FXIIa), mientras que los términos "Inhibidor del C1", "Inhibidor de la C1 esterasa" y "C1-INH" se refieren a los inhibidores de la serina proteasa que se unen a las proteínas del complejo C1 y las inhiben, lo cual impide la activación de las proteasas circulantes y/o inhibe las proteasas activadas asociadas con el sistema del complemento, el sistema calicreína-quinina y/o el sistema de coagulación. Un C1-INH puede ser plasmático (es decir, derivado del plasma), recombinante o una combinación de ambos. Una C1-INH puede ser idéntica a la proteína humana natural o a una variante funcional de la misma. Los inhibidores del FXII y los C1-INH abarcan variantes funcionales y fragmentos de los inhibidores de tipo salvaje. Una variante o fragmento funcional es una molécula que conserva al menos el 50% (por ejemplo, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 99 o 100%, o cualquier porcentaje intermedio) de la capacidad de la molécula de tipo salvaje para inhibir la actividad del FXII o del C1.

Un "trastorno del sistema de activación por contacto", como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno que involucra, afecta y/o altera fisiológicamente los niveles de actividad de uno o más de los sistemas de coagulación, el sistema del complemento y el sistema de calicreína-cinina, todos los cuales están involucrados o se originan en la vía de activación por contacto. Los trastornos del sistema de activación por contacto incluyen los trastornos trombóticos, los trastornos relacionados con la formación de cininas, los trastornos pulmonares intersticiales, los trastornos del sistema de activación del complemento, los trastornos inflamatorios neurológicos o las lesiones por isquemia-reperfusión (IRI), todos ellos asociados a la actividad patológica de la vía de activación por contacto.

Como se utilizan en la presente memoria, los términos "tratar" y "tratamiento" abarcan la prevención, la inhibición, la eliminación, el retraso de la aparición, la ralentización, la disminución, la reducción de la gravedad o la mejora de al menos un signo, síntoma o aspecto de un trastorno o enfermedad. Tratar no requiere una eliminación completa de los síntomas, en el sentido de que engloba pero no equivale a "curar" o "sanar". En algunas realizaciones, un paciente puede ser tratado para prevenir un trastorno, lo que significa administrar una terapia a un sujeto que se sabe que está en riesgo de desarrollar un trastorno del sistema de activación de contacto (por ejemplo, el sujeto tiene uno o más factores predisponentes para uno o más de los trastornos descritos anteriormente) o, en aquellos trastornos en los que es probable la recurrencia, administrar una terapia después de un evento primario, por ejemplo, inhibir un segundo evento en un paciente que ha experimentado un evento primario. Por ejemplo, el tratamiento de un trastorno trombótico puede incluir la prevención de la formación, el crecimiento o la embolia de un trombo. En algunas realizaciones, "tratar" o "tratamiento" también puede incluir la mejora de los efectos de un trastorno o enfermedad. Los términos "mejorar" y "mejorar los efectos" significan que se mejora algún aspecto del trastorno o la enfermedad que produce un deterioro de una o más funciones del paciente. Por ejemplo, el tratamiento de un accidente cerebrovascular puede incluir la prevención de un accidente cerebrovascular, la mejora de los efectos del accidente cerebrovascular o la reducción de la gravedad del accidente cerebrovascular (medida, por ejemplo, por la extensión del daño tisular o la pérdida de la función neurológica).

Como se utiliza en la presente memoria, un "paciente" es cualquier humano o animal que tiene, ha tenido o es probable que desarrolle un trastorno de la vía de activación de contacto y que se podría beneficiar de la administración de al menos un inhibidor del FXII y al menos un C1-INH. La administración de un inhibidor del FXII y/o un C1-INH se puede llevar a cabo por medio de cualquier procedimiento conocido de administración de un agente farmacéutico o terapéutico a un paciente, que incluye, sin limitación, la administración parenteral (por ejemplo, subdural, subcutánea, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal, intranasal, intratraqueal, inhalatoria y/o inyección intraperitoneal), oral y/o rectal, así como la administración por instilación, aplicación de aerosoles y/o técnicas de infusión. En ciertas realizaciones, la administración se puede hacer por vía intravenosa o subcutánea.

Como se utiliza en la presente memoria, un "anticuerpo" incluye cualquier polipéptido que comprenda un sitio de unión al antígeno funcional, incluidas las inmunoglobulinas y las partes o fragmentos de unión al antígeno. Una parte o fragmento de unión al antígeno funcional es una molécula que conserva al menos el 50% (por ejemplo, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 99 o 100%, o cualquier porcentaje intermedio) de la capacidad del anticuerpo de longitud completa para unirse al antígeno e inhibirlo. El término anticuerpo incluye, pero no se limita, a los anticuerpos policlonales, monoclonales, monoespecíficos, poliespecíficos, inespecíficos, humanizados, totalmente humanos, camelados, de cadena única, quiméricos, sintéticos, recombinantes, híbridos, mutados, retro-mutados y con injerto CDR. El término también incluye fragmentos de anticuerpos tales como Fab, F(ab)₂, Fv, scFv, Fd, dAb, VHH (también denominados nanocuerpos) y otros fragmentos o variantes de anticuerpos que conservan la función de unión al antígeno, incluidos los anticuerpos biespecíficos o multiespecíficos. Un anticuerpo puede ser de cualquier isotipo, que incluye IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Como se utiliza en la presente memoria, un "antígeno" es una molécula diana capaz de unirse a un anticuerpo. Como se utiliza en la presente memoria, el término "sitio de unión al antígeno" se refiere a la parte de una molécula de anticuerpo capaz de unirse o complementarse con una parte o la totalidad de un antígeno.

Como se utiliza en la presente memoria, un efecto "sinérgico" se refiere a un efecto terapéutico observado después de administrar al menos un C1-INH y al menos un inhibidor del FXII que es mayor que la suma de los efectos terapéuticos observados al administrar un C1-INH como una monoterapia y un inhibidor del FXII como monoterapia. Por ejemplo, un efecto sinérgico podría incluir un mayor aumento del flujo sanguíneo y/o una reducción de la incidencia de la trombosis tras administrar al menos un inhibidor de la C1-INH y al menos un inhibidor del FXII a un

paciente con riesgo de sufrir un evento trombótico o que lo observado con la suma de las monoterapias. Asimismo, otro ejemplo de un efecto sinérgico en un paciente que está siendo tratado por un trastorno del sistema de activación de contacto podría incluir una mayor reducción de la cantidad de daño tisular o del nivel de pérdida funcional (por ejemplo, la pérdida de la función neurológica) más allá de lo que se espera de la adición de los efectos de una monoterapia de C1-INH y un inhibidor de FXII.

I. Trastornos del sistema de activación por contacto

En algunas realizaciones, se desvelan al menos un inhibidor de FXII y al menos un C1-INH que se pueden utilizar en procedimientos de tratamiento de un trastorno del sistema de activación por contacto. Los procedimientos pueden comprender la administración a un sujeto que lo necesite de al menos un inhibidor del FXII y de al menos un C1-INH. En consecuencia, la invención también proporciona una o más composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un inhibidor de FXII y/o al menos un C1-INH en excipientes o portadores aceptables para uso farmacéutico para su uso en el tratamiento de trastornos del sistema de activación por contacto. Del mismo modo, la invención también proporciona el uso de una o más composiciones que comprenden al menos un inhibidor de FXII y/o al menos un C1-INH en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno del sistema de activación por contacto. El al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se pueden utilizar solos o también se pueden administrar compuestos terapéuticos adicionales.

Un "trastorno trombótico" tratado con los procedimientos y composiciones desvelados en la presente memoria es cualquier trastorno/enfermedad caracterizado por la formación de un trombo (coágulo de sangre) que obstruye o disminuye el flujo sanguíneo. El trombo puede permanecer localmente en el lugar donde se formó, o se puede desprender para ocluir el flujo sanguíneo corriente abajo (tromboembolismo). En algunas realizaciones, una trombosis se puede producir en una vena (trombosis venosa) o en una arteria (trombosis arterial) en cualquier parte del cuerpo, incluidos el corazón y el cerebro. Cuando la trombosis se produce en la circulación coronaria, se denomina trombosis coronaria. Cuando la trombosis se produce en la circulación cerebral, se denomina trombosis cerebral.

Un trastorno trombótico puede incluir un trombo venoso, arterial o capilar, formación de trombos en el corazón, tromboembolismo crónico y/o agudo (por ejemplo, embolia pulmonar, tromboembolismo cerebral tras la formación de trombos inducidos por la fibrilación auricular (por ejemplo, prevención del accidente cerebrovascular en la fibrilación auricular (SPAF)), formación de trombos como resultado del contacto de la sangre de un sujeto humano o animal con una superficie artificial (por ejemplo, en pacientes con sustituciones valvulares, stents, intervención coronaria percutánea (ICP), oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) o sometidos a cirugía de bypass cardiopulmonar (CEC)). El trombo puede provocar un accidente cerebrovascular, un infarto de miocardio, una trombosis venosa profunda (TVP), una trombosis de la vena porta, un tromboembolismo, una trombosis de la vena renal, una trombosis de la vena yugular, una trombosis del seno venoso cerebral, el síndrome de Budd-Chiari, la enfermedad de Paget-Schroetter o una isquemia cerebral silenciosa (SBI).

Un trastorno relacionado con la formación de kinina tratado con los procedimientos y composiciones desvelados en la presente memoria puede incluir angioedema hereditario (AEH), edema cerebral secundario, edema del sistema nervioso central, shock hipotensivo, coagulación intravascular diseminada (CID) o sepsis.

Una vez que se forma un trombo, el flujo sanguíneo en el vaso se puede reducir o bloquear, lo cual provoca isquemia del tejido circundante o del órgano respectivo. Si no se restablece el flujo sanguíneo, el tejido asociado al vaso sanguíneo puede resultar dañado o destruido (lo que se denomina como un "infarto"). Dependiendo de la localización del trombo, el trastorno trombótico se conoce con varios nombres. En consecuencia, en varias realizaciones, se desvelan procedimientos para tratar la formación de un trombo o una afección provocada por un trombo en un sitio particular, así como composiciones que comprenden al menos un inhibidor de FXII y al menos un C1-INH y su uso en esos procedimientos.

Un accidente cerebrovascular es un ejemplo de una afección que puede ser provocada por un trombo o la formación/deposición de un trombo/tromboembolismo en un sitio particular y que puede, en algunas realizaciones, ser tratada mediante el uso de las composiciones y combinaciones desveladas en la presente memoria.

El accidente cerebrovascular (también denominado accidente cerebrovascular (ACV) o infarto cerebral) implica una disminución de la función cerebral debido a la falta de flujo sanguíneo, independientemente de la causa. Cuando el accidente cerebrovascular está provocado por la falta de flujo sanguíneo a una parte del cerebro (por ejemplo, debido a un trombo que bloquea el flujo sanguíneo), se denomina accidente cerebrovascular isquémico. Hay tres razones principales para el accidente cerebrovascular isquémico: la trombosis (obstrucción de un vaso sanguíneo por un coágulo de sangre que se forma localmente), la embolia (obstrucción de un vaso sanguíneo por un coágulo de sangre que se forma en otra parte del cuerpo) y la hipoperfusión sistémica (disminución general del suministro de sangre, por ejemplo, en el shock). La trombosis y/o la embolia se pueden producir en arterias, venas, arteriolas, vénulas y/o capilares. El término "accidente cerebrovascular isquémico" incluye el accidente cerebrovascular provocado por un trombo formado localmente (es decir, "accidente cerebrovascular trombótico") en cualquier zona del cerebro, ya sea un vaso grande (por ejemplo, la arteria carótida interna, el vaso vertebral, el círculo de Willis), un vaso pequeño, un capilar o un seno (por ejemplo, trombosis del seno venoso cerebral), así como el accidente

cerebrovascular provocado cuando un coágulo de sangre que se ha formado en otro lugar dentro o fuera del cerebro emboliza y luego se aloja en un vaso sanguíneo del cerebro ("accidente cerebrovascular embólico"). El accidente cerebrovascular isquémico también incluye el ataque isquémico transitorio (también conocido como "mini-accidente cerebrovascular"). En el ataque isquémico transitorio, la disfunción neurológica es transitoria debido a un evento isquémico, pero, a diferencia de otros tipos de accidente cerebrovascular, no incluye daño tisular (infarto) y los síntomas son reversibles. En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona procedimientos y composiciones para tratar el accidente cerebrovascular isquémico.

Un accidente cerebrovascular también puede ser provocado por procesos hemorrágicos, es decir, un accidente cerebrovascular hemorrágico. La hemorragia (por ejemplo, una hemorragia intracraneal) suele deberse a la rotura de un vaso sanguíneo o de una estructura vascular anormal en cualquier lugar de la bóveda craneal, ambos escenarios, en última instancia, conducen a un daño del tejido cerebral. Algunas hemorragias se pueden desarrollar dentro de las zonas de isquemia ("transformación hemorrágica"). Un accidente cerebrovascular hemorrágico puede ser una hemorragia intra-axial (sangre dentro del cerebro) o una hemorragia extra-axial (sangre dentro del cráneo pero fuera del cerebro). En algunas realizaciones, los procedimientos y composiciones desvelados en la presente memoria se pueden utilizar para tratar el accidente cerebrovascular hemorrágico.

