

**EN LA OFICINA DE RECEPCIÓN DE PATENTES Y MARCAS DE LOS
ESTADOS UNIDOS**

SOLICITUD DE PATENTE INTERNACIONAL PCT

**COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE
ENFERMEDADES O CONDICIONES RELACIONADAS CON INFLAMASOMAS
REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

[0001] La presente solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Estados Unidos con número de serie 16/026.482, presentada el 3 de julio de 2018, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

**DECLARACIÓN SOBRE LA INVESTIGACIÓN PATROCINADA
FEDERALMENTE**

[0002] La presente invención se realizó con el apoyo del gobierno de los EE. UU. con la concesión número 4R42BS086274-02 otorgada por el National Institute of Neurological Disorders and Stroke (Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Accidentes Cerebrovasculares, NINDS), así como la concesión número 5R42NS086274-03 otorgada por el Instituto Nacional de Salud. El gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos sobre la invención.

**DESCRIPCIÓN DEL ARCHIVO DE TEXTO PRESENTADO
ELECTRÓNICAMENTE**

[0003] El contenido del archivo de texto enviado electrónicamente con este documento se incorpora aquí como referencia en su totalidad: Una copia en formato legible por computadora del Listado de secuencias (nombre de archivo: UNMI_010_02WO_SeqList_ST25.txt, fecha de registro: 3 de julio de 2019, tamaño de archivo ~ 19.5 kilobytes).

CAMPO

[0004] La invención se refiere en general a los campos de la inmunología y la medicina. Más particularmente, la invención se refiere a composiciones y métodos para modular la actividad de ASC (proteína tipo Speck asociada a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento activador de caspasa (CARD)) y la actividad del inflamasoma ausente en el melanoma 2 (AIM2) en el sistema nervioso central (SNC) y/o pulmones de un mamífero como tratamientos para reducir la inflamación en respuesta a lesiones o afecciones que producen inflamación en el SNC y/o pulmones. La invención también se refiere a anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que se unen específicamente a ASC.

ANTECEDENTES

[0005] La lesión cerebral traumática grave (TBI) es un problema de salud pública importante y es una causa principal de mortalidad y morbilidad en todo el mundo (Summers, C.R. et al., (2009). Traumatic brain injury in the United States: an epidemiologic overview. Mt Sinai J Med 76, 105-110). Además de la lesión directa del cerebro, la TBI puede provocar complicaciones en otros órganos, como los pulmones. La lesión pulmonar aguda (ALI; 2) es un problema cardiopulmonar común después de un traumatismo y se asocia con una tasa de mortalidad hospitalaria de hasta el 40% (Rincon F. et al., (2012). Impact of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after traumatic brain injury in the United States. Neurosurgery 71, 795-803). Los pacientes con TBI, en particular, son susceptibles de desarrollar ALI, y algunos estudios informan una incidencia de hasta el 30% (Nicolls, M.R. et al., (2014). Traumatic brain injury: lungs in a RAGE. Sci Transl Med 6, 252fs234). Estudios recientes han demostrado que los factores inflamatorios sistémicos pueden provocar disfunción pulmonar y lesión pulmonar después de un TCE (Rincon F. et al., (2012). Impact of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after traumatic brain injury in the United States. Neurosurgery 71, 795-803),

pero el mecanismo molecular preciso que subyace a la lesión pulmonar inducida por TBI sigue estando poco definido.

[0006] Una avalancha de mediadores inflamatorios secretados, que incluyen citoquinas, quimioquinas y patrones moleculares asociados al daño (DAMP) liberados por las células lesionadas, contribuyen a la inflamación del cerebro y afectan los órganos distales como los pulmones (Nicolls, M.R. et al., (2014). Traumatic brain injury: lungs in a RAGE. *Sci Transl Med* 6, 252fs234). Uno de los DAMP más estudiados es el grupo de alta movilidad box-1 (HMGB1), que puede servir como mediador temprano de la inflamación en varios estados patogénicos, incluido el TBI (Andersson U. et al., (2011). Introduction: HMGB1 in inflammation and innate immunity. *J Intern Med* 270, 296-300). Un estudio más reciente ha demostrado que HMGB1 puede estar involucrado en el mecanismo de disfunción pulmonar inducida por TBI (Weber et al., (2014). The HMGB1-RAGE axis mediates traumatic brain injury-induced pulmonary dysfunction in lung transplantation. *Sci Transl Med* 6, 252ra124). La liberación de HMGB1 puede ser regulada por el inflamasoma, un complejo de múltiples proteínas involucrado en la activación de la caspasa-1 y el procesamiento de IL-1 β e IL-18 después de TBI (Lu et al. (2012). Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature* 488, 670-674).

[0007] Se han presentado diversas explicaciones para explicar los mecanismos patológicos de las complicaciones pulmonares después de un TCE, incluido el aumento de la permeabilidad vascular que conduce a la fuga capilar y la infiltración de desechos proteicos (Ware et al., (2000). The Acute Respiratory Distress Syndrome. New England Journal of Medicine 342, 1334-1349). Las vesículas extracelulares (EV) son vesículas contenidas en la membrana que desempeñan un papel en la comunicación de célula a célula (Yanez-Mo, M. et al., (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. J Extracell Vesicles 4, 27066) y se ha implicado que desempeñan un papel en el desarrollo de ALI en un modelo murino inducido por LPS. Además, se ha demostrado que el VE puede transportar citoquinas bioactivas como IL-1 β y proteínas del inflamasoma (Qu, Y. et al., (2007). Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. J Immunol 179, 1913-1925) (de Rivero Vaccari, J.P. et al., (2015). Exosome-mediated inflammasome signaling after central nervous system injury. J Neurochem), y puede desencadenar una respuesta inmune y amplificar la inflamación a través de su carga a las células vecinas y circundantes. Sin embargo, se desconoce si la señalización

del inflamasoma mediada por EV puede contribuir al patomecanismo de ALI inducida por TBI. Además, también se desconoce si los mecanismos patológicos de ALI inducida por TBI son compartidos por otras afecciones que producen inflamación pulmonar. Además, hay una escasez de medicamentos aprobados por la Administración Federal de Drogas (FDA) para tratar la inflamación pulmonar.

[0008] En consecuencia, existe una necesidad urgente no solo de dilucidar los mecanismos patológicos de la inflamación pulmonar causada por TBI así como otras afecciones, sino también el desarrollo de composiciones terapéuticas y usos de las mismas para tratar y/o prevenir la inflamación pulmonar.

SÍNTESIS

[0009] En un aspecto, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une a una proteína similar a Spec asociada a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento activador de caspasa (ASC), en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de ASC, en donde el epítipo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 5-10, 10-15 o 15-20 aminoácidos de SEQ ID NO: 5.

[0010] En otro aspecto, se proporciona en el presente documento un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 o 22. En algunos casos, la ASC es proteína ASC humana. En algunos casos, el fragmento de anticuerpo es un Fab, un F(ab')₂, un Fab', un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo o un anticuerpo de camélido de cadena simple o un anticuerpo de tiburón. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo es humano, humanizado o quimérico. En algunos casos, aquí se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo. En algunos casos, aquí se proporciona un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico. En

algunos casos, aquí se proporciona que la molécula de ácido nucleico está operativamente ligada a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de ácido nucleico en una célula huésped. En algunos casos, en el presente documento se proporciona una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para producir un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une específicamente a ASC, el método comprende: cultivar una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión en condiciones en las que se expresa la molécula de ácido nucleico, produciendo así el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC. En algunos casos, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, en el presente documento se proporciona un método para tratar la inflamación en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, tratando así la inflamación en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al

menos citoquina inflamatoria. En algunos casos, la inflamación es una inflamación relacionada con el inflamasoma. En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se asocia con una lesión del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria o neurodegenerativa. En algunos casos, la lesión del SNC se seleccionó del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). En algunos casos, la enfermedad autoinmune o neurodegenerativa es esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) o esclerosis múltiple (EM). En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se asocia con una enfermedad o trastorno metabólico. En algunos casos, la enfermedad metabólica es síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, un trastorno de almacenamiento de lípidos, una enfermedad de almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no

alcohólica (NASH)) y gota. En algunos casos, la enfermedad autoinflamatoria es el síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS). CAPS puede abarcar el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflamasoma en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción de la actividad de ASC en comparación con un control. En algunos casos, el control es un sujeto no tratado. En algunos casos, la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación. En algunos casos, aquí se proporciona un método para tratar la esclerosis múltiple (EM) en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, tratando así la EM en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la

inhibición de la activación del inflammasoma en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción de la actividad de ASC en comparación con un control. En algunos casos, el control es un sujeto no tratado. En algunos casos, la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación.

[0011] En otro aspecto más, se proporciona aquí un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera (VL) y una región variable de cadena pesada (VH), donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31. En algunos casos, la ASC es proteína ASC humana. En algunos casos, el fragmento de anticuerpo es un Fab, un F(ab')₂, un Fab', un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo o un anticuerpo de camélido de cadena

simple. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo es humano, humanizado o quimérico. En algunos casos, aquí se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo. En algunos casos, aquí se proporciona un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico. En algunos casos, aquí se proporciona que la molécula de ácido nucleico está operativamente ligada a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de ácido nucleico en una célula huésped. En algunos casos, en el presente documento se proporciona una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para producir un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une específicamente a ASC, el método comprende: cultivar una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión en condiciones en las que se expresa la molécula de ácido nucleico, produciendo así el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC. En algunos casos, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, en el

presente documento se proporciona un método para tratar la inflamación en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, tratando así la inflamación en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria. En algunos casos, la inflamación es una inflamación relacionada con el inflamasoma. En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se asocia con una lesión del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria o neurodegenerativa. En algunos casos, la lesión del SNC se seleccionó del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). En algunos casos, la enfermedad autoinmune o neurodegenerativa es esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) o esclerosis múltiple (EM). En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se asocia con una enfermedad o trastorno metabólico. En algunos casos, la enfermedad

metabólica es síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, un trastorno de almacenamiento de lípidos, una enfermedad de almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota. En algunos casos, la enfermedad autoinflamatoria es el síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS). CAPS puede abarcar el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflammasoma en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción de la actividad de ASC en comparación con un control. En algunos casos, el control es un sujeto no tratado. En algunos casos, la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación. En algunos casos, aquí se proporciona un método para tratar la esclerosis múltiple (EM) en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad

terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, tratando así la EM en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflammasoma en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción de la actividad de ASC en comparación con un control. En algunos casos, el control es un sujeto no tratado. En algunos casos, la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación.

[0012] En otro aspecto más, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL

comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 o 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%,

98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la

SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%,

98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende

la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y

en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En algunos casos, la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. En algunos casos, la ASC es una proteína ASC humana. En algunos casos, el fragmento de anticuerpo es un Fab, un F(ab')₂, un Fab', un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo o un anticuerpo de camélido de cadena simple. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo es humano, humanizado o quimérico. En algunos casos, aquí se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo. En algunos casos, aquí se proporciona un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico. En algunos casos, aquí se proporciona que la molécula de ácido nucleico está operativamente ligada a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de

ácido nucleico en una célula huésped. En algunos casos, en el presente documento se proporciona una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para producir un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une específicamente a ASC, el método comprende: cultivar una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión en condiciones en las que se expresa la molécula de ácido nucleico, produciendo así el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC. En algunos casos, en el presente documento se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos casos, en el presente documento se proporciona un método para tratar la inflamación en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, tratando así la inflamación en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria. En algunos casos, la inflamación es una inflamación relacionada con el inflammasoma. En algunos casos, la inflamación relacionada

con el inflamasoma se asocia con una lesión del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria o neurodegenerativa. En algunos casos, la lesión del SNC se seleccionó del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). En algunos casos, la enfermedad autoinmune o neurodegenerativa es esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) o esclerosis múltiple (EM). En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se asocia con una enfermedad o trastorno metabólico. En algunos casos, la enfermedad metabólica es síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, un trastorno de almacenamiento de lípidos, una enfermedad de almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota. En algunos casos, la enfermedad autoinflamatoria es el síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS). CAPS puede abarcar el síndrome

autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflamasoma en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción de la actividad de ASC en comparación con un control. En algunos casos, el control es un sujeto no tratado. En algunos casos, la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación. En algunos casos, aquí se proporciona un método para tratar la esclerosis múltiple (EM) en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo, tratando así la EM en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflamasoma en el sujeto. En algunos casos, la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como

resultado una reducción de la actividad de ASC en comparación con un control. En algunos casos, el control es un sujeto no tratado. En algunos casos, la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0013] La FIG. 1A-1N ilustran la activación del inflamasoma en el tejido cortical y pulmonar de ratón C57/BL6 después del TBI. La FIG. 1A muestra una inmunotransferencia representativa de caspasa-1 activa, ASC, IL-18, IL- β , HMGB1 y AIM2 después de TBI. Caspasa-1 activa (FIG. 1B), ASC (FIG. 1C), IL-18 (FIG. 1D), HMGB1 (FIG. 1E), AIM 2 (FIG. 1F) e IL- β , (FIG. 1G), están significativamente elevados en el tejido cortical a las 4 y 24 h posteriores al TCE. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM; ****p <0,001, ***p <0,01, **p <0,01, *p <0,05 en comparación con la simulación. N = 4-5 por grupo. La FIG. 1H muestra una inmunotransferencia representativa de caspasa-1 activa, ASC, IL-18, IL- β , HMGB1 y AIM2 en tejido pulmonar. I, J, K, L, M, N) Caspasa-1 activa (FIG. 1I), ASC (FIG. 1J), IL-18 (FIG. 1K), HMGB1 (FIG. 1L), AIM 2 (FIG. 1M) e IL- β (FIG. 1N) están significativamente elevados en el tejido pulmonar 4 y 24 h después de la LCT. Los datos se presentan como media $\pm$

SEM. N = 4-5 por grupo, ****p <0,001, ***p <0,01, **p <0,01, *p <0,05 en comparación con la simulación.