Tras un accidente cerebrovascular, la reperfusión puede dar lugar a la activación de cascadas inflamatorias y/o de otro tipo que pueden agravar aún más el alcance del daño tisular. La reperfusión y la inflamación pueden activar varias cascadas, incluidas las de las vías de la coagulación, la calicreína-quinina y el complemento. En consecuencia, en algunas realizaciones, los procedimientos y composiciones desvelados en la presente memoria se pueden utilizar para tratar estos aspectos secundarios del accidente cerebrovascular (por ejemplo, los aspectos secundarios del accidente cerebrovascular isquémico o hemorrágico).

El infarto de miocardio es otra afección que puede ser provocada por un trombo. Un infarto de miocardio se refiere generalmente a la muerte del tejido cardíaco. Un infarto de miocardio puede ser provocado, por ejemplo, por un trombo en la circulación coronaria, a menudo en la arteria coronaria. En consecuencia, en una realización la invención proporciona procedimientos y composiciones para su uso en el tratamiento del infarto de miocardio provocado por un trombo.

Otras afecciones trombóticas de diversos tejidos/sitios incluyen la trombosis venosa profunda (TVP), la trombosis de la vena porta, la trombosis de la vena renal, la trombosis de la vena yugular, el síndrome de Budd-Chiari (obstrucción de la vena hepática o de la vena cava inferior), la enfermedad de Paget-Schroetter (obstrucción de una vena de las extremidades superiores), la trombosis de la arteria hepática (una complicación del trasplante de hígado) y otros episodios trombóticos vasculares en pacientes con riesgo de sufrirlos (por ejemplo, después de una cirugía ortopédica, pacientes con cáncer, pacientes quirúrgicos, pacientes inmovilizados). En consecuencia, en estas realizaciones se desvelan procedimientos y composiciones para su uso en el tratamiento de una condición trombótica de uno o más de estos tejidos/sitios.

Si un trombo se desprende (es decir, emboliza), puede bloquear el flujo sanguíneo en cualquiera de los sitios de tejido/organismo mencionados anteriormente. Un lugar habitual de la tromboembolia son los pulmones (denominada "embolia pulmonar"). Los émbolos arteriales también ocluyen los vasos de las extremidades. De este modo, en algunas realizaciones, se desvelan procedimientos y composiciones para su uso en el tratamiento de un tromboembolismo, tales como una embolia pulmonar o arterial.

También se pueden formar múltiples trombos pequeños a lo largo de los vasos sanguíneos en condiciones de consumo excesivo de factores de coagulación. Esta afección, conocida como coagulación intravascular diseminada (CID), provoca hemorragias y necrosis isquémica de múltiples tejidos. De este modo, en algunas realizaciones, se desvelan procedimientos y composiciones para su uso en el tratamiento de una coagulación intravascular diseminada y composiciones para su uso en el tratamiento de una coagulación intravascular diseminada.

Cualquiera de una serie de condiciones puede provocar o contribuir a la formación de un trombo. Por ejemplo, la trombosis puede estar provocada por una anomalía en la composición de la sangre (por ejemplo, hipercoagulabilidad o trombofilia), la calidad de la pared del vaso (lesión de las células endoteliales o aterosclerosis), y/o la naturaleza del flujo sanguíneo (estasis, turbulencia).

Algunos ejemplos de factores que predisponen a la formación de trombos son la aterosclerosis, la presencia de prótesis cardiovasculares (por ejemplo, stents o prótesis valvulares), la presencia de valvulopatías cardíacas, procedimientos médicos en los que la sangre entra en contacto transitoriamente con superficies extrañas (por ejemplo, CEC, ECMO, BVAD, intervención coronaria percutánea), fibrilación auricular (que puede provocar un estancamiento del flujo sanguíneo en la aurícula izquierda o en el apéndice auricular izquierdo), cáncer, anticuerpos antifosfolípidos, trombocitopenia inducida por heparina, infección, uso de anticonceptivos orales, inmovilización prolongada (por ejemplo debido a cirugía, obesidad, insuficiencia cardíaca, parálisis, vuelos de larga distancia o embarazo), lesión tisular (por ejemplo, debido a un traumatismo o a una intervención quirúrgica), y/o defectos genéticos (por ejemplo, mutación del factor V Leiden, mutación del gen 20210 de la protrombina, deficiencias de la proteína C, la proteína S, la proteína Z o la antitrombina). La trombosis puede seguir a la inserción de catéteres en procedimientos tales como la intervención coronaria percutánea. Otros factores predisponentes son los

antecedentes familiares de trombosis, uno o más episodios previos de trombosis, una trombosis antes de los 50 años o una trombosis en un lugar atípico.

5 Existen ensayos clínicos para detectar defectos, tales como la resistencia del Factor V a la proteína C activada (APC) y las diversas deficiencias proteicas. La presencia de un trombo se puede confirmar, por ejemplo, por medio de una angiografía, una ecografía, una resonancia magnética o un TAC. En algunos ensayos, se detecta un trombo, mientras que en otros ensayos un área de infarto indica si hay o hubo un trombo.

10 Otras condiciones adecuadas para el tratamiento por medio de los procedimientos y composiciones desvelados en la presente memoria incluyen la administración destinada a prevenir la formación y/o reducir el tamaño de un edema secundario del sistema nervioso central. El edema secundario puede comprender un aumento del volumen del cerebro o de la médula espinal resultante de la acumulación localizada o anormal de líquido, por ejemplo, la acumulación dentro del parénquima cerebral. El edema secundario es una causa común del crecimiento del infarto secundario y del daño neurológico subsiguiente. Por ejemplo, los procedimientos y las composiciones desvelados en la presente memoria se pueden utilizar para tratar a un paciente que corre el riesgo de desarrollar o ha desarrollado un edema secundario del sistema nervioso central debido a una lesión cerebral o de la médula espinal, o debido a enfermedades tales como el accidente cerebrovascular.

15 En algunas realizaciones, un tratamiento previene la formación o limita/inhíbe el crecimiento del tamaño de un trombo. En una realización, un tratamiento limita el tamaño final (por ejemplo, el volumen) de un infarto. En una realización, un tratamiento previene o limita la extensión de la lesión por reperfusión tras un infarto. En algunas realizaciones, un tratamiento se administra en combinación con uno o más agentes adicionales que lisan o eliminan de otro modo los trombos (por ejemplo, tPA, Plasmina) mientras que la terapia combinada desvelada en la presente memoria impide la reformación o el crecimiento de los trombos.

20 En una realización, el tratamiento resulta en una función mejorada y/o restaurada en un tejido al que el flujo sanguíneo ha sido disminuido o bloqueado por el trombo. En una realización, el tratamiento da lugar a una mejora del flujo sanguíneo en el lugar del trombo, medido, por ejemplo, por medio de ultrasonidos doppler, flujometría doppler láser, resonancia magnética (por ejemplo, por medio de la medición de la cinética de entrada y salida de los trazadores), pletismografía de bandas extensométricas, pletismografía de impedancia, pletismografía fotoeléctrica, sondas de convección térmica y/u otras técnicas adecuadas para medir el flujo sanguíneo. En una realización, el tratamiento reduce o previene el daño neurológico después de un accidente cerebrovascular, medido con medidas clínicas neurológicas o psicológicas estándar.

25 El al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se pueden administrar juntos o por separado. En una realización, el C1-INH y el inhibidor del FXII se administran juntos en una única administración intravenosa. En otra realización, el inhibidor del FXII se administra primero, seguido por la administración del C1-INH. En ciertas realizaciones, el C1-INH se administra directamente después, o aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, o más minutos después de la administración del inhibidor del FXII (o en cualquier momento intermedio).
30 En otras realizaciones, el C1-INH se administra primero, seguido por la administración del inhibidor del FXII. En ciertas realizaciones, el inhibidor del FXII se administra directamente después, o aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, o más minutos después de la administración del C1 INH (o en cualquier momento intermedio).
35

40 El tratamiento con al menos un inhibidor de C1-INH y al menos un inhibidor de FXII se puede llevar a cabo de forma profiláctica para prevenir un trastorno del sistema de activación de contacto, por ejemplo, para prevenir un evento trombótico. El tratamiento también se puede administrar inmediatamente o en algún momento después de un episodio de un trastorno del sistema de activación por contacto. Por ejemplo, el tratamiento se puede administrar directamente después del inicio de la reperfusión tras un trastorno trombótico o de IRI (por ejemplo, para prevenir la isquemia secundaria o el daño por inflamación), o hasta unas 48 horas, o hasta unas 240 horas, después de un episodio (es decir, una lesión) de un trastorno del sistema de activación de contacto, tales como la formación de un trombo. La formación de trombos y otros episodios de trastornos se pueden detectar, por ejemplo, por los signos/síntomas clínicos y/o por los resultados de las imágenes de diagnóstico o los ensayos *in vitro*.
45

50 En ciertas realizaciones, el tratamiento se inicia inmediatamente después, o menos de unas 6 horas después, de un episodio agudo de un trastorno del sistema de activación de contacto (por ejemplo, menos de unas 6 horas después de la formación de un trombo, un accidente cerebrovascular o una reperfusión en un trastorno de IRI). En algunas realizaciones, el tratamiento se inicia hasta unas 48, o hasta unas 240 horas después. En algunas realizaciones, el tratamiento se administra inmediatamente después de, o aproximadamente 5, 10, 20, 30, 40 o 50 minutos, o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 36, 48, 72, 96, 120 o 240 horas después de la formación de un trombo u otro episodio agudo de un trastorno del sistema de activación por contacto (o en cualquier momento intermedio). El tratamiento incluso después de 6 horas, e incluso después de unas 48 o 240 horas, puede tener beneficios. En algunas realizaciones, el tratamiento se administra tan pronto como sea posible después de la aparición de la lesión inicial, y preferentemente menos de 1 hora, menos de 6 horas, o menos de 48 horas después de la lesión. En algunas realizaciones, el tratamiento se lleva a cabo como máximo 240 horas después de la lesión inicial, o como máximo 48 horas después de la lesión, o como máximo 6 horas después de la lesión, o como máximo 1 hora después de la lesión.
55
60

En algunas realizaciones, la administración de al menos un C1-INH y de al menos un inhibidor del FXII se puede llevar a cabo inmediatamente o hasta unos 10 días después del inicio de la reperfusión tras una lesión inicial (por ejemplo, tras una oclusión trombótica). En algunas realizaciones, el tratamiento se administra tan pronto como sea posible después del inicio de la reperfusión, y preferentemente menos de 1 hora, menos de 6 horas o menos de 48 horas después del inicio de la reperfusión. En algunas realizaciones, el tratamiento se administra inmediatamente después, o alrededor de 5, 10, 20, 30, 40 o 50 minutos, o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 36, 48, 72, 96, 120 o 240 horas después del inicio de la reperfusión (o en cualquier momento intermedio). En algunas realizaciones, el tratamiento se lleva a cabo como máximo 240 horas después del inicio de la reperfusión, o como máximo 48 horas después del inicio de la reperfusión, o como máximo 6 horas después del inicio de la reperfusión, o como máximo 1 hora después del inicio de la reperfusión.

En algunas realizaciones, la administración de al menos un C1-INH y de al menos un inhibidor del FXII se puede llevar a cabo de forma profiláctica para prevenir una lesión inicial en un paciente con riesgo de sufrir un trastorno del sistema de activación por contacto (por ejemplo, para prevenir la formación de trombos en un paciente con riesgo de formación de trombos). El tratamiento profiláctico se puede llevar a cabo en una dosis única o en dosis repetidas, tales como una dosis cada 10 minutos, cada 30 minutos, cada hora, cada 6 horas, cada 12 horas, cada 24 horas, cada 36 horas, cada 48 horas, cada 72 horas, cada 96 horas, cada 120 horas, cada 240 horas, cada semana, cada dos semanas, cada mes o bimensualmente, o cualquier periodo de tiempo intermedio. Las dosis periódicas se pueden administrar durante un tiempo determinado, por ejemplo, a lo largo de un tratamiento. Por ejemplo, los pacientes que se someten a determinados procedimientos médicos pueden tener un mayor riesgo de formación de trombos. Los ejemplos de procedimientos con riesgo de eventos trombóticos son los procedimientos que implican circulación sanguínea extracorpórea, los procedimientos diagnósticos invasivos o los procedimientos quirúrgicos, incluido el trasplante.

En algunas realizaciones, el tratamiento se administra durante ciertos procedimientos para reducir el riesgo de formación de trombos que podrían dar lugar a daños en los tejidos u órganos, o se administra para tratar los eventos trombóticos que se producen durante estos procedimientos, por ejemplo, durante los procedimientos quirúrgicos y otros procedimientos de diagnóstico invasivos, o durante la circulación extracorpórea. En algunas realizaciones, el tratamiento se administra después de ciertos procedimientos para reducir el riesgo de formación de trombos, o para tratar eventos trombóticos que ocurren después de estos procedimientos, por ejemplo, después de la cirugía, después del inicio de un procedimiento de reperfusión, después de la trombólisis, o después de la circulación sanguínea extracorpórea. La administración después de un procedimiento se puede hacer en una sola dosis o en dosis múltiples, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o más dosis. Las dosis repetidas se pueden administrar cada media hora, cada hora, cada 6 horas, cada 12 horas, cada 24 horas, cada 36 horas, cada 48 horas, cada 72 horas, cada 96 horas, cada 120 horas o cada 240 horas, cada semana, cada dos semanas, cada mes o cada dos meses (o cualquier periodo de tiempo intermedio) hasta la finalización del protocolo de administración.

En algunas realizaciones, la administración de al menos un C1-INH y al menos un inhibidor del FXII se puede llevar a cabo repetidamente para tratar a un paciente con riesgo de sufrir un trastorno del sistema de activación de contacto (por ejemplo, para tratar un trastorno crónico). Dicho tratamiento se puede llevar a cabo en dosis múltiples, por ejemplo en dos, tres, cuatro, cinco o más dosis de forma repetida, tales como una dosis cada 12 horas, cada 24 horas, cada 48 horas, cada 72 horas, cada 96 horas, cada 120 horas, cada 240 horas, cada semana, cada dos semanas, cada mes, bimensualmente o cualquier periodo de tiempo intermedio. La administración de al menos un C1-INH y de al menos un inhibidor del FXII (por ejemplo, a un paciente que necesita tratamiento) se puede producir en una dosis única o en administraciones repetidas, y en cualquiera de una variedad de formas salinas fisiológicamente aceptables, y/o con un portador farmacéutico y/o aditivo aceptable como parte de una composición farmacéutica. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, el al menos un C1-INH y el al menos un inhibidor del FXII se administran (i) una vez, cada uno como una inyección o infusión separada, o en una única inyección o infusión combinada, (ii) en dosis múltiples de cada componente o en dosis múltiples de un producto combinado, por ejemplo en dos, tres, cuatro, cinco o más dosis, cada una como una inyección o infusión, o (iii) como una infusión o aplicación. La infusión/aplicación se puede administrar durante un periodo de tiempo, preferentemente durante un periodo de 30 minutos a 2 semanas, o de 30 minutos a 1 semana, o de 30 minutos a 6 días, o de 30 minutos a 5 días, o de 30 minutos a 3 días, o de 30 minutos a 2 días, o de 30 minutos a 1 día, o de 30 minutos a 12 horas, o de 30 minutos a 6 horas (o cualquier periodo de tiempo intermedio). En una realización en la que el trastorno implica un trombo y/o una lesión de IRI, la administración se puede producir en una dosis doble, una vez después de la lesión inicial pero antes del comienzo de la reperfusión, y una vez después del comienzo de la reperfusión tras la lesión inicial. En algunas realizaciones, la administración puede prevenir la formación y/o reducir el tamaño de un edema secundario del sistema nervioso central, por ejemplo, en un paciente que tiene o ha tenido una lesión o enfermedad cerebral o de la médula espinal.

La composición que comprende al menos un C1-INH y la composición que comprende al menos un inhibidor del FXII se pueden administrar a un paciente en cantidades terapéuticamente eficaces. Generalmente, una cantidad terapéuticamente efectiva puede variar con la edad, el estado general y el sexo del sujeto, así como con la gravedad de la condición médica en el sujeto. La dosis puede ser determinada por un médico y ajustada, de acuerdo con lo necesario, para adaptarse a los efectos observados del tratamiento.

Una dosis terapéuticamente eficaz del al menos un C1-INH puede depender de muchos factores tales como, por

- ejemplo, el tipo de inhibidor utilizado, la indicación, la formulación o el modo de administración, y se puede determinar en ensayos preclínicos y clínicos para cada indicación respectiva. Por ejemplo, la dosis puede oscilar entre aproximadamente 0,01 UI/kg y 5000 UI/kg de peso corporal, o entre aproximadamente 0,01-1000 UI/kg, o entre aproximadamente 5 y 500 UI/kg, o entre aproximadamente 10 y 200 UI/kg, o entre aproximadamente 20 y 100 UI/kg. En varias realizaciones, la dosis de C1-INH es de aproximadamente 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 450, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, o 5000 UI/kg de peso corporal (o cualquier valor intermedio). También se puede utilizar un depósito que libere continuamente el C1-INH a un ritmo adecuado. Los intervalos terapéuticos ejemplares para la administración de C1-INH también se desvelan en la Patente de los Estados Unidos 5.939.389.
- Una dosis terapéuticamente eficaz del al menos un inhibidor del FXII puede depender de muchos factores tales como, por ejemplo, la indicación, la formulación o el modo de administración, y se puede determinar en ensayos preclínicos y clínicos para cada indicación respectiva. Por ejemplo, en una realización, la dosis del inhibidor del FXII es de aproximadamente 0,01, 0,1, 1, 50, 100, 200, 500 o 1000 mg/kg de peso corporal, o cualquier dosis intermedia, o que oscile entre aproximadamente 0,01 y 1000 mg/kg, entre aproximadamente 0,1 y 1000, entre aproximadamente 1 y 1000 mg/kg, entre aproximadamente 1 y 500 mg/kg, entre aproximadamente 10 y 200 mg/kg, entre aproximadamente 10 y 100 mg/kg, entre aproximadamente 50 y 500 mg/kg, entre aproximadamente 50 y 200 mg/kg o entre aproximadamente 100 y 200 mg/kg, o cualquier intervalo de dosis intermedio. En ciertas realizaciones, el inhibidor del FXII es el rHA-infestina-4. En algunas realizaciones, cuando se utiliza rHA-infestina-4, la dosis puede oscilar entre aproximadamente 0,01 y 1000 mg/kg de peso corporal, o entre aproximadamente 1 y 1000 mg/kg, o entre aproximadamente 1 y 500 mg/kg, o entre aproximadamente 50 y 500 mg/kg.
- En algunas realizaciones, el inhibidor del FXII puede ser un anticuerpo anti-FXII. En aquellas realizaciones que implican una dosis terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-FXII, una dosis terapéuticamente eficaz es una dosis que produce un efecto terapéutico positivo en el paciente o sujeto que requiere el tratamiento. Una dosis terapéutica eficaz puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg de peso corporal, o de aproximadamente 0,01 a 100 mg/kg, de aproximadamente 0,01 a 50 mg/kg, de aproximadamente 0,1 a 30 mg/kg, de aproximadamente 0,1 a 10 mg/kg, de aproximadamente 0,1 a 5 mg/kg, de aproximadamente 0,1 a 2 mg/kg o de aproximadamente 0,1 a 1 mg/kg, o cualquier intervalo de dosis intermedio. Por ejemplo, una dosis terapéuticamente eficaz puede ser una dosis que inhiba la actividad del FXIIa en el sujeto en al menos un 50%, o al menos un 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% o 100% (o cualquier porcentaje intermedio).
- Las composiciones farmacéuticas administradas pueden comprender al menos un C1-INH y/o al menos un inhibidor del FXII como único/s compuesto/s activo/s, o se pueden administrar en combinación con uno o más compuestos, composiciones o materiales biológicos adicionales. Algunos ejemplos de compuestos adicionales son las vitaminas, los antibióticos y los compuestos destinados a eliminar o inhibir la formación de coágulos en el cerebro (por ejemplo, heparina, ácido acetilsalicílico, clopidogrel o dipiridamol).
- En ciertas realizaciones, el tratamiento de un trastorno del sistema de activación de contacto mediante el uso de al menos un C1-INH y al menos un inhibidor del FXII puede potenciar el efecto terapéutico del C1-INH o del inhibidor del Factor XII cuando se administra como monoterapia. En algunas realizaciones, el tratamiento de un trastorno del sistema de activación de contacto mediante el uso de al menos un C1-INH y al menos un inhibidor del FXII puede producir un efecto aditivo, por ejemplo, un efecto equivalente al observado con la suma de las dos monoterapias. En algunas realizaciones, la combinación actúa de forma sinérgica para potenciar el efecto observado de la suma de las dos monoterapias. En algunas realizaciones, el uso de un C1-INH y un inhibidor del FXII permite reducir las dosis de concentración o un programa de administración menos frecuente de uno o ambos componentes, al tiempo que se consigue un efecto terapéutico comparable o mayor al observado con una dosis de concentración más alta o una administración más frecuente de cualquiera de los componentes cuando se administra como monoterapia.
- Por ejemplo, cuando se utiliza al menos un inhibidor de C1-INH y al menos un inhibidor de FXII, por ejemplo, para reducir la incidencia de eventos trombóticos en uno o más vasos, el porcentaje del diámetro de la sección transversal de un vaso que está ocluido, o el número de vasos que están parcial o completamente ocluidos, se puede medir antes y después del tratamiento. La medición de la oclusión se puede llevar a cabo por medio de cualquier procedimiento estándar conocido en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de ultrasonidos doppler, flujometría doppler láser, resonancia magnética (cinética de entrada y salida de los trazadores), pletismografía de bandas extensométricas, pletismografía de impedancia, pletismografía fotoeléctrica, sondas de convección térmica u otras técnicas adecuadas para medir el flujo sanguíneo, o mediante el uso de medidas clínicas neurológicas o psicológicas estándar. La reducción (por ejemplo, medida como el porcentaje de un vaso que está ocluido o el porcentaje de vasos muestreados que están parcial o completamente ocluidos) mediante el uso de la terapia combinada se puede comparar con la reducción porcentual de la oclusión en un paciente comparable o en el mismo paciente mediante el uso de sólo un inhibidor de C1-INH o un inhibidor de FXII. En algunas realizaciones, la reducción de la oclusión por medio de la terapia combinada es aditiva, (por ejemplo, una reducción aproximadamente equivalente a la observada con la suma de los tratamientos individuales).
- En algunas realizaciones, la reducción de la oclusión observada cuando se utiliza al menos un tratamiento con C1-INH y al menos un inhibidor del FXII es sinérgica (por ejemplo, mayor que la reducción observada por la suma de los efectos de la monoterapia). En ciertas realizaciones, la combinación puede aumentar la reducción observada con la

5 terapia de C1-INH sola en al menos un 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 150%, 175%, 200%, 225%, 250%, 275% o 300% (o cualquier porcentaje intermedio) o incluso puede conducir a una reducción completa, es decir, no se observa ninguna oclusión. La concentración de la dosis de C1-INH en la terapia combinada puede influir en el porcentaje de reducción que se observa. En algunas realizaciones, la terapia combinada puede aumentar la reducción observada con la terapia de inhibidores del FXII por sí sola en al menos un 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115%, 120%, 125%, 150%, 175%, 200%, 225%, 250%, 275% o 300% (o cualquier porcentaje intermedio) o incluso puede conducir a una reducción completa, es decir, no se observa ninguna oclusión. La concentración de la dosis del inhibidor del FXII en la terapia combinada puede influir en el porcentaje de reducción que se observa.

10 En ciertas realizaciones, el al menos un inhibidor del FXII y/o el al menos un C1 INH se administran a una concentración que produce una reducción de al menos un síntoma del trastorno del sistema de activación de contacto aproximadamente equivalente a un efecto aditivo de cada uno de los inhibidores del FXII y el C1 INH cuando se administran por separado.

15 Alternativamente, en ciertas realizaciones, el al menos un inhibidor del FXII y/o el al menos un C1 INH se administran a una concentración que produce una reducción de al menos un síntoma del trastorno del sistema de activación por contacto mayor que el efecto aditivo de cada uno de los inhibidores del FXII y el C1 INH cuando se administran por separado.

20 En ciertas realizaciones, la administración de al menos un C1-INH y de al menos un inhibidor del FXII produce una duplicación o triplicación de la reducción del porcentaje de oclusión del vaso observada cuando se administra un C1-INH por sí solo tras la formación de un trombo. En algunas realizaciones, la administración de al menos un C1-INH y de al menos un inhibidor del FXII produce una duplicación o triplicación de la reducción del porcentaje de oclusión de vasos observada cuando se administra un inhibidor del FXII por sí solo tras la formación de un trombo.

25 En algunas realizaciones, los efectos del tratamiento con al menos un inhibidor de C1-INH y al menos un inhibidor de FXII en un trastorno de la vía de activación de contacto se pueden monitorizar por medio de la medición de la extensión del daño tisular y/o el edema secundario (por ejemplo, después de un infarto, accidente cerebrovascular o IRI). Los procedimientos para medir la extensión del daño tisular (por ejemplo, el daño tisular cerebral tras un accidente cerebrovascular o el daño tisular cardíaco tras un infarto) pueden incluir, por ejemplo, la tomografía computarizada, la resonancia magnética, la ecografía y/o la arteriografía. En algunas realizaciones, el daño tisular es el tejido cerebral, y la extensión del daño tisular se puede medir mediante el uso de la evaluación neurológica clínica de la función cerebral. En algunas realizaciones, la extensión del daño tisular y/o el edema secundario tras el tratamiento con al menos un C1-INH y al menos un inhibidor del FXII se reduce en una cantidad aproximadamente equivalente a la observada con la suma de las monoterapias individuales, en comparación con el daño tisular y/o el edema en ausencia de cualquier tratamiento. En algunas realizaciones, la extensión del daño tisular y/o del edema secundario se reduce en una cantidad mayor que la observada con la suma de las monoterapias individuales.

35 En ciertas realizaciones, el al menos un C1-INH y el al menos un inhibidor del FXII se administran a dosis reducidas, en comparación con la concentración óptima utilizada para la monoterapia. En estas realizaciones, los efectos aditivos o sinérgicos de la terapia combinada permiten el uso de concentraciones reducidas manteniendo el efecto terapéutico, reduciendo así el coste y/o el riesgo de reacción adversa a los agentes terapéuticos (por ejemplo, una respuesta inmunológica).

40 En ciertas realizaciones de los procedimientos desvelados, los pacientes se deben ser tratar de acuerdo con los estándares de atención establecidos para su presentación clínica. En varias realizaciones en las que el paciente es un paciente que ha sufrido un accidente cerebrovascular, el paciente debe ser examinado por resonancia magnética, si es posible, u otros procedimientos para determinar si la lesión cerebral es isquémica o hemorrágica.