[0014] La FIG. 2A-2C ilustra la expresión de proteínas del inflamasoma en células epiteliales alveolares de tipo II. La FIG. 2A muestra AIM2, la FIG. 2B muestra Caspasa-1 activa y la FIG. 2C muestra aumentos de inmunorreactividad de ASC en tejido pulmonar después de CCI (4, 24 h) en comparación con ratones. Imágenes confocales de AIM2, caspasa-1 y ASC (verde) y células epiteliales de tipo II (proteína C surfactante, rojo).

[0015] La FIG. 3A-3E ilustra que el TBI aumenta la expresión de HMGB1 nuclear y citoplásmica en el pulmón de ratones. La FIG. 3A muestra una inmunotransferencia representativa de HMGB1 nuclear después de TBI. La FIG. 3B muestra que la HMGB1 nuclear está significativamente elevada en animales heridos de 4 horas en comparación con la simulación. La FIG. 3C muestra una inmunotransferencia representativa de HMGB1 citoplásmica después de TBI. La FIG. 3D muestra que la HMGB1 citoplásmica está significativamente elevada en animales lesionados de 4 horas en comparación con la simulación. Los datos se presentan como media+/- SEM; *p <0,05 en comparación con la simulación. N = 4-5 por grupo. La FIG. 3E muestra que la inmunorreactividad de HMGB1 aumentó en el tejido pulmonar después de la CCI en comparación con los ratones simulados. Imágenes confocales

de células epiteliales HMGB1 y tipo II (proteína C surfactante, rojo).

[0016] La FIG. 4A-4C ilustra la formación de piroptosomas en los pulmones de ratones 4 horas después del TBI. La FIG. 4A muestra que la TBI induce la formación de escalas de ASC en el tejido pulmonar, lo que indica la formación del piroptosoma, una oligomerización de los dímeros de ASC que conduce a la activación de la caspasa-1 y la piroptosis. La FIG. 4B muestra una inmunotransferencia representativa y la FIG. 4C muestra la cuantificación de gasdermina. La gasdermina-D está significativamente elevada en el tejido pulmonar después de un TCE. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. N = 4-5 por grupo, **p <0,01 en comparación con la simulación.

[0017] La FIG. 5A-5B ilustra que el TBI induce cambios morfológicos alveolares y lesión pulmonar aguda en ratones. La FIG. 5A muestra la tinción H&E de secciones de pulmón de animales falsos y lesionados a las 4 y 24 horas. Las secciones muestran evidencia de infiltración de neutrófilos (puntas de flecha), cambios en la morfología de las membranas capilares alveolares (asterisco, *), edema intersticial (flechas cortas) y evidencia de engrosamiento del intersticio y el tabique alveolar (libra, #). La FIG. 5B muestra que la puntuación de la lesión pulmonar aguda aumenta significativamente en los animales lesionados en

comparación con la simulación a las 4 y 24 horas. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. N = 4-5 por grupo, *p < 0,05 en comparación con la simulación.

[0018] La FIG. 6 ilustra la expresión de CD81 en EV derivado de suero de ratones control y lesionados por TBI. Inmunotransferencia representativa de CD81 en EV derivado de suero de control simulado y ratones lesionados con TBI.

[0019] La FIG. 7A-7G ilustra la transferencia adoptiva de EV de animales con TBI que inducen caspasa-1 y ASC en los pulmones de ratones no lesionados. La FIG. La Fig. 7A ilustra una inmunotransferencia representativa que muestra que la caspasa-1 (Fig. 7B), ASC (Fig. 7C), IL-18 (Fig. 7D), AIM2 (Fig. 7E), HMGB1 (Fig. 7F) están elevadas en los pulmones de animales que recibieron EV aislado de ratones TBI en comparación con EV de animales simulados. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM; *p < 0,05 en comparación con la simulación. N = 3 por grupo. El EV de ratones TBI indujo cambios morfológicos alveolares (tamaño alveolar reducido) e infiltración de células inflamatorias según se determina mediante tinción con H&E (FIG. 7G). La puntuación de ALI aumenta significativamente en los EV suministrados por ratones lesionados en comparación con ratones no lesionados (FIG. 7G). Los datos se presentan como media $\pm$ SEM; **p < 0.01., *p < 0.05 en comparación con el grupo no lesionado.

[0020] La FIG. 8A-8F ilustra el tratamiento con enoxaparina (3 mg/kg) e IC 100 (5 mg/kg) reduce la expresión del inflammasoma en los pulmones de animales a los que se les administró EV de ratones lesionados. La FIG. 8A ilustra una inmunotransferencia representativa que muestra que la caspasa-1 (FIG. 8B), ASC (FIG. 8C), IL-1 β (FIG. 8D), AIM2 (FIG. 8E), HMGB1 (FIG. 8F) se reducen en la pulmones de animales que fueron tratados con enoxaparina e IC 100 en comparación con animales de control positivo no tratados. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM; ****p <0,001, ***p <0,01, **p <0,01, *p <0,05 en comparación con la simulación. N = 4 por grupo.

[0021] La FIG. 9A-9E ilustra el tratamiento con enoxaparina (3 mg/kg) e IC 100 (5 mg/kg) reduce la puntuación de ALI en los pulmones de animales a los que se les administró EV de ratones lesionados. La FIG. 9A-9D ilustra la tinción H&E de secciones de pulmón de solución salina (FIG. 9A), sin tratar (FIG. 9B), enoxaparina (FIG. 9C) e IC 100 (Anti-ASC; FIG. 9D) pulmones de ratones tratados con EV de animales lesionados. Las secciones muestran evidencia de infiltración de neutrófilos, cambios en la morfología de las membranas capilares alveolares, edema intersticial y evidencia de engrosamiento del intersticio y el tabique alveolar. La FIG. 9E ilustra que la puntuación de la lesión pulmonar aguda se reduce significativamente en los animales

tratados con enoxaparina, IC 100 en comparación con los animales no tratados. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. N = 4 por grupo, ****p <0.01., *p <0.05.

[0022] La FIG. 10A-10F ilustra el suministro de EV derivado de suero de pacientes con TBI que da como resultado un aumento de la expresión de la proteína inflammasoma en las células endoteliales pulmonares. La FIG. 10A muestra la representación de transferencia de Western de caspasa-1, ASC, AIM2, HMGB1 en PMVEC después de la incubación con TBI-EV y control-EV durante 4 horas. La FIG. 10B-10E muestra la cuantificación de las transferencias Western, n = 3 filtros por grupo, n = 6 pacientes, prueba t, ****p <0,001, ***p <0,01, **p <0,01, *p <0,05. La FIG. 10F muestra los resultados del inmunoensayo de un aumento significativo en la expresión de IL-1 β utilizando el ensayo plex simple Ella n = 3 filtros por grupo, n = 6 pacientes, prueba t, ****p <0,001, ***p <0,01, * *p <0,01, *p <0,05.

[0023] La FIG. 11A-11C ilustra que la administración de TBI-EV a células endoteliales pulmonares aumenta la inmunorreactividad de la caspasa-1 activa y la muerte celular. La FIG. 11A muestra la colocación de Caspasa-1 FLICA y tinción PI y PMVEC incubado con TBI-EV durante 4 horas. La FIG. La Fig. 11B muestra la tinción de caspsae-1 FLICA y PI en PMVEC incubado con control-EV durante 4 horas. La FIG. 11C muestra el análisis del lector de placas

fluorescentes de PMVEC incubado con TBI y control-EV durante 4 horas. $n = 6$, *** $p < 0,05$.

[0024] La FIG. 12A-12E ilustra que el tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-ASC humanizado (es decir, IC 100) mejora el resultado funcional en EAE. La FIG. 12A muestra el curso clínico de EAE inducida por MOG35-55 en ratones C57BL/6 tratados con portador o dosis crecientes de IC 100. La administración de IC 100 (10, 30 y 45 mg/kg ip cada 4 días) se inició el día 8, antes de que los ratones mostraran signos de parálisis. Los resultados se expresan como puntuación clínica media diaria $\pm$ SEM de 9-10 ratones/grupo. Las curvas de 30 y 45 mg/kg son significativamente diferentes de la curva del portador; ** $p \leq 0,001$ Prueba de Mann-Whitney. La FIG. 12B muestra una comparación de las puntuaciones clínicas máximas (la puntuación de enfermedad más alta alcanzada por un ratón) entre los grupos; * $p \leq 0.05$, prueba t de Student. La FIG. 12C muestra una comparación del Índice de Enfermedad Acumulativo (CDI) entre grupos. El CDI es igual a la suma de todas las puntuaciones desde el día del inicio para cada animal y es una medida de la gravedad de la EAE; * $p \leq 0.05$, prueba t de Student. La FIG. 12D muestra una comparación del día de inicio entre grupos. El día de aparición se considera el día en que un ratón mostró los primeros síntomas de EAE. La FIG. 12E muestra una comparación del

día pico de enfermedad entre grupos. El día pico de enfermedad es el día en que un ratón alcanzó la puntuación más alta de enfermedad. El día de aparición se considera el día en que un ratón mostró los primeros síntomas de EAE.

[0025] La FIG. 13A-13B ilustra que el tratamiento con IC 100 reduce la infiltración de células inmunitarias periféricas en la médula espinal o el bazo después de EAE. Cuantificación por citometría de flujo de las poblaciones de leucocitos que se infiltran en la médula espinal (FIG. 13A) o presentes en el bazo (FIG. 13B) a 35 dpi después de EAE. Los resultados se expresan como promedio $\pm$ SEM de 5 ratones/grupo, *p <0,05, **p <0,001, prueba t de Student.

[0026] La FIG. 14 ilustra que el tratamiento con IC 100 reduce la microglía en la médula espinal después de EAE. Cuantificación por citometría de flujo de microglía total y microglía activada MHCII+ en la médula espinal a 35 dpi después de EAE. Los resultados se expresan como promedio $\pm$ SEM de 5 ratones/grupo, *p <0,05, prueba t de Student.

[0027] La FIG. 15 ilustra la concentración de IC 100 en tejidos. Concentraciones de IC 100 en pg/ml en el cerebro, médula espinal, hígado y bazo en ratones de control y ratones tratados con IC 100 a 10, 30 y 45 mg/kg a 35 dpi después de EAE. Los datos se muestran como media $\pm$ SEM. N = 2-10/ratones por grupo.

[0028] La FIG. 16 ilustra que la IC 100 se capta en motas de ASC en células THP-1 no estimuladas y la captación aumenta mediante la activación del inflamasoma.

[0029] La FIG. 17 ilustra que IC 100 impidió la liberación de IL1-beta de las células THP-1.

[0030] La FIG. 18 muestra imágenes confocales de neuronas de la médula espinal que ilustran que un anticuerpo anti-ASC (IC 100) penetra en las neuronas de la médula espinal.

[0031] La FIG. 19 ilustra una comparación de la unión de anticuerpos de tres anticuerpos diferentes contra ASC humana a diferentes especies.

[0032] La FIG. 20 ilustra la inducción del inflamasoma por nicotina (500 nM) en células del núcleo pulpos humano y tratadas con tres anticuerpos diferentes contra ASC humana (H1, H2, H3) y dos contra ASC de ratón (M1, M2). H1 fue el más eficaz para prevenir la liberación de IL-1beta/activación del inflamasoma.

[0033] La FIG. 21 ilustra los datos del análisis cinético de BLI sin procesar para los anticuerpos monoclonales anti-ASC.