45 II. Inhibidores del factor XII

Como se ha comentado anteriormente, los términos "Factor XII" y "FXII" se refieren cada uno a uno o a ambos del Factor XII (por ejemplo, el zimógeno o la forma precursora del péptido) y del Factor XII activado (FXIIa). Por lo tanto, los "inhibidores del FXII" pueden incluir inhibidores de uno o ambos FXII y FXIIa (también denominados α FXIIa), incluidos los productos de escisión del FXIIa alfa y FXIIa beta (también denominados FXII β). Además, los anticuerpos anti-FXII incluyen anticuerpos que se unen e inhiben uno o ambos FXII y FXIIa. El término "inhibidor del FXII" también incluye un inhibidor del FXII que está vinculado a un polipéptido que prolonga la vida media, que en algunas realizaciones incluye un enlazador. Entre los ejemplos de inhibidores del FXII que se pueden utilizar se encuentran el rHA-infestina-4, los anticuerpos anti-FXII, incluidas las versiones/fragmentos modificados de estas proteínas que conservan la capacidad de inhibir la actividad del FXII. En una realización, el C1-INH es BERINERT®. En una realización, el inhibidor del FXII es infestina-4 o un infestina-4 modificado y el C1-INH es BERINERT®. En una realización, el inhibidor del FXII es un anticuerpo anti-FXII y el C1-INH es BERINERT®.

En algunas realizaciones, el inhibidor del FXII es un inhibidor directo del FXII. El término inhibidor "directo" se refiere a un inhibidor que actúa por contacto (por ejemplo, unión) con el FXII (o FXIIa), es decir, el inhibidor del FXII se une

al FXII y/o al FXIIa e inhibe su actividad y/o activación. En cambio, un inhibidor indirecto puede actuar sin entrar en contacto con la proteína FXII (o FXIIa). Por ejemplo, se puede utilizar un ARN antisentido para disminuir la expresión del gen FXII, o una pequeña molécula puede inhibir los efectos del FXIIa a través de interacciones con los socios de reacción del FXIIa, como el Factor XI; éstos no interactúan directamente con la proteína FXII. Por lo tanto, un inhibidor indirecto, en contraste con un inhibidor directo, actúa antes o después de la proteína FXII. A continuación se presentan algunos ejemplos de inhibidores directos. En algunas realizaciones, los inhibidores del FXII son inhibidores no endógenos; es decir, no son inhibidores que se producen naturalmente en el cuerpo humano o animal.

El C1-INH es también un débil inhibidor del FXII. Sin embargo, el inhibidor del FXII utilizado en la terapia combinada es un inhibidor distinto del C1-INH.

En una realización, el inhibidor del FXII es un inhibidor específico del FXII, preferentemente un inhibidor específico del FXIIa.

Un inhibidor específico del FXII se refiere a un inhibidor que inhibe las serinoproteasas plasmáticas u otras proteínas endógenas distintas del FXII y/o el FXIIa en una proporción menor o igual al 25% si se utiliza en una relación molar de 1:1. En otras palabras: un inhibidor específico de FXII/FXIIa inhibe las serinoproteasas plasmáticas distintas de FXII y/o FXIIa en menos o igual al 25% cuando dicho inhibidor se utiliza en una proporción molar de 1:1 de la respectiva serinoproteasa plasmática a dicho inhibidor. Preferentemente, el inhibidor del FXII inhibe las serinoproteasas plasmáticas distintas del FXII y/o del FXIIa en una proporción menor o igual al 20%, preferentemente en una proporción menor o igual al 15%, preferentemente en una proporción menor o igual al 10%, preferentemente en una proporción menor o igual al 5%, preferentemente en una proporción menor o igual al 1% si se utiliza en una proporción molar de 1:1. Por ejemplo, un mAb específico de FXII inhibe la serinoproteasa plasmática FXIIa sólo en un 5%, cuando la relación molar de FXIIa con dicho mAb es de 1:1, mientras que el mismo mAb de FXII inhibe el FXIIa al menos en un 80%, preferentemente al menos en un 90%.

En una realización de la invención, una de las otras serinoproteasas plasmáticas se inhibe en más del 50% si se utiliza en una proporción molar de 1:1 de la respectiva serinoproteasa plasmática a dicho inhibidor.

En otra realización de la invención, otras dos serinoproteasas plasmáticas se inhiben en más del 50% si se utilizan en una proporción molar de 1:1 de la respectiva serinoproteasa plasmática a dicho inhibidor.

En otra realización, el inhibidor del FXII es un inhibidor del FXII humano, incluyendo un anticuerpo monoclonal humanizado, preferentemente un anticuerpo monoclonal totalmente humano.

La "homología", como se utiliza en la presente memoria, se refiere al número porcentual de aminoácidos que son idénticos o que constituyen sustituciones conservadoras. La homología se puede determinar mediante el uso de programas de comparación de secuencias tales como GAP (Deveraux *et al.*, 1984, *Nucleic Acids Research* 12, 387 a 395). De este modo, las secuencias de longitud similar o sustancialmente diferente a las citadas en la presente memoria se podrían comparar por medio de la inserción de huecos en el alineamiento, siendo dichos huecos determinados, por ejemplo, por el algoritmo de comparación utilizado por GAP.

A. infestina-4

En una realización, la divulgación proporciona un inhibidor de FXII que comprende el dominio 4 de infestina-4 (denominado como "infestina-4"). Las infestinas son una clase de inhibidores de la serina proteasa derivados del intestino medio del insecto hematófago *Triatoma infestans*, un importante vector del parásito *Trypanosoma cruzi*, conocido por provocar la enfermedad de Chagas. (Campos ITN *et al.* 32 *Insect Biochem. Mol. Bio.* 991 a 997, 2002 Campos ITN *et al.* 577 *FEBS Lett.* 512 a 516, 2004, el documento WO 2008/098720). Este insecto utiliza estos inhibidores para evitar la coagulación de la sangre ingerida. El gen de la infestina codifica 4 dominios que dan lugar a proteínas que pueden inhibir diferentes factores de la vía de coagulación. En particular, el dominio 4 codifica una proteína (infestina-4) que es un fuerte inhibidor del FXIIa. Se ha administrado infestina-4 en ratones sin que se produzcan complicaciones hemorrágicas. (WO 2008/098720 Hagedorn *et al.*, *Circulation* 2010; 121:1510 a 1517.)

En varias realizaciones, un inhibidor del FXII comprende infestina-4. El término "infestina-4", como se utiliza en la presente memoria, abarca variantes o fragmentos del péptido de tipo salvaje que conservan la capacidad de inhibir el FXII. En algunas realizaciones, el infestina-4 se elige por su capacidad de inhibir el FXIIa. En ciertas realizaciones, la infestina-4 comprende una variante de la infestina-4, en la que la variante comprende el dominio 4 de la infestina y, opcionalmente, los dominios 1, 2 y/o 3 de la infestina. En una realización, la infestina-4 es una construcción de infestina-4 marcada con (His)₆. En otra realización, la infestina-4 es una proteína de fusión que comprende un socio de fusión, tal como un polipéptido potenciador de la vida media (por ejemplo, albúmina, un dominio Fc de una IgG o PEG), unido a la infestina-4. En algunas realizaciones, un enlazador conecta la pareja de fusión con infestina-4. En varias realizaciones, la infestina-4 es la proteína rHA-infestina-4 descrita en Hagedorn *et al.*, *Circulation* 2010; 117:1153 a 1160. En una realización, una composición comprende albúmina unida a la proteína rHA-infestina-4 descrita en Hagedorn *et al.* por un enlazador flexible. En ciertas realizaciones, se utilizan otros inhibidores del FXII de infestina-4, cuyos ejemplos se describen en el documento WO 2008/098720 y Hagedorn *et al.*, *Circulation* 2010; 117:1153 a 1160.

Un ejemplo de secuencia de infestina-4 de tipo salvaje se presenta en la SEC. ID Núm.: 1: EVRNPCACFRNYV/PVCGSDGKTYGNPCMLNCAAQTKVPGLKLVHEGRC.

5 Como se utiliza en la presente memoria, el término "variante" de infestina-4 se refiere a un polipéptido con una o más mutaciones de aminoácidos, donde la "mutación" se define como una sustitución, una supresión o una adición a la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje (SEC. ID Núm.: 1). El término "infestina-4" engloba estas variantes de infestina-4. El término "variante" de infestina-4 también incluye fragmentos del tipo salvaje o una secuencia mutada de infestina-4. En varias realizaciones, las una o más mutaciones en la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje no alteran sustancialmente la capacidad funcional del polipéptido para inhibir el FXII. En algunas realizaciones, las una o más mutaciones no eliminan completa o sustancialmente la capacidad del polipéptido de inhibir el FXII (por ejemplo, la variante conserva al menos alrededor del 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% o más de la capacidad inhibitoria de la Infestina-4 de tipo salvaje). A continuación se ofrecen otros ejemplos de estas variantes.

15 En una realización, una variante de infestina-4 comprende la secuencia de aminoácidos VRNPCACFRNYV (SEC. ID Núm.: 20, que son los residuos 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1) del amino terminal de la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje. En ciertas realizaciones, la variante puede comprender los residuos 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1 y también comprende al menos una, y opcionalmente hasta cinco, mutaciones de aminoácidos, en comparación con la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje, fuera de los residuos 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1. En algunas realizaciones, la variante conserva seis residuos de cisteína conservados de la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje, y/o una homología de al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, o al menos el 99%, con la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante de infestina-4 comprende los aminoácidos conservados de la región N-terminal 2-13 de la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje, y al menos una, y opcionalmente hasta cinco, mutaciones de aminoácidos fuera de estos aminoácidos N-terminales conservados, lo que da como resultado diferencias de la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje. Como se utiliza en la presente memoria, el término "fuera de los aminoácidos N-terminales" de una variante de infestina se refiere a cualquier aminoácido a lo largo de la cadena polipeptídica de la variante que no sea el tramo contiguo de aminoácidos que comprende la secuencia de la SEC. ID Núm.: 20: VRNPCACFRNYV, que son los aminoácidos 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1.

30 En otra realización, una variante de infestina-4 comprende seis residuos de cisteína conservados y/o tiene una homología de al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, o al menos el 99%, con la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje. En una realización, los seis residuos de cisteína conservados son aminoácidos en las posiciones 6, 8, 16, 27, 31 y 48 de la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje, la SEC. ID Núm.: 1. En una realización, la variante comprende la cisteína final conservada en la posición 48. En otras realizaciones, las posiciones exactas de los residuos de cisteína, y las posiciones relativas entre sí, pueden cambiar con respecto a las posiciones 6, 8, 16, 27, 31 y 48 de la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje debido a inserciones o supresiones en la variante de infestina-4. No obstante, en estas realizaciones, una variante de infestina-4 comprende las seis cisteínas y/o puede compartir un 70%, 75%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, o cualquier porcentaje intermedio de homología con la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante de infestina-4 conserva los aminoácidos 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1, así como los seis residuos de cisteína, y pueden compartir un 70%, 75%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, o cualquier porcentaje intermedio de homología con la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje.

En algunas realizaciones, la variante de infestina-4 comprende la SEC. ID Núm.: 21: DSLGREVRNPCA. En algunas realizaciones, esta secuencia se añade en o cerca del N-terminal de un fragmento o secuencia de infestina-4 de longitud completa y deriva de la proteína humana SPINK-1.

45 En algunas realizaciones, una variante de infestina-4 comprende una construcción de fusión entre la infestina-4 de tipo salvaje o una variante de infestina-4 y la albúmina humana (denominada como "HA"). En algunas realizaciones, la HA es una proteína recombinante (denominada "rHA"). En ciertas realizaciones, las proteínas infestina-4 y HA se unen directamente, o a través de un polipéptido enlazador.

50 En una realización, el inhibidor de FXII comprende una variante de la secuencia polipeptídica de infestina-4 de tipo salvaje, en la que la variante comprende los aminoácidos N-terminales 2-13 de la SEC. ID Núm.: 1; al menos una, y opcionalmente hasta cinco, mutaciones de aminoácidos fuera de los aminoácidos N-terminales; seis residuos de cisteína conservados; y/o homología de al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98%, o al menos el 99%, con la secuencia de infestina-4 de tipo salvaje.

55 En varias realizaciones, se proporciona una variante de infestina-4 que conserva la capacidad de inhibir el FXII. La actividad inhibitoria funcional se puede evaluar, por ejemplo, por medio de la caracterización *in vitro* y/o *in vivo*, incluidos los ensayos directos para probar la inhibición de la actividad de la enzima FXII, el tiempo de coagulación prolongado (por ejemplo, el tiempo de tromboplastina parcial activado, aPTT), las pruebas clínicas de coagulación que abordan la vía intrínseca de la coagulación, o los procedimientos *in vivo* que evalúan la coagulación.

Otros ejemplos de variantes de infestina-4 son los mutantes de SPINK-1, que se describen a continuación.

B. Anticuerpos FXII

En varias realizaciones, el inhibidor del FXII es un anticuerpo anti-FXII que se une al FXII e inhibe o reduce la activación y/o actividad del FXII. El término "anticuerpo antifactor XII" abarca los anticuerpos de longitud completa y sus fragmentos funcionales (por ejemplo, fragmentos de unión a antígeno tales como Fab, F(ab)₂, Fv y scFv). El término también abarca los anticuerpos policlonales y monoclonales y los anticuerpos de cualquiera de los isotipos tales como IgM, IgD, IgA, IgG e IgE, y cualquier subclase de los mismos, tales como IgG1. El anticuerpo puede ser de una especie de mamífero tales como el humano, el ratón, la rata, el conejo, la cabra, el hámster o el mono. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede ser humanizado o injertado con CDR. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede ser mutado o modificado para alterar la inmunogenicidad, la vida media, y/o para impartir otras propiedades ventajosas asociadas a un anticuerpo terapéutico. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo anti-FXII que se une a un epítipo de la cadena pesada o de la cadena ligera del FXII, tales como un epítipo neutralizante. En algunas realizaciones, el anticuerpo puede estar conjugado con un polipéptido, un ácido nucleico o una pequeña molécula. Un "anticuerpo anti-FXII" también incluye anticuerpos que se unen a y/o inhiben uno o ambos del zimógeno del FXII y la proteína activada (FXIIa), que incluye los fragmentos de escisión del FXIIa alfa y del FXIIa beta. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une específicamente al FXIIa o a los fragmentos de la cadena alfa o beta del FXIIa.

El anticuerpo anti-FXII se une e inhibe la activación y/o actividad del FXIIa. Los anticuerpos anti-FXII se han descrito, por ejemplo, en el documento WO 2006/066878y en Ravon *et al.*, *Blood* 86: 4134 a 4143 (1995). Otros anticuerpos monoclonales (mAbs) contra el Factor XII humano incluyen el mAb B7C9 descrito por Pixley *et al.* (*J. Biol. Chem.* 1987; 262, 10140 a 10145); un mAb descrito por Small *et al.* (*Blood* 1985; 65:202 a 210); los anticuerpos monoclonales F1 y F3 descritos por Nuijens *et al.* (*J. Biol. Chem.* 1989; 264:12941 a 12949); los anticuerpos monoclonales B6F5, C6B7 y D2E10 contra la cadena ligera del FXII descritos en el documento WO89/11865un anticuerpo monoclonal que se une selectivamente al FXIIa-β sobre el FXII descrito en el documento WO90/08835y el anticuerpo anti-FXII OT-2 descrito en el documento WO91/17258.

Otros anticuerpos monoclonales antifactor XII se describen en el documento WO 2013/014092 A1. En algunas realizaciones, los anticuerpos pueden tener una afinidad de unión más de 2 veces superior al Factor XIIa-beta humano que al FXII humano no activado y pueden ser capaces de inhibir la actividad amidolítica del Factor XIIa humano.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-FXII comprende las secuencias de la región variable de la cadena pesada (VH) y de la región variable de la cadena ligera (VL) presentadas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-FXII comprende las HCDR1, HCDR2 y HCDR3, y/o comprende las VCDR1, VCDR2 y VCDR3 que se muestran en la Tabla 1. El anticuerpo 3F7 como se describe en el documento WO 2013/014092 A1 es un ejemplo de dicho anticuerpo.

Tabla 1.

Región	Secuencia de aminoácidos
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYIMQWRQA PGKGLEWWSGIRPSGGTTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARALPRSGYLISPHYYYYALDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO: 6)
VL	QSELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGRNYVYVYQQV PGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLVISGLRS EDEADYYCAAWDASLRGVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 7)
HCDR 1 (<i>Kabat 31 a 35</i>)	KYIMQ (SEC. ID Núm.: 8)
HCDR 2 (<i>Kabat 50 a 65</i>)	GIRPSGGTTVYADSVKG (SEC. ID Núm.: 9)
HCDR 3 (<i>Kabat 95 a 102</i>)	ALPRSGYLISPHYYYYALDV (SEC. ID Núm.: 11)
LCDR 1 (<i>Kabat 24 a 34</i>)	SGSSSNIGRNYVY (SEC. ID Núm.: 13)

Región	Secuencia de aminoácidos
LCDR 2 (<i>Kabat 50 a 56</i>)	SNNQRPS (SEC. ID Núm.: 14)
LCDR 3 (<i>Kabat 89 a 97</i>)	AAWDASLRGV (SEC. ID Núm.: 15)

En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una o más de las siguientes características: (a) se une al FXII humano; (b) comprende una región variable de la cadena pesada (VH) que es idéntica en más de un 85% a la secuencia de la SEC. ID Núm.: 6, tal como más del 90%, 95%, 98% o 99% idéntica; (c) comprende una región variable de la cadena ligera (VL) que es más del 85% idéntica a la secuencia de la SEC. ID Núm.: 7, tal como más del 90%, 95%, 98% o 99% idéntica; (d) comprende una CDR1 de cadena pesada al menos 80% idéntica a la secuencia de la SEC. ID Núm.: 8, tal como más del 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idénticos, y/o una CDR2 de la cadena pesada al menos 60% idénticos con la SEC. ID Núm.: 9, tal como más del 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idéntica, y/o una CDR3 de la cadena pesada, al menos 80% idéntica a la secuencia de la SEC. ID Núm.: 11, tal como más del 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idénticos; (e) comprende una cadena ligera CDR1 al menos 50% idéntica a la SEC. ID Núm.: 13, tal como más del 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idénticos, y/o al menos 50% idénticos a la cadena ligera CDR2 de la SEC. ID Núm.: 14, tal como más del 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idénticos, y/o al menos 50% idénticos a la cadena ligera CDR3, con la secuencia A-X₁-W-X₂-X₃-X₄-X₅-R-X₆-X₇ (SEC. ID Núm.: 16), tal como más del 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idénticos; en los que X₁ puede ser A o S, X₅ puede ser L o V, y los otros X_n pueden ser cualquier aminoácido; (f) se une al Factor XIIa-beta humano con una K_D mejor que 10⁻⁸M; (g) compite con infestina-4 para unirse al Factor XIIa-beta humano; o (h) es una IgG humana o una variante funcional de la misma, preferentemente IgG4 humana o una variante funcional de la misma.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-FXII es un anticuerpo IgG que se une al FXII/FXIIa humano y comprende (a) una región VH que comprende la CDR1 de la cadena pesada como se indica en la SEC. ID Núm.: 8, la CDR2 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 10, y la CDR3 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 12; y/o (b) una región VL que comprende la CDR1 de la cadena ligera como se indica en la SEC. ID Núm.: 13, la CDR2 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 14, y la CDR3 de la cadena ligera como se indica en la SEC. ID Núm.: 16. Una CDR2 de la cadena pesada puede comprender la secuencia GIX₁X₂X₃X₄X₅X₆TVYADSVKQ (SEC. ID Núm.: 10), en la que X₁ es R, N o D, X₂ es P, V, I o M; X₃ es S, P o A; X₄ es G, L, V o T; X₅ puede ser cualquier aminoácido, preferentemente X₅ es G, Y, Q, K, R, N o M; y X₆ es T, G o S. Una CDR3 de cadena pesada puede comprender la secuencia ALPRSGYLX₁X₂X₃X₄YYYALDV (SEC. ID Núm.: 12), en la que X₁ es I, M o V; X₂ es S o K; X₃ es P, K, T o H; y X₄ es H, N, G o Q. Una cadena ligera CDR3 puede comprender la secuencia AX₁WX₂X₃X₄RX₆X₇ (SEC. ID Núm.: 16), en la que X₁ es A o S; X₂ es D, Y, E, T, W, E o S; X₃ es A, N, I, L, V, P, Q o E; X₄ es S, D, P, E, Q o R; X₅ es L o V; X₆ es G, L o K; y X₇ es V, A, D, T, M o G.

En otras realizaciones, el anticuerpo anti-FXII es un fragmento de un anticuerpo IgG que se une al FXII/FXIIa humano y comprende (a) una región VH que comprende la CDR1 de la cadena pesada como se indica en la SEC. ID Núm.: 8, la CDR2 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 9, y la CDR3 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 11; y/o (b) una región VL que comprende la CDR1 de la cadena ligera como se indica en la SEC. ID Núm.: 13, la CDR2 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 14, y la CDR3 de la cadena ligera como se indica en la SEC. ID Núm.: 15.

En varias realizaciones, el anticuerpo anti-FXII es un anticuerpo madurado por afinidad, quimérico, injertado con CDR o humanizado, o un fragmento funcional de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-FXII se elige entre los anticuerpos VR115, VR112, VR24, VR110 y VR119 madurados por afinidad (en relación con el 3F7) (las SEC. ID Núms. para HCDR 1-3 y LCDR1-3 de estos anticuerpos se muestran a continuación en la Tabla 2).

Tabla 2.

mAb	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
3F7	8	9	11	13	14	15
VR119	8	10	11	13	14	15
VR112	8	10	11	13	14	15
VR115	8	10	11	13	14	15

mAb	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
VR24	8	9	11	17	14	15
VR110	8	10	11	13	14	15

Como se ha señalado anteriormente, la SEC. ID Núm.: 10 es una secuencia degenerada. VR119 comprende la SEC. ID Núm.: 10 en la que X₁ es N, X₂ es V, X₃ es P; X₄ es L, X₅ Y; y X₆ es G. VR112 comprende la SEC. ID Núm.: 10 en la que X₁ es N, X₂ es V, X₃ es P, X₄ es V, X₅ es Q, y X₆ es G. VR115 comprende la SEC. ID Núm.: 10 en la que X₁ es D, X₂ es I, X₃ es P, X₄ es T, X₅ es K, y X₆ es G. VR110 comprende la SEC. ID Núm.: 10 en la que X₁ es D, X₂ es M, X₃ es P, X₄ es T, X₅ es K, y X₆ es G. VR24 comprende un único LCDR1: SGSSEMTVHHYVY (SEC. ID Núm.: 17).

En las realizaciones que implican CDR de anticuerpos, las CDR se definen de acuerdo con el sistema de numeración KABAT. (Kabat *et al.*, *Sequences of proteins of immunological interest*, 5ta ed. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, NIH, Bethesda, MD. (1991))

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal anti-FXII o un fragmento de unión a antígeno del mismo que inhibe el FXIIa-alfa humano, por ejemplo, en un ensayo de actividad amidolítica del FXIIa *in vitro* (WO 2013/014092), en más de un 40%, más de un 50% o más de un 60%, cuando se utiliza en una proporción molar de 1:0,2 de FXIIa-alfa a anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe el Factor XIIa-alfa humano en más del 80%, más del 85% o más del 90%, cuando se utiliza en una proporción molar de 1:0,5 de FXIIa-alfa a anticuerpo. En una realización, el anticuerpo logra una inhibición completa o casi completa (por ejemplo, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más) del FXIIa-alfa humano cuando se utiliza en una proporción molar de 1:0,5. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una afinidad por el FXIIa humano que es al menos aproximadamente comparable a la del anticuerpo 3F7.

C. Inhibidores del FXII vinculados a los HLEP

Otro aspecto de la divulgación proporciona inhibidores del FXII unidos a socios de fusión, tales como polipéptidos potenciadores de la vida media (HLEPs) o moléculas tales como el PEG. En una realización, los inhibidores del FXII son proteínas pequeñas. Por lo tanto, se puede esperar una rápida eliminación renal (como se observa para otras proteínas pequeñas) (véase Werle M. y Bernkop-Schnurch A., *Amino Acids* 2006; 30:351 a 367). Una forma de abordar la corta vida media plasmática de un compuesto polipeptídico es inyectarlo repetidamente o por medio de infusión continua. Otro enfoque consiste en aumentar la vida media plasmática intrínseca del propio polipéptido. Por ejemplo, en una realización, los inhibidores del FXII están vinculados a proteínas que prolongan la vida media.

Un "polipéptido potenciador de la vida media" es un socio de fusión polipeptídica que puede aumentar la vida media del inhibidor del FXII *in vivo* en un paciente o en un animal. Algunos ejemplos son la albúmina y las inmunoglobulinas y sus fragmentos, tales como los dominios Fc, o derivados, que se pueden fusionar con un inhibidor del FXII directamente o a través de un enlazador escindible o no escindible. Ballance *et al.* (WO 2001/79271) describió polipéptidos de fusión que comprendían una multitud de diferentes polipéptidos terapéuticos fusionados con albúmina de suero humano.

Los términos "albúmina" y "albúmina sérica" abarcan la albúmina humana (HA) y sus variantes, cuya forma madura completa se desvela en la presente memoria (SEC. ID Núm.: 19), así como la albúmina de otras especies y sus variantes. Como se utiliza en la presente memoria, "albúmina" se refiere a un polipéptido de albúmina o a una secuencia de aminoácidos, o a una variante de albúmina, que tiene una o más actividades funcionales (por ejemplo, actividades biológicas) de la albúmina. En ciertas realizaciones, la albúmina se utiliza para estabilizar o prolongar la actividad terapéutica de un inhibidor del FXII. La albúmina puede proceder de cualquier vertebrado, especialmente de cualquier mamífero, por ejemplo, el ser humano, el mono, la vaca, la oveja o el cerdo. La albúmina no mamífera también se puede utilizar e incluye, entre otras, la albúmina de pollo y de salmón. La porción de albúmina del polipéptido ligado a la albúmina puede proceder de un animal diferente al de la porción del polipéptido terapéutico. Véase el documento WO 2008/098720 para ejemplos de proteínas de fusión de albúmina.