[0034] La FIG. 22 ilustra una comparación de la cinética de tres anticuerpos diferentes contra ASC humana.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

DEFINICIONES

[0035] A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos usados en este documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

[0036] Los encabezados de las secciones utilizados en este documento son solo para fines organizativos y no deben interpretarse como limitantes del objeto descrito. Todos los documentos, o partes de documentos, citados en este documento, incluidas, pero sin limitación, patentes, solicitudes de patente, artículos, libros y tratados, se incorporan expresamente en la presente como referencia en su totalidad para cualquier propósito. En el caso de que uno o más de los documentos incorporados o partes de los documentos definan un término que contradice la definición de ese término en la aplicación, prevalecerá la definición que aparece en esta aplicación. Sin embargo, la mención de cualquier referencia, artículo, publicación, patente, publicación de patente y solicitud de patente citada en este documento no es, y no debe tomarse como un reconocimiento, o cualquier forma de sugerencia, de que constituyen una técnica anterior válida o forman parte del conocimiento general común en cualquier país del mundo.

[0037] El término "un" o "una" se refiere a uno o más de esa entidad, es decir, puede referirse a varios referentes.

Como tal, los términos "un" o "una", "uno o más" y "al menos uno" se usan indistintamente en el presente documento. Además, la referencia a "un elemento" en el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de uno de los elementos, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y solo uno de los elementos.

[0038] A menos que el contexto requiera lo contrario, a lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones, la palabra "comprende" y variaciones de la misma, tales como, "comprende" y "que comprende" deben interpretarse en un sentido abierto, inclusivo que es como "que incluye, pero sin limitación". Debe entenderse que el uso de la alternativa (por ejemplo, "o") significa una, ambas o cualquier combinación de las alternativas. Como se usa en este documento, los términos "aproximadamente" y "que consiste esencialmente en" significan $\pm 20\%$ del rango, valor o estructura indicados, a menos que se indique lo contrario.

[0039] La referencia a lo largo de esta memoria descriptiva a "una realización" o "una forma de realización" significa que una característica, estructura o característica particular descrita en relación con la forma de realización puede incluirse en al menos una forma de realización de la presente divulgación. Por tanto, las apariciones de las

frases "en una realización" o "en una forma de realización" en varios lugares a lo largo de esta especificación pueden no necesariamente referirse todas a la misma forma de realización. Se aprecia que ciertas características de la divulgación, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de formas de realización separadas, también se pueden proporcionar en combinación en una única forma de realización. A la inversa, varias características de la divulgación, que, por brevedad, se describen en el contexto de una única forma de realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

[0040] A lo largo de esta descripción, se pueden presentar varios aspectos de los métodos y composiciones aquí proporcionados en un formato de rango. Debe entenderse que la descripción en formato de rango es simplemente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la invención. Por consiguiente, se debe considerar que la descripción de un rango ha revelado específicamente todos los subrangos posibles así como los valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, la descripción de un rango como de 1 a 6 debe considerarse que tiene subrangos específicamente descritos como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como números

individuales dentro de ese rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango.

[0041] Como se usa en este documento, "proteína" y "polipéptido" se usan como sinónimos para significar cualquier cadena de aminoácidos unida a péptido, independientemente de la longitud o modificación postraducciona, por ejemplo, glicosilación o fosforilación.

[0042] Como se usa en este documento, el término "anticuerpo" se refiere general y ampliamente a moléculas de inmunoglobulinas (Ig) y porciones o fragmentos inmunológicamente activos de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une específicamente (inmunorreacciona con) un antígeno (por ejemplo, ASC, NLRP1, AIM2, etc.). Los anticuerpos proporcionados en este documento pueden ser anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales (mAb), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) contra anticuerpos que se pueden marcar en forma soluble o unida, así como fragmentos activos, regiones o derivados de los mismos. Los anticuerpos para usar en la presente pueden ser quiméricos, humanizados o humanos.

[0043] Por "se une específicamente" o "inmunorreacciona con" se entiende que el anticuerpo reacciona con uno o más determinantes antigénicos del antígeno deseado y no reacciona con otros polipéptidos. En determinadas formas de realización, se dice que un anticuerpo se une específicamente a un antígeno cuando reconoce preferentemente su antígeno diana en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas. El término "anticuerpo" se refiere ampliamente a una molécula de inmunoglobulina (Ig), que generalmente comprende cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), o cualquier fragmento funcional, mutante, variante o derivado de la misma, que retiene las características esenciales de unión a la diana de una molécula de Ig. Tales formatos de anticuerpos mutantes, variantes o derivados son conocidos en la técnica. Dichos anticuerpos anti-ASC y anti-NLRP1 de la presente invención son capaces de unirse a porciones de ASC y NLRP1, respectivamente, que interfieren con la activación de caspasa-1.

[0044] Como se usa en este documento, el término "anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo en donde se introducen porciones mínimas de un anticuerpo no humano en un anticuerpo que de otro modo sería humano.

[0045] Como se usa en este documento, el término "anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo en donde sustancialmente

cada parte de la proteína es sustancialmente no inmunogénica en humanos, con sólo cambios o variaciones menores de secuencia.

[0046] En un anticuerpo de longitud completa, cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada aquí como HCVR o VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada aquí como LCVR o VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL está compuesto por tres CDR y cuatro FR, ordenados desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY) y clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase. Los anticuerpos IgG, IgD e IgE generalmente contienen dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas y dos dominios de combinación de antígenos, cada uno compuesto por una región variable de

cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL). Generalmente, los anticuerpos IgA se componen de dos monómeros, cada monómero compuesto por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras (como los anticuerpos IgG, IgD e IgE); de esta manera, la molécula de IgA tiene cuatro dominios de unión al antígeno, cada uno de ellos compuesto nuevamente por un VH y un VL. Ciertos anticuerpos IgA son monoméricos porque están compuestos por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Los anticuerpos IgM secretados generalmente se componen de cinco monómeros, cada monómero compuesto por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras (como para los anticuerpos IgG e IgE); de esta manera, la molécula de IgM tiene diez dominios de unión al antígeno, cada uno compuesto nuevamente por un VH y un VL. También existe una forma de superficie celular de IgM y esta tiene una estructura de dos cadenas pesadas/dos cadenas ligeras similar a los anticuerpos IgG, IgD e IgE.

[0047] El término "fragmento de unión a antígeno" o "porción de unión a antígeno" o "sitio de unión a antígeno" o "dominio de unión" o "región de unión", como se usa en este documento, puede referirse al dominio, región, porción o sitio de una proteína, polipéptido, oligopéptido o péptido o anticuerpo o dominio de unión derivado de un anticuerpo que retiene la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, proteína ASC). Los dominios de unión

ejemplares incluyen regiones variables de anticuerpos de cadena sencilla (por ejemplo, Anticuerpos de dominio, sFv, scFv, scFab), proteínas de fusión que comprenden una porción de anticuerpo (por ejemplo, un dominio de anticuerpo), ectodominios del receptor y ligandos (por ejemplo, Citocinas, quimioquinas). En una forma de realización, la proteína de fusión comprende una o más CDR(s). En otra forma de realización, la proteína de fusión comprende CDR H3 (VH CDR3) y/o CDR L3 (VL CDR3). Para los fines de esta invención, una proteína de fusión contiene uno o más anticuerpos y una secuencia de aminoácidos adicional como, por ejemplo, una secuencia heteróloga o una secuencia homóloga de otra región, unida al extremo N o C del anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo. Las secuencias heterólogas ejemplares incluyen, pero sin limitación, una "etiqueta" tal como una etiqueta FLAG o una etiqueta 6His o una enzima o un polipéptido que aumenta la vida media del anticuerpo en la sangre. Las etiquetas son bien conocidas en la técnica. La secuencia de aminoácidos adicional, que puede incluir fusiones amino- y/o carboxilo-terminales, puede variar en longitud desde un residuo hasta polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuencia de residuos de aminoácidos únicos o múltiples.

[0048] Generalmente, un sitio de unión a antígeno puede estar formado por los dominios de inmunoglobulina de la región variable de la cadena pesada (VH) y de la región variable de la cadena ligera (VL), con la interfaz de unión al antígeno formada por seis bucles de polipéptidos de superficie, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR). Hay tres CDR cada uno en VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) y VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), junto con regiones marco (FR). En ciertas formas de realización, el dominio de unión comprende o consiste en un sitio de unión de antígeno (por ejemplo, que comprende una secuencia de cadena pesada variable y una secuencia de cadena ligera variable o tres regiones determinantes complementarias de cadena ligera (CDR) y tres CDR de cadena pesada de un anticuerpo colocado en regiones marco (FR) (por ejemplo, FR humanas que comprenden opcionalmente una o más sustituciones de aminoácidos).

[0049] El término "región CDR" o "CDR" puede significar las regiones hipervariables de las cadenas pesadas o ligeras de la inmunoglobulina como se define por Kabat et al., 1991 (Kabat, EA et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington), y ediciones posteriores. Un anticuerpo

contiene típicamente 3 CDR de cadena pesada y 3 CDR de cadena ligera.

[0050] Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Las formas de realización de anticuerpos y fragmentos de anticuerpos también pueden ser formatos biespecíficos, triespecíficos, de doble especificidad o multiespecíficos; unirse específicamente a dos o más antígenos diferentes. Los ejemplos de fragmentos de unión englobados en el término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen: (i) un fragmento Fab que consta de dominios VL, VH, CL y CH1 (Ward, ES et al., (1989) Nature 341, 544- 546); (ii) un fragmento Fd que consta de los dominios VH y CH1 (McCafferty et al., (1990) Nature, 348, 552-554); (iii) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo anticuerpo (Holt et al., (2003) Trends in Biotechnology 21, 484-490); (iv) un fragmento dAb (Ward, ES et al., Nature 341, 544-546 (1989), McCafferty et al., (1990) Nature, 348, 552-554, Holt et al., (2003) Trends in Biotechnology 21, 484-490], que consta de un dominio VH o VL; (v) regiones CDR aisladas; (vi) fragmentos F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados (vii) Fv de cadena sencilla moléculas (scFv), en las que un dominio VH y un dominio VL están unidos por un enlazador peptídico que permite que los

dos dominios se asocien para formar un sitio de unión al antígeno (Bird et al., (1988) Science, 242, 423-426, Huston et al., (1988) PNAS USA, 85, 5879-5883). La invención también abarca un fragmento Fab'. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, utilizando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permita fabricarse como una única cadena de proteína en la que las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenario (scFv)). Dichos anticuerpos monocatenarios son también se pretende que esté incluido dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. En determinadas formas de realización de la invención, se pueden incorporar moléculas scFv en una proteína de fusión. En algunas formas de realización, la invención incluye un anticuerpo de camélido de cadena sencilla; (viii) dímeros Fv monocatenarios biespecíficos (PCT/US92109965) y (ix) "diacuerpos", fragmentos multivalentes o multiespecíficos contruidos por fusión génica (WO94/13804; Holliger, P. (1993) et al., Proc. Natl. Acad Sci. USA 90 6444-6448). Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes, biespecíficos en los que los dominios VH y VL se expresan en una sola cadena polipeptídica, pero que utilizan un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los

dos dominios de la misma cadena, lo que obliga a los dominios a emparejarse con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de unión al antígeno (véase, por ejemplo, Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448; Poljak, RJ, et al. (1994) Structure 2: 1121-1123). Tales fragmentos de unión de anticuerpos son conocidos en la técnica (Kontermann y Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag. New York. 790 págs.). En algunos aspectos, la invención incluye un anticuerpo de dominio único. En general, el término "anticuerpo" cuando se usa en este documento abarca un "fragmento de anticuerpo". Un fragmento de anticuerpo generalmente conserva las propiedades de unión al antígeno de un anticuerpo de longitud completa.

[0051] Las moléculas de Fv, scFv o de diacuerpo pueden estabilizarse mediante la incorporación de puentes disulfuro que unen los dominios VH y VL (Reiter, Y. et al., Nature Biotech, 14, 1239-1245, 1996). También se pueden preparar minicuerpos que comprenden un scFv unido a un dominio CH3 (Hu, S. et al., (1996) Cancer Res., 56, 3055-3061). Otros ejemplos de fragmentos de unión pueden ser Fab', que se diferencia de los fragmentos Fab por la adición de algunos residuos en el extremo carboxilo del dominio CH1 de la cadena pesada, incluidas una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo, y Fab'-SH, que es un

fragmento Fab', en donde el o los residuos de cisteína de los dominios constantes llevan un grupo tiol libre.

[0052] "Fv", cuando se usa en el presente documento, puede referirse al fragmento mínimo de un anticuerpo que retiene tanto los sitios de reconocimiento de antígeno como de unión a antígeno. "Fab" cuando se usa en este documento puede referirse a un fragmento de un anticuerpo que comprende el dominio constante de la cadena ligera y el dominio CH1 de la cadena pesada. El término "mAb" se refiere a un anticuerpo monoclonal.