En una realización, una variante de albúmina tiene una longitud de al menos 10, 20, 40, 50, 60 o al menos 70 aminoácidos (o cualquier longitud intermedia) o puede incluir 15, 20, 25, 30, 50 o más aminoácidos contiguos (o cualquier número intermedio) de una secuencia de albúmina humana (HA) (por ejemplo, la SEC. ID Núm.: 19), o puede incluir parte o la totalidad de dominios específicos de la HA. Una variante de la albúmina puede incluir una sustitución, una supresión o una adición de aminoácidos, ya sea una sustitución conservadora o no conservadora, en la que dichos cambios no alteren sustancialmente el sitio activo, o el dominio activo, que confiere las actividades terapéuticas de los polipéptidos potenciadores de la vida media. Estas variantes pueden compartir una homología del 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% (o cualquier porcentaje intermedio).

En algunas realizaciones, la variante de albúmina es un fragmento y puede comprender al menos un dominio completo de albúmina y/o fragmentos de esos dominios, por ejemplo los dominios 1 (aminoácidos 1 a 194 de la SEC. ID Núm.: 19), 2 (aminoácidos 195 a 387 de la SEC. ID Núm.: 19), 3 (aminoácidos 388 a 585 de la SEC. ID Núm.: 19), 1 + 2 (aminoácidos 1 a 387 de la SEC. ID Núm.: 19), 2 + 3 (aminoácidos 195 a 585 de la SEC. ID Núm.: 19) o 1 + 3 (aminoácidos 1 a 194 + aminoácidos 388 a 585 de la SEC. ID Núm.: 19). Cada dominio se compone a su vez de dos subdominios homólogos, a saber, los residuos 1 a 105, 120 a 194, 195 a 291, 316 a 387, 388 a 491 y 512 a 585, de la SEC. ID Núm.: 19, con regiones enlazadoras flexibles entre subdominios que comprenden los residuos Lys106 a Glu119, Glu292 a Val315 y Glu492 a Ala511. De este modo, en algunas realizaciones, la variante de albúmina comprende al menos un subdominio completo de albúmina.

En ciertas realizaciones, otras proteínas que están estructural o evolutivamente relacionadas con la albúmina ("proteínas de la familia de la albúmina") se pueden utilizar como HLEP, que incluyen, pero sin limitarse a la alfa-fetoproteína (el documento WO 2005/024044 Beattie y Dugaiczky, 20 *Gene* 415 a 422, 1982), la afamina (Lichenstein *et al.* 269 *J. Biol. Chem.* 18149 a 18154, 1994), y la proteína de unión a la vitamina D (Cooke y David, 76 *J. Clin. Invest.* 2420 a 2424, 1985). Los genes que codifican estas proteínas representan un clúster multigénico con similitudes estructurales y funcionales que se sitúan en la misma región cromosómica en humanos, ratones y ratas. La similitud estructural de los miembros de la familia de la albúmina sugiere que se pueden utilizar como HLEP. Por ejemplo, se ha afirmado que la alfa-fetoproteína prolonga la vida media de un polipéptido terapéutico unido *in vivo* (el documento WO 2005/024044). De este modo, en algunas realizaciones, estas proteínas, o variantes de las mismas, que pueden ser capaces de estabilizar o prolongar la actividad terapéutica, se pueden utilizar como HLEP unidas al FXII o al FXIIa y se pueden derivar de cualquier vertebrado, especialmente de cualquier mamífero, por ejemplo, el ser humano, el mono, la vaca, la oveja o el cerdo, o no mamíferos, que incluyen, pero sin limitarse a ello, la gallina o el salmón. En algunas realizaciones, las variantes pueden comprender 10 o más aminoácidos de longitud, o pueden comprender aproximadamente 15, 20, 25, 30, 50 o más aminoácidos contiguos de la respectiva secuencia proteica de la que se derivan, o pueden incluir parte o la totalidad de dominios específicos de las respectivas proteínas. Las proteínas de fusión de los miembros de la familia de la albúmina pueden incluir variantes polimórficas de origen natural.

En ciertas realizaciones, las moléculas de polietilenglicol (PEG) mono o poli (por ejemplo, 2 a 4) se pueden utilizar como socios de fusión y pueden prolongar la vida media *in vivo*. La pegilación se puede llevar a cabo por medio de cualquiera de las reacciones de pegilación disponibles. Los procedimientos ejemplares para preparar productos proteicos pegilados pueden incluir generalmente (a) la reacción de un polipéptido con polietilenglicol (tales como un éster reactivo o un derivado aldehídico de PEG) en condiciones en las que la proteína se une a uno o más grupos PEG; y (b) la obtención del producto o productos de reacción. Existen varios procedimientos de fijación del PEG. Véase, por ejemplo, el documento EP 0 401 384 Malik *et al.*, Exp. *Hematol.*, 20:1028 a 1035 (1992) Francis, *Focus on Growth Factors*, 3(2):4 a 10 (1992) el documento EP 0 154 316, el documento EP 0 401 384, el documento WO 92/16221, el documento WO 95/34326 Patente de los Estados Unidos Núm. 5.252.714.

En algunas realizaciones, se puede utilizar una inmunoglobulina (Ig) como un HLEP. El término "inmunoglobulina" abarca los fragmentos funcionales y sus variantes, tal como una región Fc o uno o más dominios constantes de Ig. En algunas realizaciones, la Ig comprende una región Fc o porciones del (de los) dominio/s constante/s de la inmunoglobulina. La región constante puede ser la de una inmunoglobulina IgM, IgG, IgD, IgA o IgE. En algunas realizaciones, la porción de polipéptido terapéutico está conectada a la Ig a través de la región bisagra del anticuerpo o de un enlazador peptídico, que puede ser escindible. Varias patentes y solicitudes de patente describen la fusión de proteínas terapéuticas con regiones constantes de inmunoglobulina para prolongar la vida media de la proteína terapéutica *in vivo* (los documentos US 2004/0087778, WO 2005/001025, WO 2005/063808, WO 2003/076567, WO 2005/000892, WO 2004/101740, US 6.403.077). Por lo tanto, en algunas realizaciones, las regiones de inmunoglobulina (por ejemplo, los dominios Fc, los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas y sus variantes) se utilizan como HLEP. En algunas realizaciones, los inhibidores del FXII se pueden fusionar a dominios Fc o a porciones de regiones constantes de inmunoglobulinas como HLEP. En algunas realizaciones, estas proteínas de fusión se preparan como moléculas recombinantes expresadas en células huésped procariotas o eucariotas, tales como bacterias, levaduras, plantas, animales (que incluyen insectos) o líneas celulares humanas o en animales transgénicos (el documento WO 2008/098720).

D. Enlazadores

En varias realizaciones, se puede introducir un enlazador peptídico intermedio entre un polipéptido terapéutico y un HLEP. En una realización, se introduce un enlazador escindible, particularmente si el HLEP tiene el potencial de interferir con la actividad específica del polipéptido terapéutico, por ejemplo, por impedimento estérico. En ciertas realizaciones, el enlazador es escindible por las enzimas implicadas en la coagulación, tal como las proteasas de coagulación de la vía intrínseca, extrínseca o común de coagulación. Las proteasas de coagulación de la vía intrínseca incluyen proteasas de la vía de activación de contacto, por ejemplo, FXIIa, FXIa o FIXa. En una realización, el enlazador es escindido por el FXIIa. Las proteasas de la vía extrínseca incluyen las proteasas de la vía del factor tisular, por ejemplo, el FVIIa. Las proteasas de la vía común incluyen las proteasas implicadas en la conversión del fibrinógeno en fibrina, por ejemplo, FXa, FIIa y FXIIIa.

III. Inhibidor C1

Los términos "Inhibidor de C1", "Inhibidor de C1 esterasa" y "C1-INH" se refieren a inhibidores de serina proteasa y fragmentos funcionales de los mismos que se unen a las proteínas del complejo C1 y las inhiben, lo cual impide la activación de las proteasas circulantes y/o inhibe las proteasas activadas asociadas con el sistema del complemento, el sistema caliceína-quinina y/o el sistema de coagulación. Las proteasas de la coagulación inhibidas por el C1-INH incluyen el Factor XIa y el Factor XIIa. Las C1-INH son plasmáticas (es decir, derivadas del plasma), recombinantes o una combinación de ambas. Entre los ejemplos de C1-INH se encuentran el CINRYZE™ derivado del plasma (Viropharma), RUCONEST™ o RHUCIN™ recombinantes (ambos de Pharming), y BERINERT® derivado del plasma (CSL Behring).

El C1-INH, como se utiliza en la presente memoria, puede comprender inhibidores nativos de la serina proteasa de un ser humano o animal, o puede comprender péptidos recombinantes, péptidos sintéticos o miméticos de péptidos. Por ejemplo, se puede utilizar un C1-INH derivado del plasma humano, por ejemplo, tras la pasteurización y la nanofiltración. Un ejemplo de secuencia de aminoácidos de la C1-INH humana se proporciona en el documento WO 2007/073186 (véase la SEC. ID Núm.: 1 en el documento WO 2007/073186). Para más divulgaciones sobre la estructura y la función del inhibidor C1, véase la Patente de los Estados Unidos 4.915.945, la Patente de los Estados Unidos 5.939.389, la Patente de los Estados Unidos 6.248.365, la Patente de los Estados Unidos 7.053.176 y el documento WO 2007/073186.

En varias realizaciones, el inhibidor de C1 utilizado en los procedimientos y composiciones develados en la presente memoria se puede producir de acuerdo con procedimientos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, para producir C1-INH recombinante. Por ejemplo, un proceso para producir un inhibidor de C1 con fines terapéuticos se desvela en la Patente de los Estados Unidos 4.915.945. Alternativamente, en algunas realizaciones, el C1-INH se puede recolectar y concentrar a partir de fuentes de tejido natural mediante el uso de técnicas conocidas en la técnica. En algunas realizaciones, la tecnología recombinante se puede utilizar para producir C1-INH, tal como la C1-INH humana recombinante, en un animal o línea celular transgénica. Los productos disponibles en el mercado que comprenden el inhibidor de C1 son, por ejemplo, CINRYZE™ derivado del plasma (Viropharma), RUCONEST™ o RHUCIN™ recombinantes (ambos de Pharming), y BERINERT® derivado del plasma (CSL Behring). BERINERT® está indicado para el tratamiento del angioedema hereditario y las deficiencias congénitas. La C1-INH recombinante se puede preparar por procedimientos conocidos.

En algunas realizaciones, se utiliza uno o más C1-INH derivados del plasma humano en las composiciones y procedimientos desvelados en la presente memoria. En algunas realizaciones, se utiliza una o más C1-INH humanas recombinantes. En algunas realizaciones, se utiliza una combinación de uno o más C1-INH derivados del plasma humano y uno o más C1-INH humanos recombinantes.

IV. Composiciones farmacéuticas

En cualquiera de los diversos aspectos de la invención, el inhibidor de FXII y/o C1-INH puede tener una pureza superior al 80%, o superior al 95%, 96%, 97%, 98% o 99%. En una realización, el inhibidor del FXII y/o el C1-INH pueden tener un estado de pureza farmacéutica superior al 99,9% con respecto a macromoléculas contaminantes, tal como otras proteínas y ácidos nucleicos, y pueden estar libres de agentes infecciosos y pirogénicos.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica puede comprender al menos un aditivo tal como un relleno, un agente de volumen, un tampón, un estabilizador o un excipiente. Algunas técnicas ejemplares de formulación farmacéutica se describen, por ejemplo, en la 2005 *Physicians' Desk Reference*, Thomson Healthcare: Montvale, NJ, 2004 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª edición, Gennado et al., Eds. Lippincott Williams & Wilkins: Filadelfia, PA, 2000 Kibbe *et al. Handbook of Pharmaceutical Excipients*, (3ª ed., Pharmaceutical Press), 2000.). Los aditivos farmacéuticos incluyen, por ejemplo, manitol, almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden contener también reactivos amortiguadores del pH y agentes humectantes o emulsionantes. En otras realizaciones, las composiciones pueden contener conservantes y/o estabilizadores. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular en forma liofilizada o soluble estable. Los polipéptidos pueden ser liofilizados por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica.

En ciertas realizaciones, se prepara una composición farmacéutica que comprende al menos un C1-INH y/o una composición farmacéutica que comprende al menos un inhibidor del FXII para su uso en el tratamiento de un trastorno del sistema de activación por contacto. Por ejemplo, si se proporciona un polvo o una forma liofilizada del inhibidor de C1-INH o FXII (por ejemplo, por liofilización) y se desea un producto farmacéutico acuoso, el polvo se puede disolver por medio de la mezcla con los componentes acuosos de la formulación farmacéutica y la agitación por medio de técnicas adecuadas tales como el vórtex o la agitación suave. Alternativamente, si se desea un producto farmacéutico acuoso y el inhibidor de C1-INH o FXII ya está en forma acuosa, los componentes se pueden combinar directamente antes de la administración. En ciertas realizaciones, el C1-INH se proporciona en forma liofilizada y se combina con una composición acuosa inhibidora del FXII antes de su administración a un paciente. En otras realizaciones, el inhibidor del FXII se proporciona en forma liofilizada y se combina con la composición acuosa de C1-INH antes de su administración. En otras realizaciones, tanto el inhibidor de C1-INH como el de FXII se suministran en forma liofilizada y se combinan con componentes farmacéuticos acuosos (por ejemplo,

componentes activos adicionales o componentes inactivos tales como cargas, estabilizadores, disolventes o portadores) antes de su administración. En otras realizaciones, tanto el inhibidor de C1-INH como el de FXII se suministran en forma acuosa y se pueden administrar por separado o se pueden combinar antes de la administración a un paciente.

- 5 La formulación de las composiciones farmacéuticas puede variar en función de la vía de administración prevista y de otros parámetros (véase, por ejemplo Rowe *et al.*, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 4ª ed., APhA Publications, 2003). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede ser una torta o polvo liofilizado. La composición liofilizada puede ser reconstituida para su administración por inyección intravenosa, por ejemplo, con Agua Estéril para Inyección, USP. En otras realizaciones, la composición puede ser una solución estéril, no pirogénica. En otras realizaciones, la composición se suministra en forma de polvo en una píldora o comprimido.

10 Las formulaciones del inhibidor del FXII y/o del C1-INH se pueden administrar al paciente por cualquier medio de administración adecuado para uso farmacéutico. Por ejemplo, las composiciones se pueden administrar por vía sistémica, tal como por vía parenteral. Las formulaciones parenterales se pueden administrar por vía intravenosa o subcutánea, ya sea en forma de bolo o de infusión, de acuerdo con los procedimientos conocidos. Los portadores líquidos preferidos, que son muy conocidos para uso parenteral, incluyen agua estéril, solución salina, dextrosa acuosa, soluciones de azúcar, etanol, glicoles y aceites. Para el uso sistémico, las proteínas terapéuticas pueden estar formuladas para una vía intravenosa o una vía arterial. Las formulaciones se pueden administrar de forma continua por infusión o por inyección en bolo.

15 Los comprimidos y cápsulas para la administración oral o rectal pueden contener excipientes convencionales tales como agentes aglutinantes, rellenos, lubricantes o humectantes, etc. Las preparaciones líquidas orales o rectales se pueden presentar en forma de suspensiones acuosas o aceitosas, soluciones, emulsiones, jarabes, elixires o similares, o se pueden presentar como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Estas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales, tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos y conservantes. Algunas formulaciones abarcan sistemas de liberación lenta, tales como un parche.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar, y no limitan en modo alguno, la presente divulgación.

Ejemplo 1: Efectos antitrombóticos sinérgicos en la trombosis arterial inducida por FeCl₃ en ratas por medio de un tratamiento intravenoso combinado de rHA-infestina-4 y BERINERT

- 30 Se evaluó el efecto del tratamiento combinado con el inhibidor del Factor XII rHA-infestina-4 y el inhibidor de C1 (INH) BERINERT® en un modelo de trombosis arterial en ratas. Los grupos de tratamiento fueron los indicados en la Tabla 3:

Tabla 3: Grupos de tratamiento

Núm.	Tratamiento	Dosis	Volumen	Horario	Ruta	N
1	Solución salina isotónica	N/A ¹	4 mL/kg	t=-5 min	i.v.	11
2	rHA-infestina-4	4 mg/kg	4 mL/kg	t=-5 min	i.v.	11
3	C1-INH (BERINERT®)	20 UI/kg	4 mL/kg	t=-5 min	i.v.	11
4	rHA-infestina-4 + C1-INH (BERINERT®)	4 mg/kg 20 UI/kg	4 mL/kg	t=-5 min	i.v.	10

¹N/A = no aplicable

- 35 Las ratas CD hembra (7 a 8 semanas), obtenidas de Charles River Laboratories, recibieron una única inyección i.v. de la solución de tratamiento como se indica en la Tabla 3 a t= -5 min en anestesia profunda. A continuación, se cuantificaron los efectos del tratamiento sobre la oclusión trombótica. El flujo sanguíneo basal se determinó por medio de la colocación de una sonda de flujo ultrasónica alrededor de la arteria carótida expuesta. Para iniciar la trombosis, se colocó un parche de papel de filtro de 2,5 mm² (1×2,5 mm) saturado con una solución de cloruro férrico al 35% en la arteria carótida corriente abajo de la sonda de flujo a t=0 min. Al cabo de 3 minutos se retiró el papel de filtro y se monitorizó el flujo sanguíneo durante 60 minutos o hasta la oclusión trombótica del vaso (es decir, el cese del flujo sanguíneo).

La Figura 1 presenta el curso temporal de la oclusión arterial, así como las tasas de oclusión tras la aplicación de FeCl₃. La Tabla 4 presenta las tasas de oclusión (es decir, el número de animales en los que se observó una oclusión total) en cada grupo de tratamiento.

Tabla 4: Tasas de oclusión tras el tratamiento

Núm.	Tratamiento	Tasa de oclusión	N
1	Solución salina isotónica	10/11 (91 %)	11
2	rHA-infestina-4 4 mg/kg	6/11 (55 %)	11
3	C1-INH (BERINERT®) 20 UI/kg	9/11 (82 %)	11
4	rHA-infestina-4 (4 mg/kg) + C1-INH (BERINERT®) (20 UI/kg)	2/10 (20 %)	10

5

Como se muestra en la Tabla 4, la lesión de la arteria carótida con cloruro férrico durante tres minutos produjo una oclusión trombótica en 10/11 (91%) de las ratas tratadas con solución salina isotónica (Tabla 4). Estas oclusiones de vasos se produjeron en 32 minutos (Fig. 1). El pretratamiento con 4 mg/kg de rHA-infestina-4 produjo una prevención parcial (55% de oclusión) de la trombosis arterial en un grupo de 11 ratas. Una dosis de 20 UI/kg de C1-INH (BERINERT®) fue ineficaz (es decir, un 82 % de oclusión), mientras que BERINERT® en combinación con 4 mg/kg de rHA-infestina-4 condujo a una protección sustancial de la trombosis arterial (20 % de oclusión). La Figura 2 compara gráficamente el porcentaje de vasos ocluidos (es decir, las tasas de oclusión) para cada grupo de tratamiento.

10

Este estudio demostró que la protección frente a la trombosis arterial se podía mejorar de forma sinérgica si se combinaba rHA-infestina-4 (4 mg/kg) con 20 UI/kg de C1-INH (BERINERT®).

15

Ejemplo 2: Modelo murino de EAE de la Esclerosis Múltiple (fuera del alcance)

El efecto del tratamiento combinado mediante el uso de al menos un inhibidor del Factor XII y al menos un C1-INH se evalúa en un modelo animal de encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) murino. (Stüve *et al.*, Arch Neurol. 2010; 67:1307 a 1315.) Los grupos de tratamiento incluyen un grupo de control con solución salina, un grupo tratado con al menos un inhibidor del Factor XII, un grupo tratado con al menos un C1-INH, y un grupo tratado con al menos un inhibidor del Factor XII y al menos un C1-INH, opcionalmente comparado con grupos tratados con uno o más corticosteroides, interferón o acetato de glatiramer. El C1-INH es BERINERT® (CSL Behring), y el inhibidor del FXII es rHA-infestina-4 o el anticuerpo anti-FXIIa 3F7.

20

La EAE se induce por medio de la inmunización de ratones C57Bl/6 hembra de 10 a 12 semanas de edad con 200 µg de MOG35-55. El modelo de ratón C57Bl/6 MOG35-55 se utiliza habitualmente para la validación preclínica de compuestos terapéuticos. (Krishnamoorthy & Wekerle, Eur. J. Immunol. 2009; 39:2031 a 2035.) El curso de la EAE en este modelo se asemeja a una forma primaria progresiva de EM, ya que una vez inducida la enfermedad no remite. El adyuvante completo de Freund (CFA) se complementa con MOG para obtener una emulsión de 1 mg/ml y se inyectan 2 x 100 µl por vía subcutánea en dos sitios diferentes del flanco de ratones profundamente anestesiados.

25

El tratamiento se administra por inyección intravenosa diaria durante un período de 50 días. La evolución de la EAE en los diferentes grupos de tratamiento es controlada diariamente por dos investigadores ciegos mediante el uso del siguiente sistema de puntuación: grado 0, ninguna anomalía; grado 1, punta de la cola flácida; grado 2, cola flácida; grado 3, debilidad moderada de las extremidades traseras; grado 4, debilidad completa de las extremidades traseras; grado 5, paraparesia leve; grado 6, paraparesia; grado 7, paraparesia grave o paraplejia; grado 8, tetraparesia; grado 9, tetraplejia o estado premoribundo; grado 10, muerte. Se comparan las puntuaciones a lo largo del periodo de seguimiento de 50 días, buscando cualquier alteración, efecto aditivo o sinérgico entre los diferentes grupos de tratamiento. Después de 50 días, se sacrifican los ratones, se recogen muestras de tejido y se evalúa histopatológicamente la progresión de la EAE.

35

Ejemplo 3: Modelo de isquemia esquelética en ratas (fuera de alcance)

El efecto del tratamiento combinado mediante el uso de al menos un inhibidor del Factor XII y al menos un C1-INH se evalúa en un modelo de rata de isquemia esquelética. Los grupos de tratamiento incluyen un grupo de control con solución salina, un grupo tratado con al menos un inhibidor del Factor XII, un grupo tratado con al menos un C1-INH, y un grupo tratado con al menos un inhibidor del Factor XII y al menos un C1-INH. El C1-INH es BERINERT® (CSL Behring) y el inhibidor del FXII es rHA-infestina-4.

45

Se anestesia a las ratas Wistar macho y se les quita completamente el pelo de las extremidades traseras con una afeitadora eléctrica. Las ratas se mantienen en una almohadilla térmica para mantener la temperatura corporal a 37 °C. Aproximadamente, treinta minutos después de la inducción de la anestesia, se induce la isquemia unilateral de las extremidades posteriores durante 3 horas por medio del pinzamiento de la arteria femoral. Tras 3 horas de isquemia, la extremidad se reperfunde durante 24 horas.

La inmunofluorescencia se utiliza para cuantificar la deposición de varios componentes del sistema del complemento, así como de fibrina/fibrinógeno, heparán sulfato, receptor de bradicinina B₁ y receptor de bradicinina B₂ en muestras de tejido del músculo ocluido y reperfundido. Las muestras de tejido se lavan en PBS, se secan con un paño y se incrustan en una matriz (OCT, Tissue tek) sobre hielo seco. Las muestras se incuban con los anticuerpos primarios durante una noche a 4 °C, **seguida por** la incubación de los anticuerpos secundarios durante 1 hora a temperatura ambiente. Se cuantifican los niveles de inmunofluorescencia en las diferentes muestras, buscando cualquier alteración, efecto aditivo o sinérgico entre los diferentes grupos de tratamiento. Además, se calcula una proporción húmeda/seca de tejido a partir de muestras de tejido para evaluar los efectos en la formación de edema durante el IRI esquelético en un ensayo MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, Sigma, St. Louis, EE.UU.) utilizado para evaluar los efectos en la viabilidad del músculo.

Ejemplo 4: Modelo de ratón de angioedema hereditario

El efecto del tratamiento combinado mediante el uso de al menos un inhibidor del Factor XII y al menos un C1-INH se evalúa en un modelo de ratón de angioedema hereditario (AEH). Los grupos de tratamiento incluyen un grupo de control con solución salina, un grupo tratado con al menos un inhibidor del Factor XII, un grupo tratado con al menos un C1-INH, y un grupo tratado con al menos un inhibidor del Factor XII y al menos un C1-INH, opcionalmente comparado con un grupo tratado con un inhibidor de la calicreína plasmática de dominio Kunitz (DX88). El C1-INH es BERINERT® (CSL Behring), y el inhibidor del FXII es rHA-infestina-4 o el anticuerpo anti-FXIIa 3F7.

Los ratones en los que no se expresa la C1-INH fisiológica (Han *et al.*, *J. Clin. Invest.* 109:1057 a 1063 (2002)) se obtienen y se comprueban los síntomas del AEH. A los ratones se les administra el tratamiento, seguido por una inyección con colorante azul de Evans (30 mg/kg en 100 µl de PBS; Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, EE.UU.) en la vena de la cola después de la dosis. Las muestras de tejido se toman 30 minutos después de la inyección del colorante. La permeabilidad vascular se mide por medio de la cuantificación del grado de extravasación del colorante desde la vasculatura, y la búsqueda de cualquier alteración, efecto aditivo o sinérgico entre los diferentes grupos de tratamiento. Alternativamente, otros ratones deficientes en C1-INH (Oschatz *et al.*, *Immunity* 34:258 a 268 (2011)) se pueden utilizar para estudios de eficacia. Además, tras el tratamiento con los fármacos del estudio, se pueden aplicar diferentes estímulos que provoquen edema, ya sea localmente o por vía intravenosa, seguidos por la evaluación de la formación de edema o del aumento de la permeabilidad vascular monitorizados por medio de la aplicación de un trazador intravenoso. Los ejemplos anteriores pretenden ilustrar y no limitar en modo alguno la presente divulgación. Otras realizaciones de las composiciones y procedimientos desvelados serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la memoria descriptiva y la práctica de las composiciones y procedimientos desvelados en la presente memoria.