[0053] La "región Fc" o el "dominio Fc" se refiere a una secuencia de polipéptidos correspondiente o derivada de la porción de un anticuerpo fuente que es responsable de la unión a los receptores de anticuerpos en las células y el componente C1q del complemento. Fc significa "fragmento cristalino", el fragmento de un anticuerpo que formará fácilmente un cristal de proteína. Los distintos fragmentos de proteínas, que se describieron originalmente mediante digestión proteolítica, pueden definir la estructura general de una proteína inmunoglobulina. Como se definió originalmente en la bibliografía, el fragmento Fc consta de las regiones de bisagra de cadena pesada unidas por disulfuro, dominios CH2 y CH3. Sin embargo, más recientemente el término se ha aplicado a una cadena sencilla que consta de CH3, CH2 y al menos una porción de

la bisagra suficiente para formar un dímero unido por enlaces disulfuro con una segunda cadena de este tipo. Para una revisión de la estructura y función de las inmunoglobulinas, ver Putnam, *The Plasma Proteins*, Vol. V (Academic Press, Inc., 1987), pp. 49-140; and Padlan, *Mol. Immunol.* 31:169-217, 1994. Como se usa en este documento, el término Fc incluye variantes de secuencias de origen natural. En una forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos derivados de los mismos proporcionados en este documento (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-ASC o fragmentos de anticuerpos de los mismos) tienen una región o dominio Fc modificado. En algunos casos, la región o el dominio Fc modificado puede conferir una mayor estabilidad térmica al anticuerpo resultante o al fragmento de anticuerpo derivado del mismo. La mayor estabilidad térmica puede resultar en un aumento de la vida media en suero. La región o dominio Fc se puede modificar como se describe en el documento US20160193295, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia. Como se describe en el documento US20160193295, la región o dominio Fc puede modificarse para poseer una delección de uno o más residuos de cisteína en la región bisagra y sustitución con un residuo que contiene sulfhidrilo de uno o más aminoácidos de la interfaz CH3. En otra forma de realización, la región Fc o el dominio de los

anticuerpos o fragmentos de anticuerpos derivados de los mismos proporcionados en este documento (por ejemplo, los anticuerpos monoclonales anti-ASC o fragmentos de anticuerpos de los mismos) se pueden estabilizar modificando la región Fc para que posea enlaces disulfuro intradominio como se describe en Wozniak-Knopp G, Stadlmann J, Rüker F (2012) Stabilisation of the Fc Fragment of Human IgG1 by Engineered Intradomain Disulfide Bonds. PLoS ONE 7(1): e30083, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia. En otra forma de realización más, los anticuerpos tienen regiones Fc modificadas como se describe en el documento WO 99/58572, que se incorpora aquí como referencia. En otras formas de realización más, la región o dominio Fc puede modificarse como se describe en el documento US9574010, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia.

[0054] Por los términos "proteína tipo Speck asociada a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento activador de caspasa (CARD)" y "ASC" se entiende un producto de expresión de un gen ASC o isoformas del mismo, o una proteína que comparte al menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%) identidad de secuencia de aminoácidos con ASC (por ejemplo, NP_037390 (Q9ULZ3-1), NP_660183 (Q9ULZ3-2) o Q9ULZ3-3 en humanos, NP_075747 en ratón o NP_758825 (BAC43754) en ratas) y muestra una

actividad funcional de ASC. Una "actividad funcional" de una proteína es cualquier actividad asociada con la función fisiológica de la proteína. Las actividades funcionales de ASC incluyen, por ejemplo, el reclutamiento de proteínas para la activación de caspasa-1 y el inicio de la muerte celular.

[0055] Por el término "gen ASC" o "ácido nucleico ASC" se entiende una secuencia de ácido nucleico que codifica ASC nativa, secuencias genómicas a partir de las cuales se puede transcribir el ADNc de ASC y/o variantes alélicas y homólogos de los anteriores. Los términos abarcan ADN bicatenario, ADN monocatenario y ARN.

[0056] Como se usa en este documento, el término "inflammasoma" significa un complejo de múltiples proteínas (por ejemplo, al menos dos proteínas) que activa la caspasa-1. Además, el término "inflammasoma" puede referirse a un complejo de múltiples proteínas que activa la actividad caspasa-1, que a su vez regula el procesamiento y la activación de IL-1 β , IL-18 e IL-33. Ver Arend et al. 2008; Li et al. 2008; y Martinon et al. 2002, cada uno de los cuales se incorpora por referencia en su totalidad. Los términos "inflammasoma NLRP1", "inflammasoma NALP1", "inflammasoma NLRP2", "inflammasoma NALP2", "inflammasoma NLRP3", "inflammasoma NALP3", "inflammasoma NLRC4", "inflammasoma IPAF" o "inflammasoma AIM2" significan un

complejo proteico de al menos caspasa-1 y una proteína adaptadora, por ejemplo, ASC. Por ejemplo, los términos "inflammasoma NLRP1" e "inflammasoma NALP1" pueden significar un complejo multiproteico que contiene NLRP1, ASC, caspasa-1, caspasa-11, XIAP y pannexina-1 para la activación de caspasa-1 y procesamiento de interleuquina-1 β ., interleuquina-18 e interleuquina-33. Los términos "inflammasoma NLRP2" e "inflammasoma NALP2" pueden significar un complejo multiproteico que contiene NLRP2 (también conocido como NALP2), ASC y caspasa-1, mientras que los términos "inflammasoma NLRP3" e "inflammasoma NALP3" pueden significar un complejo multiproteico que contiene NLRP3 (también conocido como NALP3), ASC y los términos "inflammasoma NLRC4" e "inflammasoma IPAF" pueden significar un complejo multiproteico que contiene NLRC4 (también conocido como IPAF), ASC y caspasa-1. Además, el término "Inflammasoma AIM2" puede significar un complejo multiproteico que comprende AIM2, ASC y caspasa-1.

[0057] Como se usa en este documento, la frase "identidad de secuencia" significa el porcentaje de subunidades idénticas en las posiciones correspondientes en dos secuencias (por ejemplo, secuencias de ácido nucleico, secuencias de aminoácidos) cuando las dos secuencias se alinean para maximizar el emparejamiento de subunidades, es decir, tomando en cuenta los huecos y las inserciones. La

identidad de la secuencia se puede medir utilizando un software de análisis de secuencias (por ejemplo, el paquete de software de análisis de secuencias de Accelrys CGC, San Diego, CA).

[0058] Las frases "cantidad terapéuticamente eficaz" y "dosis eficaz" se refieren a una cantidad suficiente para producir un resultado terapéuticamente (por ejemplo, clínicamente) deseable; la naturaleza exacta del resultado variará dependiendo de la naturaleza del trastorno que se esté tratando. Por ejemplo, cuando el trastorno a tratar es una LME, el resultado puede ser una mejora en las habilidades motoras y la función locomotora, una disminución de la lesión de la médula espinal, etc. Las composiciones descritas en este documento pueden administrarse de una o más veces al día a una o más veces por semana. El experto en la materia apreciará que ciertos factores pueden influir en la dosis y el tiempo necesarios para tratar eficazmente a un sujeto, incluidos, pero sin limitación, la gravedad de la enfermedad o trastorno, tratamientos previos, la salud general y/o la edad del sujeto, y otras enfermedades presentes. Además, el tratamiento de un sujeto con una cantidad terapéuticamente eficaz de las composiciones de la invención puede incluir un único tratamiento o una serie de tratamientos.

[0059] Como se usa en este documento, el término "tratamiento" se define como la aplicación o administración de un agente terapéutico descrito en este documento, o identificado mediante un método descrito en este documento, a un paciente, o la aplicación o administración del agente terapéutico a un tejido aislado o línea celular de un paciente, que tiene una enfermedad, un síntoma de enfermedad o una predisposición a una enfermedad, con el propósito de curar, sanar, aliviar, aliviar, alterar, remediar, mejorar o afectar la enfermedad, los síntomas de enfermedad, o la predisposición a la enfermedad.

[0060] Los términos "paciente", "sujeto" e "individuo" se usan indistintamente en este documento y significan un sujeto mamífero a tratar. En una forma de realización, el paciente mamífero es un ser humano. En algunos casos, los métodos de la invención encuentran uso en animales de experimentación, en aplicaciones veterinarias y en el desarrollo de modelos animales para enfermedades, que incluyen, pero sin limitación, roedores, incluidos ratones, ratas y hámsteres, así como primates.

[0061] Como se usa indistintamente en el presente documento, "Ausente en el melanoma 2" y "AIM2" pueden significar un producto de expresión de un gen AIM2 o isoformas; o una proteína que comparte al menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de

secuencia de aminoácidos con AIM2 (por ejemplo, número de acceso(s) NX_014862, NP004824, XP016858337, XP005245673, AAB81613, BAF84731, AAH10940) y muestra una actividad funcional de AIM2.

[0062] Como se usa indistintamente en el presente documento, "proteína 1 que contiene dominios NACHT, LRR y PYD", "NALP1" y "NLRP1" significan un producto de expresión de un gen o isoformas de NALP1 o NLRP1; o una proteína que comparte al menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con NALP1 (por ejemplo, número de acceso) AAH51787, NP_001028225, NP_127500, NP_127499, NP_127497, NP055737) y muestra una actividad funcional de NALP1.

[0063] Como se usa indistintamente en el presente documento, "NALP2" y "NLRP2" significan un producto de expresión de un gen o isoformas de NALP2 o NLRP2; o una proteína que comparte al menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con NALP2 (por ejemplo, números de acceso NP_001167552, NP_001167553, NP_001167554 o NP_060322) y muestra una actividad funcional de NALP2.

[0064] Como se usa indistintamente en el presente documento, "NALP3" y "NLRP3" significan un producto de expresión de un gen o isoformas de NALP3 o NLRP3; o una proteína que comparte al menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%,

95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con NALP3 (por ejemplo, números de acceso NP_001073289, NP_001120933, NP_001120934, NP_001230062, NP_004886, NP_899632, XP_011542350, XP_016855670, XP_016855671, XP_016855672 o XP_016855673) y muestra una actividad funcional de NALP3.

[0065] Como se usan indistintamente en el presente documento, "NLRC4" e "IPAF" significan un producto de expresión de un gen o isoformas de NLRC4 o IPAF; o una proteína que comparte al menos 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia de aminoácidos con NLRC4 (por ejemplo, números de acceso NP_001186067, NP001186068, NP_001289433 o NP_067032) y muestra una actividad funcional de NLRC4.

[0066] Los términos "accidente cerebrovascular" y "accidente cerebrovascular isquémico" se refieren a cuando se interrumpe el flujo sanguíneo a parte del cerebro o la médula espinal.

[0067] Por "lesión traumática del SNC" se entiende cualquier agresión al SNC por una fuerza mecánica externa, que posiblemente conduzca a alteraciones permanentes o temporales de la función del SNC.

[0068] En este documento se describen métodos que implican técnicas convencionales de biología molecular. Tales técnicas son generalmente conocidas en la técnica y se

describen en detalle en tratados de metodología tales como Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3^a ed., Vol. 1-3, ed. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 2001; and Current Protocols in Molecular Biology, ed. Ausubel et al., Greene Publishing y Wiley-Interscience, Nueva York, 1992 (con actualizaciones periódicas). Las técnicas de inmunología son generalmente conocidas en la técnica y se describen en detalle en tratados de metodología tales como Advances in Immunology, volume 93, ed. Frederick W. Alt, Academic Press, Burlington, MA, 2007; Making and Using Antibodies: A Practical Handbook, eds. Gary C. Howard and Matthew R. Kaser, CRC Press, Boca Raton, FL, 2006; Medical Immunology, 6th ed., editado por Gabriel Virella, Informa Healthcare Press, London, England, 2007; y Harlow and Lane ANTIBODIES: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988.

[0069] Aunque se pueden usar composiciones y métodos similares o equivalentes a los descritos en este documento en la práctica o ensayo de la presente invención, a continuación se describen composiciones y métodos adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patente y patentes mencionadas en este documento se incorporan como referencia en su totalidad. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las

definiciones. Las formas de realización particulares discutidas a continuación son solo ilustrativas y no pretenden ser limitantes.