Listado de secuencias

<110> CSL Behring GmbH

<120> Terapia combinada con un inhibidor del factor XII y un inhibidor de C1

<130> 2013_M003_A188

<150> US61/840662

<151>2013-06-28

<150> EP 13176605.7

<151>2013-07-16

<160> 21

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 48

<212> PRT

<213> *Triatoma infestans*

<400>1

ES 2 897 746 T3

Glu Val Arg Asn Pro Cys Ala Cys Phe Arg Asn Tyr Val Pro Val Cys
 1 5 10 15

Gly Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Gly Asn Pro Cys Met Leu Asn Cys Ala
 20 25 30

Ala Gln Thr Lys Val Pro Gly Leu Lys Leu Val His Glu Gly Arg Cys
 35 40 45

<210> 2
 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400>2

Asp Ser Leu Gly Arg Glu Ala Lys Cys Tyr Asn Glu Leu Asn Gly Cys
 1 5 10 15

Thr Lys Ile Tyr Asp Pro Val Cys Gly Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Pro
 20 25 30

Asn Glu Cys Val Leu Cys Phe Glu Asn Arg Lys Arg Gln Thr Ser Ile
 35 40 45

Leu Ile Gln Lys Ser Gly Pro Cys
 50 55

<210> 3
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400>3

Asp Ser Leu Gly Arg Glu Val Arg Asn Pro Cys Ala Cys Phe Arg Asn
 1 5 10 15

Tyr Val Pro Val Cys Gly Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Pro Asn Glu Cys
 20 25 30

Val Leu Cys Phe Glu Asn Arg Lys Arg Gln Thr Ser Ile Leu Ile Gln
 35 40 45

Lys Ser Gly Pro Cys
 50

<210> 4
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400>4

ES 2 897 746 T3

Asp Ser Leu Gly Arg Glu Val Arg Asn Pro Cys Ala Cys Phe Arg Asn
1 5 10 15

Tyr Val Pro Val Cys Gly Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Gly Asn Glu Cys
20 25 30

Met Leu Cys Ala Glu Asn Arg Lys Arg Gln Thr Ser Ile Leu Ile Gln
35 40 45

Lys Glu Gly Pro Cys
50

<210> 5
<211> 54
<212> PRT
5 <213> Homo sapiens

<400>5

Asp Ser Leu Gly Arg Glu Val Arg Asn Pro Cys Ala Cys Phe Arg Asn
1 5 10 15

Tyr Val Pro Val Cys Gly Thr Asp Gly Asn Thr Tyr Gly Asn Glu Cys
20 25 30

Met Leu Asn Cys Ala Glu Asn Arg Lys Arg Gln Thr Ser Ile Leu Ile
35 40 45

Gln Lys Glu Gly Pro Cys
50

10 <210> 6
<211> 129
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400>6

ES 2 897 746 T3

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

Ser

<210> 7
 <211> 110
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

<400>7

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

<210> 8
 <211> 5
 <212> PRT

10

ES 2 897 746 T3

<213> Homo sapiens

<400>8

Lys Tyr Ile Met Gln
1 5

<210> 9

5 <211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>9

Gly Ile Arg Pro Ser Gly Gly Thr Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10 <210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Cadena pesada CDR2 que muestra variaciones

<220>

<221> variante

<222> (3)..(3)

<223> Xaa se selecciona entre Arg, Asn y Asp

20 <220>

<221> variante

<222> (4)..(4)

<223> Xaa se selecciona de Pro, Val, Ile y Met

<220>

25 <221> variante

<222> (5)..(5)

<223> Xaa se selecciona entre Ser, Pro y Ala

<220>

<221> variante

30 <222> (6)..(6)

<223> Xaa se selecciona entre Gly, Leu, Val y Thr

<220>

<221> variante

<222> (7)..(7)

35 <223> Xaa se selecciona entre Gly, Tyr, Gln, Lys, Arg, Asn y Met

<220>

<221> variante

<222> (8)..(8)

<223> Xaa se selecciona entre Thr, Gly y Ser

40 <400>10

Gly Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 20

<212> PRT

ES 2 897 746 T3

<213> Homo sapiens

<400>11

Ala Leu Pro Arg Ser Gly Tyr Leu Ile Ser Pro His Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Ala Leu Asp Val
20

5 <210> 12
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena pesada CDR3 que muestra variaciones

10 <220>
<221> variante
<222> (9)..(9)
<223> Xaa se selecciona entre Ala, Met y Val

15 <220>
<221> variante
<222> (10)..(10)
<223> Xaa se selecciona de Ser y Lys

20 <220>
<221> variante
<222> (11)..(11)
<223> Xaa se selecciona entre Pro, Lys, Thr e His

25 <220>
<221> variante
<222> (12)..(12)
<223> Xaa se selecciona entre His, Asn, Gly y Gln

<400>12

Ala Leu Pro Arg Ser Gly Tyr Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Ala Leu Asp Val
20

30 <210> 13
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400>13

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Arg Asn Tyr Val Tyr
1 5 10

35 <210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo Sapiens

<400>14

Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

40 <210> 15
<211> 10

ES 2 897 746 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400>15

Ala Ala Trp Asp Ala Ser Leu Arg Gly Val
1 5 10

5 <210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<221> variante
<222> (2)..(2)
<223> Xaa se selecciona entre Ala y Ser

15 <220>
<221> variante
<222> (4)..(6)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

20 <220>
<221> variante
<222> (7)..(7)
<223> Xaa se selecciona entre Leu y Val

<220>
<221> variante
<222> (9)..(10)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido

25 <400>16

Ala Xaa Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa
1 5 10

30 <210> 17
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400>17

Ser Gly Ser Ser Glu Met Thr Val His His Tyr Val Tyr
1 5 10

35 <210> 18
<400> 18
000

<210> 19
<211> 585
<212> PRT
<213> Homo sapiens

40 <400>19

ES 2 897 746 T3

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

ES 2 897 746 T3

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

ES 2 897 746 T3

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Lys Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
 465 470 475 480
 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
 485 490 495
 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
 500 505 510
 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
 515 520 525
 Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
 530 535 540
 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
 545 550 555 560
 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
 565 570 575
 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 580 585

<210> 20
 <211> 12
 5 <212> PRT
 <213> Triatoma infestans
 <400>20

ES 2 897 746 T3

Val Arg Asn Pro Cys Ala Cys Phe Arg Asn Tyr Val
1 5 10

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

5 <213> *Triatoma infestans*

<400>21

Asp Ser Leu Gly Arg Glu Val Arg Asn Pro Cys Ala
1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un inhibidor del Factor XII (FXII) y al menos un inhibidor de C1 (C1-INH) para el uso de tratar un trastorno del sistema de activación por contacto seleccionado entre un trastorno trombótico y un trastorno relacionado con la formación de cinina, en la que el trastorno relacionado con la formación de cinina se selecciona entre angioedema hereditario (AEH), el edema cerebral secundario, el edema del sistema nervioso central, el shock hipotensivo y el edema durante o después del contacto de la sangre con una superficie artificial, en la que el al menos un C1-INH es un inhibidor de C1 Esterasa humano derivado del plasma y/o un inhibidor de C1 Esterasa humano recombinante, en el que el inhibidor de FXII no es C1 INH, y en el que el al menos un inhibidor de FXII comprende
- (i) la secuencia polipeptídica de infestina-4 de tipo salvaje (SEC. ID Núm.: 1), o una secuencia polipeptídica que comprende:
- (a) SEC. ID Núm.: 1 modificado para contener 1 s 5 mutaciones de aminoácidos fuera de las posiciones de aminoácidos N-terminal 2 a 13 de la SEC. ID Núm.: 1; y/o
- (b) una homología de al menos el 70%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 98% o el 99% con la SEC. ID Núm.: 1 y que conserva seis residuos de cisteína conservados de la SEC. ID Núm.: 1;
- y/o
- (ii) un anticuerpo anti-FXII en el que el anticuerpo anti-FXII se une e inhibe la activación y/o actividad del FXIIa.
2. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el trastorno es un trastorno trombótico y es un trombo venoso, arterial o capilar, un trombo en el corazón, un tromboembolismo crónico o agudo, la formación de trombos durante o después del contacto de la sangre con una superficie artificial, una lesión de la médula espinal, una lesión cerebral traumática, un edema cerebral secundario o un edema del sistema nervioso central.
3. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el trastorno trombótico es un trombo venoso, arterial o capilar, y es un accidente cerebrovascular, un infarto de miocardio, una trombosis venosa profunda (TVP), una trombosis de la vena porta, un tromboembolismo, una trombosis de la vena renal, una trombosis de la vena yugular, una trombosis del seno venoso cerebral, un síndrome de Budd-Chiari, una enfermedad de Paget-Schroetter o una isquemia cerebral silenciosa.
4. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el anticuerpo anti-FXII comprende
- (i)
- (a) una región VH que comprende la CDR1 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 8, la CDR2 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 10, y la CDR3 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 12; y/o
- (b) una región VL que comprende la CDR1 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 13, la CDR2 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 14, y la CDR3 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 16;
- o
- (ii)
- (a) una región VH que comprende la CDR1 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 8, la CDR2 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 9, y la CDR3 de la cadena pesada, como se indica en la SEC. ID Núm.: 11; y/o
- (b) una región VL que comprende la CDR1 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 13, la CDR2 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 14, y la CDR3 de la cadena ligera, como se indica en la SEC. ID Núm.: 15;
- o
- (iii) una región VH que comprende la SEC. ID Núm.: 6 y una región VL que comprende la SEC. ID Núm.: 7.
5. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el anticuerpo anti-FXII es un anticuerpo IgG.
6. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el al menos un inhibidor del FXII está unido a un socio de fusión que comprende PEG o un polipéptido potenciador de la vida media seleccionado entre albúmina, afamina, alfa-fetoproteína, proteína de unión a la vitamina D, albúmina

humana, una inmunoglobulina y un Fc de una IgG.

7. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el polipéptido potenciador de la vida media está unido al inhibidor del FXII por medio de un enlazador.
- 5 8. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 y 7, en la que el al menos un inhibidor del FXII es una proteína de fusión que comprende albúmina humana unida a un inhibidor del FXII por medio de un péptido enlazador.
9. Una composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran después de que un paciente desarrolle el trastorno del sistema de activación por contacto.
- 10 10. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran (i) en una dosis única como inyección o infusión, (ii) en dosis múltiples, cada una como inyección o infusión, o (iii) como infusión o aplicación continua.
11. Una composición de uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran por vía intravenosa.
- 15 12. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran al mismo tiempo o en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran secuencialmente, administrándose primero el inhibidor del FXII o el C1-INH.
- 20 13. Una composición de uso de acuerdo con la reivindicación 12, en la que el al menos un C1-INH se administra inmediatamente después del al menos un inhibidor del FXII, o hasta unos 10 minutos después del al menos un inhibidor del FXII o en la que el al menos un inhibidor del FXII se administra inmediatamente después del al menos un C1-INH o hasta unos 10 minutos después del al menos un C1-INH.
- 25 14. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en la que el al menos un inhibidor del FXII se administra a una concentración que oscila entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal, o entre aproximadamente 1 y aproximadamente 500 mg/kg; y/o el al menos un C1-INH se administra a una concentración que oscila entre aproximadamente 0,01 UI/kg y aproximadamente 5000 UI/kg de peso corporal, o entre aproximadamente 5 y aproximadamente 500 UI/kg.
- 30 15. Una composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran inmediatamente después, o hasta 1 hora, seis horas, 12 horas, 1 día, 3 días, 5 días o 10 días después de un insulto inicial o episodio del trastorno del sistema de activación por contacto.
16. Una composición de uso de acuerdo con la reivindicación 15, en la que el al menos un inhibidor del FXII y el al menos un C1-INH se administran al menos dos veces, al menos tres veces o al menos cinco veces.

Figura 1

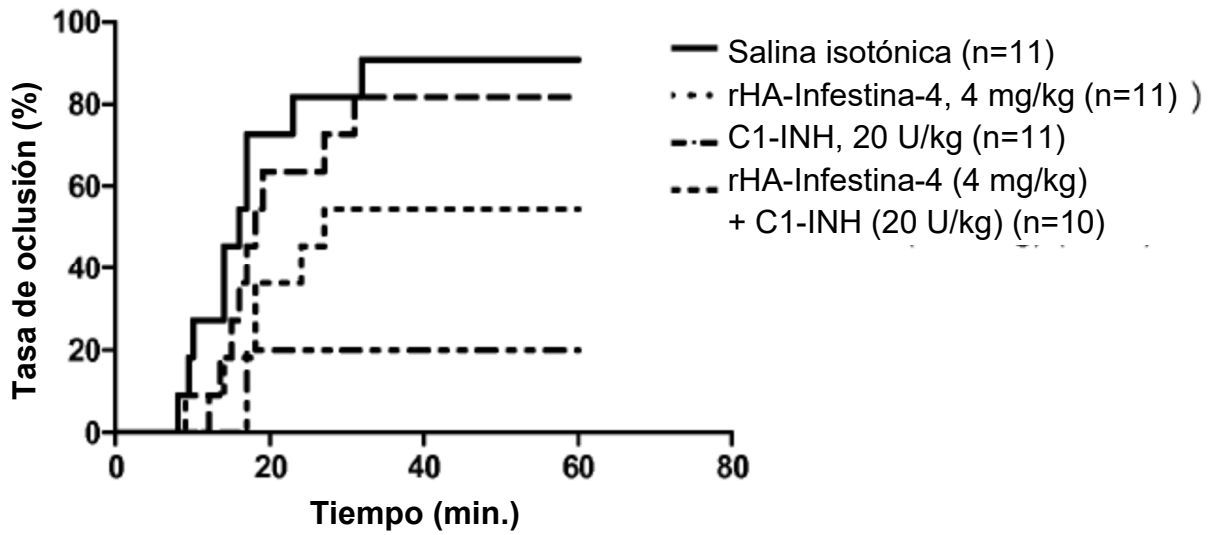


Figura 2