VISIÓN GENERAL

[0070] En el presente documento se proporcionan anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos que se unen específicamente a la proteína de tipo Spec asociada a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento activador de caspasa (ASC). Los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos pueden unirse específicamente a un fragmento antigénico de ASC que comprende, consiste o consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 5. Además de esta forma de realización, la invención contempla el uso de anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. En una forma de realización, los anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos proporcionados en este documento se pueden usar en un método para reducir la inflamación en un mamífero como se describe en el documento US 8.685.400, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. La inflamación puede estar en

los pulmones y/o en el sistema nervioso central (SNC). La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. El anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización puede estar presente en una composición tal

como, por ejemplo, una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo se usa en combinación con uno o más de otros agentes en los métodos de tratamiento proporcionados aquí. Los otros agentes pueden ser cualquier agente proporcionado en la presente (por ejemplo, inhibidores de la captación de EV) y/o anticuerpos o fragmentos de anticuerpos dirigidos contra otros componentes del inflamasoma (por ejemplo, IL-18, caspasa-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0071] La invención también abarca anticuerpos monoclonales o sus fragmentos de anticuerpo que se unen específicamente a ASC, donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), donde la región VH La secuencia de aminoácidos comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3. Además de esta forma de realización, la invención contempla el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflamasoma. En una forma de realización, los anticuerpos monoclonales

o fragmentos de anticuerpos de los mismos proporcionados en este documento se pueden usar en un método para reducir la inflamación en un mamífero como se describe en el documento US 8.685.400, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación inmune innata o relacionada con el inflammasoma en el paciente. La reducción se puede comparar con un control

(por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar una lesión del sistema nervioso central (SNC) y/o una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria, metabólica o neurodegenerativa. La lesión del SNC se puede seleccionar del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). La enfermedad autoinmune o neurodegenerativa puede seleccionarse entre esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson (EP), distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) y esclerosis múltiple (EM). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EP administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EP. En una forma de

realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la nefritis lúpica administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece nefritis lúpica. La enfermedad metabólica se puede seleccionar entre síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, un trastorno por almacenamiento de lípidos, una enfermedad por almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la nefropatía diabética administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece nefropatía diabética. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar NASH administrando el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece NASH. La enfermedad autoinflamatoria puede ser síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS).

CAPS puede abarcar el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar CAPS administrando el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece CAPS. El anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización puede estar presente en una composición tal como, por ejemplo, una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo se usa en combinación con uno o más de otros agentes en los métodos de tratamiento proporcionados aquí. Los otros agentes pueden ser cualquier agente proporcionado en la presente (por ejemplo, inhibidores de la captación de EV) y/o anticuerpos o fragmentos de anticuerpos dirigidos contra otros componentes del inflammasoma (por ejemplo, IL-18, caspasa-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0072] En algunas formas de realización, la invención proporciona anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos que se unen específicamente a ASC, donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera (VL) y una

región variable de cadena pesada (VH), donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3. Además de esta forma de realización, la invención contempla el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. En una forma de realización, los anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos proporcionados en este documento se pueden usar en un método para reducir la inflamación en un mamífero como se describe en el documento US 8.685.400, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral

amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación inmune innata o relacionada con el inflamasoma en el paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar una lesión del sistema nervioso central (SNC) y/o una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria, metabólica o neurodegenerativa. La lesión del SNC se puede seleccionar del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). La enfermedad autoinmune o neurodegenerativa puede seleccionarse entre esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson (EP), distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por

ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) y esclerosis múltiple (EM). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EP administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EP. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la nefritis lúpica administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece nefritis lúpica. La enfermedad metabólica se puede seleccionar entre síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, un trastorno por almacenamiento de lípidos, una enfermedad por almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota. En una forma de realización, el

anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la nefropatía diabética administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece nefropatía diabética. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar NASH administrando el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece NASH. La enfermedad autoinflamatoria puede ser síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS). CAPS puede abarcar el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar CAPS administrando el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece CAPS. El anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización puede estar presente en una composición tal como, por ejemplo, una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo se usa en combinación con uno o más de otros agentes en los métodos

de tratamiento proporcionados aquí. Los otros agentes pueden ser cualquier agente proporcionado en la presente (por ejemplo, inhibidores de la captación de EV) y/o anticuerpos o fragmentos de anticuerpos dirigidos contra otros componentes del inflamasoma (por ejemplo, IL-18, caspasa-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0073] En otras formas de realización, la invención también proporciona anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos que se unen específicamente a ASC, donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3. Además de esta forma de realización, la invención contempla el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el

inflammasoma. En una forma de realización, los anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos proporcionados en este documento se pueden usar en un método para reducir la inflamación en un mamífero como se describe en el documento US 8.685.400, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo (en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación inmune innata o relacionada con el inflammasoma en el

paciente. La reducción puede compararse con un control (por ejemplo, Paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar una lesión del sistema nervioso central (SNC) y/o una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria, metabólica o neurodegenerativa. La lesión del SNC se puede seleccionar del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). La enfermedad autoinmune o neurodegenerativa puede seleccionarse entre esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson (EP), distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) y esclerosis múltiple (EM). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EP administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente

que padece o se sospecha que padece EP. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la nefritis lúpica administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece nefritis lúpica. La enfermedad metabólica se puede seleccionar entre síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, un trastorno por almacenamiento de lípidos, una enfermedad por almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la nefropatía diabética administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece nefropatía diabética. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar NASH administrando el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece NASH. La enfermedad autoinflamatoria

puede ser síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS). CAPS puede abarcar el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar CAPS administrando el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece CAPS. El anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización puede estar presente en una composición tal como, por ejemplo, una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o fragmento del mismo se usa en combinación con uno o más de otros agentes en los métodos de tratamiento proporcionados aquí. Los otros agentes pueden ser cualquier agente proporcionado en la presente (por ejemplo, inhibidores de la captación de EV) y/o anticuerpos o fragmentos de anticuerpos dirigidos contra otros componentes del inflamasoma (por ejemplo, IL-18, caspasa-1, NALP1, AIM2, etc.).

[0074] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para reducir la inflamación inmune innata o relacionada con el inflamasoma. En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se encuentra

en el SNC de un mamífero que ha sido sometido o se ve afectado por una afección que produce o causa una inflamación innata o relacionada con el inflamasoma. En algunos casos, la inflamación relacionada con el inflamasoma se encuentra en un mamífero (por ejemplo, un ser humano) que padece o se sospecha que está afectado por una afección que está asociada, da como resultado o causa una inflamación innata o relacionada con el inflamasoma. La afección que produce o causa una inflamación inmune innata o relacionada con el inflamasoma puede ser una lesión del SNC, una enfermedad o trastorno autoinmune, autoinflamatorio, neurodegenerativo y/o metabólico. La lesión del SNC se puede seleccionar del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI). La enfermedad autoinmune o neurodegenerativa puede seleccionarse entre esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson (EP), distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) y esclerosis múltiple (EM). La enfermedad metabólica se puede seleccionar entre síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia

a la insulina, aterosclerosis, un trastorno por almacenamiento de lípidos, una enfermedad por almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media, enfermedad del hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota. La enfermedad autoinflamatoria puede ser síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS). CAPS puede abarcar el síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS), el síndrome de Muckle-Wells (MWS) y la enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID). Las composiciones y métodos descritos en este documento pueden incluir anticuerpos o fragmentos activos de los mismos como se proporciona en este documento que se unen específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC) de un inflamasoma de mamífero y/o compuestos que modulan (por ejemplo, inhiben o reducen) la vesícula extracelular (EV) captación y uso como tratamientos para la inflamación del SNC en un mamífero. Ejemplos de afecciones que pueden provocar inflamación en el SNC incluyen una lesión del SNC (por ejemplo, Lesión de la médula espinal (SCI), lesión cerebral traumática (TBI) o accidente cerebrovascular), una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad autoinmune (por ejemplo, EM), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial o síndrome de dificultad

respiratoria aguda. La composición se puede administrar en una cantidad terapéuticamente eficaz. La cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una dosis como se proporciona en este documento. El agente puede ser un inhibidor de la captación de vesículas extracelulares (EV) y/o un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une a un componente de un inflammasoma o una combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0075] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la esclerosis múltiple (EM) en un sujeto que padece o se sospecha que padece EM. Los métodos para tratar la EM proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece EM. La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune que afecta el cerebro y la médula espinal. El sujeto puede presentar síntomas clínicos compatibles con la EM. El sujeto puede ser diagnosticado con cualquier tipo de EM conocido en la

técnica. La EM puede ser EM remitente-recurrente (EMRR), EM secundaria progresiva (SPMS), EM primaria progresiva (PPMS) o EM progresiva con recaída (PRMS). El diagnóstico de EM puede determinarse o puede haberse determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene EM utilizando los métodos detallados en el documento US 62/560.963, presentado el 20 de septiembre de 2017, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para la EM, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflammasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar de atención puede seleccionarse de terapias dirigidas a modificar el resultado de la enfermedad, controlar las recaídas, controlar los síntomas o cualquier

combinación de los mismos. Las terapias dirigidas a modificar el resultado de la enfermedad pueden seleccionarse entre interferones beta, acetato de glatiramer, fingolimod, teriflunomida, dimetilfumarato, mitoxantrona, ocrelizumab, alemtuzumab, daclizumab y natalizumab.

[0076] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la enfermedad de Parkinson (EP) en un sujeto que padece o se sospecha que padece EP. Los métodos para tratar la EP proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece EP. La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno progresivo del sistema nervioso que afecta el movimiento debido a la degradación gradual y/o la muerte de las células nerviosas en el cerebro de un mamífero (por ejemplo, un ser humano) que padece EP. La EP puede ocurrir y/o progresar a través de cinco etapas (es decir, etapas 1 a 5) y las composiciones y métodos proporcionados en este documento pueden usarse para tratar a un individuo que padece o se sospecha que padece EP en cualquiera de las cinco etapas. El diagnóstico de EP puede determinarse o puede haberse determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización,

se ha diagnosticado que el sujeto tiene EP utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para la EP, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflammasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar puede seleccionarse de carbidopa (Lodosyn), combinación de levodopa carbidopa-levodopa, Duopa, agonistas de la dopamina, inhibidores de la MAO B, inhibidores de la catecol O-metiltransferasa (COMT), anticolinérgicos, amantadina y estimulación cerebral profunda. Los agonistas de la dopamina se pueden seleccionar entre pramipexol (Mirapex), ropinirol (Requip) y rotigotina (Neupro). Los inhibidores de la MAO B se pueden seleccionar entre selegilina

(Eldepryl, Zelapar), rasagilina (Azilect) y safinamida (Xadago). Los inhibidores de COMT se pueden seleccionar entre Entacapone (Comtan) y Tolcapone (Tasmar). El anticolinérgico se puede seleccionar entre benztropina (Cogentin) o trihexifenidilo.

[0077] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer (EA) en un sujeto que padece o se sospecha que padece EA. Los métodos para tratar la EA proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece AD. La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno progresivo del sistema nervioso que hace que las células cerebrales se degeneren y mueran en personas que padecen EA y progresa desde un deterioro cognitivo leve (DCL) hasta una pérdida total de la memoria e incluso cambios en la personalidad y el comportamiento. El diagnóstico de EA puede determinarse o puede haberse determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene EA utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un

tratamiento estándar conocido en la técnica para la EA, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflammasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar de atención se puede seleccionar entre inhibidores de la colinesterasa y memantina (Namenda). Los inhibidores de la colinesterasa se pueden seleccionar entre donepezil (Aricept), galantamina (Razadyne) y rivastigmina (Exelon).

[0078] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la artritis reumatoide (AR) en un sujeto que padece o se sospecha que padece AR. Los métodos para tratar la AR proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece AR. La artritis reumatoide

(AR) es un trastorno inflamatorio autoinmune crónico que puede causar daño a las articulaciones de un individuo, así como a la piel, ojos, pulmones, corazón y vasos sanguíneos. El diagnóstico de AR se puede o se puede haber determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene AR utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar de atención conocido en la técnica para la AR, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflamasma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar de atención puede seleccionarse entre fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE), esteroides (por ejemplo, Prednisona),

fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) y agentes biológicos. Los AINE pueden incluir ibuprofeno (Advil, Motrin IB) y naproxeno sódico (Aleve). Los DMARD pueden incluir metotrexato (Trexall, Otrexup, otros), leflunomida (Arava), hidroxicloroquina (Plaquenil) y sulfasalazina (Azulfidina). Los agentes biológicos pueden incluir abatacept (Orencia), adalimumab (Humira), anakinra (Kineret), baricitinib (Olmiant), certolizumab (Cimzia), etanercept (Enbrel), golimumab (Simponi), infliximab (Remicade), rituximab (Rituxan), sarilumab (Kevzara), tocilizumab (Actemra) y tofacitinib (Xeljanz).

[0079] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la nefritis lúpica en un sujeto que padece o se sospecha que padece nefritis lúpica. Los métodos para tratar la nefritis lúpica proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, Una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece nefritis lúpica. La nefritis lúpica es un tipo de inflamación renal que a menudo es una complicación común del lupus eritematoso sistémico a menudo denominado simplemente lupus. La nefritis lúpica es una enfermedad autoinmune en la que los autoanticuerpos contra el lupus afectan las estructuras de los riñones de un individuo, lo

que puede provocar inflamación renal, así como hematuria, proteinuria, presión arterial alta, deterioro de la función renal o incluso insuficiencia renal. El diagnóstico de nefritis lúpica se puede o se puede haber determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene nefritis lúpica utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para la nefritis lúpica, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflamasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar de atención para la nefritis lúpica puede incluir medicamentos para controlar la presión arterial y/o una dieta especial baja en proteínas

y sal. Además, el tratamiento estándar para la nefritis lúpica puede ser tratamientos para el lupus como, por ejemplo, medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINE), medicamentos antipalúdicos, corticosteroides (por ejemplo, prednisona; metilprednisolona), inmunosupresores o agentes biológicos. Los ejemplos de AINE pueden incluir naproxeno sódico (Aleve) e ibuprofeno (Advil, Motrin IB, otros). Un ejemplo de fármaco antipalúdico puede ser la hidroxicloroquina (Plaquenil). Los ejemplos de inmunosupresores pueden incluir azatioprina (Imuran, Azasan), micofenolato de mofetilo (CellCept) y metotrexato (Trexall). Los ejemplos de productos biológicos pueden incluir belimumab (Benlysta) o rituximab (Rituxan).

[0080] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) en un sujeto que padece o se sospecha que padece NASH. Los métodos para tratar NASH proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece NASH. NASH es un tipo de enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD). NAFLD es un término genérico para una variedad de afecciones hepáticas que afectan a las personas que beben poco o nada de alcohol. La característica principal de NAFLD es

demasiada grasa almacenada en las células del hígado y está marcada por la inflamación del hígado, que puede progresar a cicatrices y daño irreversible. Este daño puede ser similar al causado por el consumo excesivo de alcohol. En su forma más grave, la esteatohepatitis no alcohólica puede progresar a cirrosis e insuficiencia hepática. El diagnóstico de NASH se puede o se puede haber determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene NASH utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para NASH, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une a un componente de un inflamasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento

estándar para la EHNA puede incluir cambios en el estilo de vida, como perder peso, aumentar el ejercicio, evitar los medicamentos que dañan el hígado, reducir el colesterol y/o controlar la diabetes.

[0081] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la nefropatía diabética en un sujeto que padece o se sospecha que padece nefropatía diabética. Los métodos para tratar la nefropatía diabética proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece nefropatía diabética. La nefropatía diabética es una complicación grave relacionada con el riñón de la diabetes de tipo 1 y la diabetes de tipo 2 que también puede denominarse enfermedad renal diabética (DKD). El diagnóstico de DKD puede o puede haberse determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene DKD utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para la DKD, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de

la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflammasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar de atención para la nefropatía diabética puede incluir cambios en el estilo de vida, como perder peso, aumentar el ejercicio, reducir el colesterol, controlar las proteínas en la orina, fomentar la salud ósea, controlar la presión arterial alta, controlar la diabetes, diálisis renal o trasplante.

[0082] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) en un sujeto que padece o se sospecha que padece EII. Los métodos para tratar la EII proporcionados en este documento pueden implicar la administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece EII. La EII es un término general que se usa para

describir los trastornos que involucran la inflamación crónica del tracto digestivo de un individuo. La EII puede incluir colitis ulcerante y enfermedad de Crohn. La colitis ulcerante es una inflamación prolongada y llagas (úlceras) en el revestimiento más interno del intestino grueso (colon) y recto, mientras que la enfermedad de Crohn se caracteriza por la inflamación del revestimiento del tracto digestivo, que a menudo se extiende profundamente a los tejidos afectados. El diagnóstico de IBD se puede o se puede haber determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene EII utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para la EII, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une a un componente de un inflammasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o

intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar para la EII puede incluir medicamentos antiinflamatorios, supresores del sistema inmunológico, antibióticos, medicamentos antidiarreicos, analgésicos, suplementos de hierro y suplementos de calcio y vitamina D. Los antibióticos pueden incluir ciprofloxacina (Cipro) y metronidazol (Flagyl). Los ejemplos de fármacos inmunosupresores pueden incluir azatioprina (Azasan, Imuran), mercaptopurina (Purinethol, Purixan), ciclosporina (Gengraf, Neoral, Sandimmune) y metotrexato (Trexall). Otros ejemplos de inmunosupresores pueden incluir inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF) alfa o biológicos como, por ejemplo, infliximab (Remicade), adalimumab (Humira), golimumab (Simponi), natalizumab (Tysabri), vedolizumab (Entyvio) y ustekinumab. (Stelara). Los antiinflamatorios pueden incluir corticosteroides y aminosalicilatos, como, por ejemplo, mesalamina (Asacol HD, Delzicol), balsalazida (Colazal) y olsalazina (Dipentum).

[0083] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para tratar el síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS) en un sujeto que padece o se sospecha que padece CAPS. Los métodos para tratar CAPS proporcionados en este documento pueden implicar la

administración de una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) al sujeto que padece o se sospecha que padece CAPS. Los síndromes periódicos asociados a criopirina (CAPS), también llamados síndrome autoinflamatorio asociado a criopirina, consisten en tres enfermedades autoinflamatorias relacionadas con un defecto en el mismo gen (es decir, NLRP3): enfermedad inflamatoria multisistémica de aparición neonatal (NOMID), síndrome de Muckle-Wells (MWS)) y síndrome autoinflamatorio familiar por frío (FCAS). NOMID se caracteriza por fiebre con inflamación en múltiples órganos. Los primeros síntomas de NOMID pueden incluir una erupción similar a una colmena que no pica; inflamación de la membrana que rodea el cerebro, que causa dolor de cabeza, ceguera o pérdida auditiva; apariencia abultada de los ojos; y episodios de vómitos. Después del año de edad, la mitad de los niños con NOMID pueden desarrollar dolor e hinchazón en las articulaciones. El MWS se caracteriza por síntomas que aparecen y desaparecen, como erupción cutánea, ojos rojos, dolor en las articulaciones y dolores de cabeza intensos con vómitos. Los episodios duran entre uno y tres días. La pérdida de audición, que puede ser completa, a menudo ocurre en la adolescencia. FCAS se caracteriza por fiebre, escalofríos, náuseas, sed extrema, dolor de cabeza y dolor en las

articulaciones. El diagnóstico de CAPS se puede o se puede haber determinado usando cualquier método conocido en la técnica. En una forma de realización, se ha diagnosticado que el sujeto tiene CAPS utilizando los métodos detallados en el documento WO 2019/060516, presentado el 20 de septiembre de 2018, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El agente puede ser un tratamiento estándar conocido en la técnica para CAPS, un inhibidor de la captación de EV (por ejemplo, cualquier inhibidor de la captación de EV de la Tabla 1), un anticuerpo o fragmento de anticuerpo del mismo como se proporciona en este documento que se une a un componente de un inflammasoma (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo del mismo tal como, por ejemplo, IC 100) o cualquier combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El tratamiento estándar de atención para CAPS puede incluir agentes biológicos que se dirijan a la interleuquina-1, así como fisioterapia, férulas para tratar deformidades articulares y medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, corticosteroides o metotrexato para reducir los síntomas.

[0084] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para reducir la inflamación en los pulmones de un mamífero que ha sido sometido o está afectado por una afección que da como resultado o causa inflamación pulmonar. Las composiciones y métodos descritos en este documento pueden incluir anticuerpos o fragmentos activos de los mismos como se proporciona en el presente documento (por ejemplo, IC 100) que se unen específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC) de un inflamasoma de mamífero y/o compuestos que modulan (por ejemplo, inhiben o reducir) la captación de vesículas extracelulares (EV) y se utilizan como tratamientos para la inflamación pulmonar en un mamífero.

[0085] En el presente documento se describen métodos para reducir la inflamación en los pulmones de un mamífero que tiene una afección que da como resultado y/o causa una respuesta inflamatoria en los pulmones. En una forma de realización, el método para tratar la inflamación en los pulmones de un mamífero comprende administrar al mamífero una composición que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) que inhibe la señalización del inflamasoma. El mamífero puede ser un paciente o sujeto como se proporciona en el presente documento. Ejemplos de afecciones que pueden provocar inflamación en los pulmones incluyen una lesión del sistema nervioso central (SNC) (por ejemplo, lesión de

la médula espinal (LME), lesión cerebral traumática (TBI) o accidente cerebrovascular), una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad autoinmune (por ejemplo, EM), asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial o síndrome de dificultad respiratoria aguda. La composición se puede administrar en una cantidad terapéuticamente eficaz. La cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una dosis como se proporciona en este documento. El agente puede ser un inhibidor de la captación de vesículas extracelulares (EV), un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en la presente que se une a un componente de un inflammasoma o una combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0086] En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para reducir la inflamación en los riñones de un mamífero que ha sido sometido o está afectado por una afección que da como resultado o causa inflamación del riñón. Las composiciones y métodos descritos en este documento pueden incluir anticuerpos o fragmentos activos de los mismos como se proporciona en este documento (por

ejemplo, IC 100) que se unen específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC) de un inflamasoma de mamífero y/o compuestos que modulan (por ejemplo, inhiben o reducir) la captación de vesículas extracelulares (EV) y se utilizan como tratamientos para la inflamación renal en un mamífero.

[0087] En el presente documento se describen métodos para reducir la inflamación en los riñones de un mamífero que tiene una afección que da como resultado y/o causa una respuesta inflamatoria en los riñones. En una forma de realización, el método para tratar la inflamación en los riñones de un mamífero comprende administrar al mamífero una composición que comprende un agente (por ejemplo, IC 100) que inhibe la señalización del inflamasoma. El mamífero puede ser un paciente o sujeto como se proporciona en el presente documento. Los ejemplos de afecciones que pueden provocar inflamación en los riñones incluyen la nefritis lúpica. La composición se puede administrar en una cantidad terapéuticamente eficaz. La cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una dosis como se proporciona en este documento. El agente puede ser un inhibidor de la captación de vesículas extracelulares (EV), un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en la presente que se une a un componente de un inflamasoma o una combinación de los mismos. La composición se puede administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por

inhalación, por vía intravenosa, intraperitoneal o intracerebroventricular. La composición puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0088] En una forma de realización, la administración de un agente (por ejemplo, Anticuerpo o fragmento de anticuerpo derivado del mismo (por ejemplo, IC 100) solo o en combinación, por ejemplo, con un inhibidor de la captación de EV) en los métodos proporcionados en este documento puede dar como resultado una reducción en el nivel de actividad y/o expresión de un componente de un inflammasoma de mamífero en el SNC, riñones o pulmones del sujeto. La reducción puede ser en células del pulmón como, por ejemplo, células alveolares de tipo II. La reducción puede compararse con un control. El control puede ser sujeto antes de la administración del agente. El control puede ser la actividad y/o el nivel de expresión del (de los) componente(s) del inflammasoma en un sujeto al que no se le administró el agente. En una forma de realización, la administración del agente da como resultado la reducción de la activación de caspasa-1 en al menos las células del SNC o del SNC del sujeto. En una forma de realización, la administración del agente da como resultado la reducción de la activación de caspasa-1 en al menos los pulmones o las células pulmonares del sujeto. En una forma de realización, la administración

del agente da como resultado la reducción del nivel de expresión de uno o más componentes del inflamasoma (por ejemplo, ASC, AIM2, NALP1, NALP2, NALP2, NALP3 o NLRC4) en al menos las células del SNC o del SNC del sujeto. En una forma de realización, la administración del agente da como resultado la reducción del nivel de expresión de uno o más componentes del inflamasoma (por ejemplo, ASC, AIM2, NALP1, NALP2, NALP2, NALP3 o NLRC4) en al menos los pulmones o células pulmonares del sujeto.

[0089] En otra forma de realización, la administración del agente (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de anticuerpo derivado del mismo solo o en combinación, por ejemplo, con un inhibidor de la captación de EV) puede dar como resultado una reducción o eliminación de la lesión pulmonar aguda (ALI). En una forma de realización, la reducción de ALI se evidencia por una reducción en la infiltración de neutrófilos en el espacio alveolar y/o intersticial, engrosamiento del tabique alveolar reducido o ausente o una combinación de los mismos. La reducción puede compararse con un control. El control puede ser ALI en el sujeto antes de la administración del agente. El control puede ser ALI en un sujeto que padece ALI al que no se le administra el agente.

[0090] En otra forma de realización más, la administración del agente (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de

anticuerpo derivado del mismo (por ejemplo, IC 100) solo o en combinación, por ejemplo, con un inhibidor de la captación de EV) puede resultar en una reducción o eliminación de piroptosis en el SNC o pulmones del sujeto. La piroptosis es una forma proinflamatoria de muerte celular que implica la activación de caspasa-1. La piroptosis puede desencadenarse por la escisión de gasdermina D (GSDMD) mediada por caspasa-1. En una forma de realización, la reducción de la piroptosis se evidencia por una reducción o falta de escisión de GSDMD en los pulmones o células pulmonares (por ejemplo, células alveolares de tipo II) del sujeto. La reducción o eliminación de la piroptosis puede compararse con un control. La reducción o la falta de escisión de GSDMD puede compararse con un control. El control puede ser el nivel de piroptosis en el sujeto antes de la administración del agente. El control puede ser el nivel de piroptosis en un sujeto que padece piroptosis al que no se le administra el agente.

[0091] El éxito o la respuesta a un método de tratamiento proporcionado en este documento (por ejemplo, Tratamiento de lesiones del SNC, enfermedades autoinmunes, autoinflamatorias, neurodegenerativas o metabólicas (por ejemplo, EM, EP, nefritis lúpica, NASH, DKD, CAPS, inflamación del intestino). (EII); EA, artritis reumatoide), inflamación inmune innata o relacionada con el

inflammasoma, inflamación del SNC y/o inflamación de los pulmones) se pueden controlar midiendo los niveles de al menos una proteína del inflammasoma. Por consiguiente, en algunas formas de realización, los métodos de tratamiento proporcionados en este documento comprenden además medir el nivel de al menos una proteína del inflammasoma en una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento, preparando una firma de la proteína del inflammasoma del tratamiento asociada con una respuesta positiva al tratamiento, en la que la firma de la proteína de tratamiento comprende un nivel reducido de al menos una proteína del inflammasoma, y la identificación de los sujetos que presentan la presencia de la firma de la proteína de tratamiento como que responden positivamente al tratamiento. Una reducción en el nivel, abundancia o concentración de una o más proteínas del inflammasoma (por ejemplo, ASC, IL-18 o caspasa-1) es indicativa de la eficacia del tratamiento en el sujeto. La una o más proteínas del inflammasoma medidas en la muestra obtenida después del tratamiento pueden ser iguales o diferentes a las proteínas del inflammasoma medidas en una muestra obtenida antes del tratamiento. Los niveles de proteína del inflammasoma también se pueden usar para ajustar la dosis o la frecuencia de un tratamiento. Los niveles de proteína del inflammasoma se pueden determinar utilizando los métodos

y técnicas proporcionados en este documento o como se encuentra en el documento US 62/560.963, presentado el 20 de septiembre de 2017.

[0092] En una forma de realización, el agente que se va a administrar en el método de tratamientos proporcionado en este documento es un inhibidor de la captación de EV. El inhibidor de la captación de EV puede ser un compuesto, ARN antisentido, ARNip, péptido, anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento o una combinación de los mismos. El compuesto o péptido puede ser uno o más compuestos seleccionados de heparina, α -difluorometilornitina (DFMO), enoxaparina, asialofetuina, proteína asociada al receptor humano (RAP), péptido RGD (Arg-Gly-Asp), citocalasina D, citocalasina B, Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), Latrunculina A, Latrunculina B, NSC23766, Dynasore, Clorpromazina, 5- (N-Etil-N-isopropil) amilorida (EIPA), Amilorida, Bafilomicina A Monensina y Cloroquina, Anexina-V, W29400mannina, Metil- β -ciclodextrina (M β CD), filipina, simvastatina, fumonisina B1 y clorhidrato de N-butildesoxinojirimicina, U0126 o un inhibidor de la bomba de protones. El anticuerpo inhibidor de la captación de EV o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento puede ser uno o más anticuerpos o fragmentos activos del mismo dirigidos contra dianas proteicas enumeradas en la Tabla 1. Una composición

para tratar y/o reducir la inflamación en el SNC o pulmones de un mamífero usando un inhibidor de la absorción de EV puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0093] Tabla 1. Dianas ejemplares y anticuerpos correspondientes para uso en el bloqueo de la captación de EV.

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1	Anticuerpo de Invitrogen ICAM-1 (Life Technologies, 07-5403); CD54 (ICAM-1) anticuerpo monoclonal (R6.5), eBioscience™
LFA-1	Antígeno asociado a la función linfocítica 1	Anticuerpo Abbiotec LFA-1 (Abbiotec, 250944); Estudios de desarrollo Hybridoma Bank Anticuerpo LFA-1 (Developmental Studies Hybridoma Bank, MHM24)

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
TIM-4	Proteína de membrana de células T 4	Anticuerpo BioLegend TIMD4 (BioLegend, 354004); Anticuerpo TIMD4 de LifeSpan Biosciences (Lifespan Biosciences, LS-B1413)
MFG-E8	Proteína de factor 8 de glóbulos de grasa de leche-EGF	Anticuerpo MBL International MFGE8 (MBL, D199-3); Anticuerpo Santa Cruz Biotechnology MFGE8 (Santa Cruz, sc-8029); Anticuerpo MBL International MFGE8 (MBL, 18A2-G10)
DC-SIGN	Molécula de adhesión intercelular específica de células dendríticas-3-No integrina de agarre	Anticuerpo Invitrogen DC SIGN (eBioscience, eB-h209, 17-2099-41); Anticuerpo BD Biosciences DC SIGN (BD, DCN46, 551186)

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
DEC205	clúster de diferenciación 205	Anticuerpo EMD Millipore LY75 (Millipore, HD30); Anticuerpo BioLegend LY75 (BioLegend, 342203)
H-2Kb	MHC Clase I (H-2Kd)	Anticuerpo BioLegend H2-K1 (BioLegend, 28-8-6, 114603); Anticuerpo BioLegend H2-K1 (BioLegend, 28-14-8, 14-5999-85)
Tspan8	Tetraspanina-8	Anticuerpo TSPAN8 de R and D Systems (R&D Systems, MAB4734)
Tspan29	Tetraspanina-29	Anticuerpo CD9 de Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, sc-59140); Anticuerpo Invitrogen CD9 (eBioscience, eBioSN4; Anticuerpo CD9 de BD Biosciences (BD Pharmingen, 555370)

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
ITGAL	Integrina subunidad alfa L	TS1/22.1.1.13.3; M17/4.4.11.9
ITGAM	Subunidad alfa M de integrina	Anticuerpo monoclonal CD11b (VIM12) (CD11B00); BD Biosciences CD11b antibody (BD Pharmingen, ICRF44; 555385)
ITGAX	Integrina subunidad alfa X	Anticuerpo anti-integrina α X, clon N418 (MAB1399Z); Anticuerpo BD Biosciences CD11c (BD Bioscience, B-ly6; 560369)
CD44	Clúster de diferenciación 44	Anticuerpo Invitrogen CD44 (eBioscience, VFF-7; MA1-82392); Anticuerpo Invitrogen CD44 (eBioscience, IM7; MA1-10225); Anticuerpo Invitrogen CD44 (eBioscience, 5F12; MA5-

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
		12394); Anticuerpo BD Biosciences CD44 (BD Biosciences, 515; 550990 OR 550988)
ITGA3	Subunidad alfa 3 de integrina	Anticuerpo de integrina alfa3 de EMD Millipore (Millipore, P1B5; MAB1952Z O MAB1952P)
ITGA4	Subunidad alfa 4 de integrina	Anticuerpo Bio X Cell ITGA4 (BioXcell, PS / 2) (BE0071-5MG); Anticuerpo BD Biosciences ITGA4 (BD Biosciences, 561892); Anticuerpo BD Biosciences ITGA4 (BD, 340976); Anticuerpo EMD Millipore ITGA4 (Millipore, P4C2; MAB1955)
ITGAV	Integrin subunit alpha V	Anticuerpo de integrina alfa v de Abcam (Abcam,

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
		ab77906); Anticuerpo de integrina alfa v de Abcam (Abcam, ab78289); Anticuerpo de integrina alfa v de Abcam (Abcam, ab16821); Anticuerpo de integrina alfa v de Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, 272-17E6, MA1-91669); Anticuerpo de integrina alfa v de R & D Systems (R&D Systems, MAB2528)
ITGB3	Subunidad de integrina beta 3	Anticuerpo de integrina beta3 de Abcam (Abcam, ab78289); Anticuerpo Abnova integrina beta3 (Abnova, MHF4, MAB7098)
SELL	Selectina L	Anticuerpo BioLegend CD62L (Biolegend, 304804); Anticuerpo

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
		BioLegend CD62L (Biolegend, 304810)
CD81	Molécula CD81	Anticuerpo BD Biosciences CD81 (BD Pharmingen, 555675); Anticuerpo CD81 de R and D Systems (R&D Systems, MAB4615)
LRP1	Proteína 1 relacionada con el receptor de LDL	Anticuerpo Invitrogen LRP1 (Life Technologies, 37-7600); Anticuerpo Invitrogen LRP1 (Thermo Fisher, MA1-27198)
VCAM1	molécula de adhesión celular vascular 1	Anticuerpo Invitrogen VCAM-1 (Caltag, IG11B1; MA5-16429); Anticuerpo Immunotech anti-VCAM-1
CD151	Molécula CD151 (grupo sanguíneo Raph)	Anticuerpo BD Biosciences CD151 (Becton Dickinson, 556056); Anticuerpo

Símbolo del gen	Nombre del gen	Anticuerpos de ejemplo
		Epitomics CD151 (Epitomics, 5901-1)

[0094] En una forma de realización, el agente a administrar es un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento dirigido contra un componente de un inflamasoma de mamífero o un antígeno o epítipo derivado del mismo. En otra forma de realización, el agente a administrar es un ARN antisentido o ARNip dirigido contra un componente de un inflamasoma de mamífero. El componente inflamasoma puede ser un componente de cualquier inflamasoma conocido en la técnica, tal como, por ejemplo, el inflamasoma NALP1, NALP2, NALP3, NLRC4 o AIM2. En una forma de realización típica, el anticuerpo se une específicamente a ASC o un antígeno o epítipo derivado de él. Sin embargo, puede usarse un anticuerpo contra cualquier otro componente de un inflamasoma de mamífero (por ejemplo, el inflamasoma NALP1, NALP2, NALP3, NLRC4 o AIM2).

[0095] Un anticuerpo como se describe en el presente documento puede ser un anticuerpo monoclonal o policlonal o fragmentos activos del mismo. Dichos anticuerpos o

fragmentos activos pueden ser quiméricos, humanos o humanizados como se describe en el presente documento.

[0096] Se puede usar cualquier anticuerpo adecuado o un fragmento activo del mismo como se proporciona en este documento que se une específicamente a ASC, por ejemplo, un anticuerpo que inhibe la actividad de ASC en el SNC (por ejemplo, células del SNC) o células pulmonares (por ejemplo, células alveolares de Tipo II) del sujeto. En una forma de realización, el anticuerpo se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2. En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento del mismo se une a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos KKFKLKLLSVPLREGYGRIPR (SEQ ID NO: 5). En otra forma de realización más, el anticuerpo o fragmento del mismo se une a una secuencia de aminoácidos KKFKLKLLSVPLREGYGRIPR (SEQ ID NO: 5) o 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 aminoácidos de SEQ ID NO: 5. En otra forma de realización más, el anticuerpo o fragmento del mismo se une a 2-5, 5-10, 10-15 o 15-20 amino ácidos de SEQ ID NO: 5. En algunas formas de realización, un epítipo de ASC (por ejemplo, epítipo con el aminoácido SEQ ID NO: 5)

unido por un anticuerpo o fragmento de anticuerpo es continuo. En algunas formas de realización, un epítopo de ASC (por ejemplo, epítopo con el aminoácido SEQ ID NO: 5) unido por un anticuerpo o fragmento de anticuerpo es discontinuo. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo proporcionado en este documento inhibe o reduce la actividad de ASC.

[0097] Como se usa en este documento, el término "epítopo" incluye cualquier determinante de proteína capaz de unirse específicamente a una inmunoglobulina o un fragmento de inmunoglobulina. Los determinantes epitópicos normalmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y normalmente tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. El término "epítopo" también se refiere a una unidad de estructura unida convencionalmente por una región variable de cadena pesada (VH) de inmunoglobulina y un par de regiones variables de cadena ligera (VL). Un epítopo puede definir el sitio de unión mínimo para un anticuerpo y, por tanto, representar el objetivo de especificidad de un anticuerpo.

[0098] De manera similar, en otra forma de realización, el inflammasoma es el inflammasoma NALP1, y el al menos un componente es NALP1 (es decir, NLRP1). En esta forma de

realización, el anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 4.

[0099] En otra forma de realización más, el agente es uno o más inhibidores de la captación de EV en combinación con uno o más anticuerpos o fragmentos activos de los mismos como se proporciona en este documento que se unen a un componente de un inflammasoma. El inhibidor de la absorción de EV puede ser cualquier inhibidor de la absorción de EV como se proporciona en el presente documento. El anticuerpo que se une a un componente de un inflammasoma puede ser cualquier anticuerpo que se una a cualquier componente del inflammasoma como se proporciona en el presente documento. En una forma de realización, el agente administrado a un sujeto que padece inflamación del SNC o del pulmón comprende una heparina (por ejemplo, enoxaparina) en combinación con un anticuerpo que se une a un componente del inflammasoma AIM2 (por ejemplo, ASC).

[00100] En una forma de realización, el método comprende: proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que incluye un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en este documento que se une específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC)

de un inflamasoma de mamífero (por ejemplo, Inflamasoma AIM2); y administrar la composición al mamífero que padece inflamación del SNC o de los pulmones o EM, en donde la administración de la composición al mamífero da como resultado una reducción de la activación de caspasa-1 en el SNC o pulmones del mamífero. En otra forma de realización, el método comprende: proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que incluye un anticuerpo que se une específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC) de un inflamasoma de mamífero (por ejemplo, inflamasoma AIM2); y administrar la composición al mamífero que padece inflamación del SNC o de los pulmones o EM, en donde la administración de la composición al mamífero da como resultado una reducción de los niveles de uno o más componentes del inflamasoma (por ejemplo, ASC). En otra forma de realización más, el método comprende: proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que incluye un anticuerpo que se une específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC) de un inflamasoma de mamífero (por ejemplo, inflamasoma AIM2); y administrar la composición al mamífero que padece inflamación del SNC o del pulmón o EM, en donde la administración de la composición al mamífero da como resultado una reducción de ALI. La inflamación del SNC o del pulmón puede ser el resultado de una lesión del SNC

(por ejemplo, SCI o TBI), asma, trastorno pulmonar obstructivo crónico (COPD), una enfermedad neurodegenerativa o una enfermedad autoinmune con un componente inflamatorio. En una forma de realización, la inflamación del pulmón está provocada por una lesión del SNC, como TBI o SCI.

[00101] En una forma de realización, los métodos proporcionados en el presente documento además implican detectar un nivel o actividad de uno o más componentes de un inflamasoma de mamífero en una muestra de un sujeto sospechoso de sufrir inflamación del SNC o de los pulmones o EM. El método para detectar el nivel o la actividad implica medir el nivel de al menos una proteína del inflamasoma (por ejemplo, ASC o AIM2) en la muestra obtenida del sujeto; determinar la presencia o ausencia de un nivel o actividad elevados de dicha al menos una proteína del inflamasoma (por ejemplo, ASC o AIM2). El nivel o la actividad de dicha al menos una proteína del inflamasoma se puede mejorar en relación con el nivel de dicha al menos una proteína del inflamasoma en una muestra de control. El nivel o la actividad de dicha al menos una proteína del inflamasoma en la firma de la proteína se puede mejorar en relación con un valor de referencia predeterminado o un intervalo de valores de referencia. La al menos una proteína del inflamasoma puede ser un dominio de pirina repetido

rico en leucina de unión a nucleótidos que contiene proteína 1 (NLRP1), NLRP2, NLRP3, NLRC4, AIM2, proteína tipo mota asociada a apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento de caspasa (ASC), caspasa- 1, o combinaciones de los mismos. La muestra puede ser líquido cefalorraquídeo (LCR), saliva, sangre, suero, plasma, orina o un aspirado pulmonar.

Anticuerpos que se unen específicamente a al menos un componente de A

Inflamasoma de mamíferos

[00102] Los métodos descritos en este documento para reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones de un mamífero incluyen composiciones que incluyen un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une específicamente a al menos un componente (por ejemplo, ASC, AIM2) de un inflamasoma de mamífero (por ejemplo, el inflamasoma AIM2). Una composición para tratar y/o reducir la inflamación en el SNC y/o los pulmones de un mamífero puede incluir además al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los anticuerpos ejemplares dirigidos contra componentes de un inflamasoma de mamífero para su uso en los métodos de la presente pueden ser los que se encuentran en el documento US8685400, cuyo contenido se incorpora en la presente

memoria como referencia en su totalidad. También se proporcionan aquí anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos ejemplares, tales como, por ejemplo, el anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo que comprende una región VH de manera que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, y una región VL tal que la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14.

[00103] En una forma de realización, una composición para tratar y/o reducir la inflamación en el SNC o los pulmones de un mamífero incluye un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une específicamente a un dominio o porción del mismo de una proteína ASC de mamífero como como, por ejemplo, una proteína ASC humana, de ratón o de rata. Puede usarse cualquier anticuerpo anti-ASC adecuado, y varios están disponibles comercialmente. Ejemplos de anticuerpos anti-ASC para su uso en los métodos de la presente pueden ser los que se encuentran en el documento US8685400, cuyo contenido se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. Ejemplos de anticuerpos anti-ASC disponibles comercialmente para su uso en los métodos proporcionados en este documento incluyen, pero sin limitación, 04-147 Anti-

ASC, anticuerpo monoclonal de ratón clon 2EI-7 de MilliporeSigma, AB3607 - Anticuerpo anti-ASC de MilliporeSigma, orb194021 Anti-ASC de Biorbyt, LS-C331318-50 Anti-ASC de LifeSpan Biosciences, AF3805 Anti-ASC de R & D Systems, NBP1-78977 Anti-ASC de Novus Biologicals, 600-401-Y67 Anti-ASC de Rockland Immunochemicals, D086-3 Anti-ASC de MBL International, AL177 anti-ASC de Adipogen, anticuerpo monoclonal anti-ASC (clon o93E9), anticuerpo anti-ASC (F-9) de Santa Cruz Biotechnology, anticuerpo anti-ASC (B-3) de Santa Cruz Biotechnology, anticuerpo policlonal ASC - ADI-905-173 de Enzo Life Sciences, o A161 Anti-Human ASC - Leinco Technologies. La proteína ASC humana puede tener el número de acceso NP_037390.2 (Q9ULZ3-1), NP_660183 (Q9ULZ3-2) o Q9ULZ3-3. La proteína ASC de rata puede tener el número de acceso NP_758825 (BAC43754). La proteína ASC de ratón puede tener el número de acceso NP_075747.3. En una forma de realización, el anticuerpo se une a un dominio PYRIN-PAAD-DAPIN (PYD) o una porción o fragmento del mismo de una proteína ASC de mamífero (por ejemplo, ASC humana, de ratón o de rata). En esta forma de realización, un anticuerpo como se describe en el presente documento se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 65% (por ejemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidad de secuencia con un dominio PYD o fragmento del mismo de humano, ratón o rata. ASC. En una

forma de realización, el anticuerpo se une a un dominio de reclutamiento de caspasa C-terminal (CARD) o una porción o fragmento del mismo de una proteína ASC de mamífero (por ejemplo, ASC humana, de ratón o de rata). En esta forma de realización, un anticuerpo como se describe en este documento se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 65% (por ejemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidad de secuencia con un dominio CARD o fragmento del mismo de humano, ratón o rata. ASC. En otra forma de realización más, el anticuerpo se une a una porción o fragmento del mismo de una secuencia de proteína ASC de mamífero (por ejemplo, ASC humana, de ratón o de rata) ubicada entre los dominios PYD y CARD. En otra forma de realización, una composición para tratar y/o reducir la inflamación en el SNC y/o los pulmones de un mamífero incluye un anticuerpo que se une específicamente a una región de ASC de rata, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos ALRQTQPYLVTDLEQS (SEQ ID NO: 1) (es decir, residuos 178-193 de ASC de rata, número de acceso BAC43754). En esta forma de realización, un anticuerpo como se describe en este documento se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 65% (por ejemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos ALRQTQPYLVTDLEQS (SEQ ID NO: 1) de ASC de rata. En otra forma de realización, una composición para tratar

y/o reducir la inflamación en el SNC y/o los pulmones de un mamífero incluye un anticuerpo que se une específicamente a una región de ASC humana, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos RESQSYLVEDLERS (SEQ ID NO: 2). En otra forma de realización más, una composición para tratar y/o reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones de un mamífero incluye un anticuerpo que se une específicamente a una región de ASC humana, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos KKFKLKLLSVPLREGYGRIPR (SEQ ID NO: 5; es decir, residuos 21-41 de ASC humana) o 5-10, 10-15 o 15-20 aminoácidos de SEQ ID NO: 5. En una forma de realización, un anticuerpo que se une a un dominio ASC o fragmento del mismo como se describe en este documento inhibe Actividad de ASC en células pulmonares, por ejemplo, células alveolares de tipo II de un mamífero. En otra forma de realización, un anticuerpo que se une a un dominio ASC o fragmento del mismo como se describe en este documento (por ejemplo, anticuerpo monoclonal anti-ASC o fragmentos de anticuerpos del mismo proporcionados en este documento) inhibe la actividad ASC en el SNC de un mamífero que padece o se sospecha que padece un SNC lesión o trastorno. Los ejemplos de lesiones o trastornos del SNC pueden incluir TBI, SCI, accidente cerebrovascular, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica ruptura del SNC muscular, distrofia muscular

(DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (PD).

[00104] En ciertas formas de realización, la invención proporciona anticuerpos y fragmentos de anticuerpos que se unen específicamente a ASC y que comprenden una o más secuencias de aminoácidos que se muestran en la Tabla 2. También se proporcionan aquí moléculas de ácido nucleico aisladas que codifican los anticuerpos monoclonales o los fragmentos de anticuerpos de los mismos que comprenden secuencias de ácido nucleico mostradas en la Tabla 2. En algunos casos, los vectores de expresión que comprenden las moléculas de ácido nucleico de la Tabla 2. El vector de expresión puede comprender regiones constantes de cadena pesada o cadena ligera. Un ejemplo de un sistema de vector de expresión de cadena ligera y cadena pesada para uso en las composiciones y métodos proporcionados en este documento es el sistema de vector de expresión antitopo pANT para la cadena ligera kappa y pesada de IgG4 (S241P). La molécula de ácido nucleico para la cadena pesada o ligera puede unirse operativamente a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión de los segmentos de ácido nucleico en una célula huésped.

[00105] Tabla 2. Secuencias de cadena pesada variable y ligera variable (Kappa) de anticuerpo anti-ASC o fragmentos de anticuerpo del mismo de la invención.

<u>Secuencia de aminoácidos CDR1 de cadena pesada (H)</u> TSGMGVS (SEQ ID NO: 6)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos CDR1 de cadena pesada (H)</u> ACTAGTGGAATGGGTGTGAGC (SEQ ID NO: 9)
<u>Secuencia de aminoácidos CDR2 de cadena pesada (H)</u> HIYWDDDKRYNPSLKS (SEQ ID NO: 7)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos CDR2 de cadena pesada (H)</u> CACATTTATTGGGATGATGATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGC (SEQ ID NO: 10)
<u>Secuencia de aminoácidos CDR3 de cadena pesada (H)</u> STPIVANAMDY (SEQ ID NO: 8)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos CDR3 de cadena pesada (H)</u> AGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTAC (SEQ ID NO: 11)
<u>Secuencia de aminoácidos CDR1 de cadena ligera (Kappa) (L)</u> KASQSVDDYDGDSYMN (SEQ ID NO: 12)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos CDR1 de cadena ligera (Kappa) (L)</u> AAGGCCAGCCAGAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAAT (SEQ ID NO: 15)
<u>Secuencia de aminoácidos CDR2 de cadena ligera (Kappa) (L)</u> AASNLES (SEQ ID NO: 13)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos CDR2 de cadena ligera (Kappa) (L)</u> GCCGCATCTAACCTGGAATCC (SEQ ID NO: 16)
<u>Secuencia de aminoácidos CDR3 de cadena ligera (Kappa) (L)</u> QQSNEDPYT (SEQ ID NO: 14)

Secuencia de ácidos nucleicos CDR3 de cadena ligera (Kappa) (L)

CAGCAATCTAATGAGGACCCTTACACT (SEQ ID NO: 17)

Secuencia de aminoácidos de cadena pesada variable (VH) 1

QVTLKESGPAIVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDDDKRYN
PSLKSRLTISKDSSKNQVVLKITSVDPVDTATYSCARSTPIVANAMDYWGQGTSVTVSS
(SEQ ID NO: 18)

Secuencia de ácidos nucleicos de cadena pesada variable (VH) 1

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCATCGTGAAACCCACACAGACCCTCACGCTGAC
CTGCAGCTTCTCTGGGTTCTCACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGGATCCGTCAGC
CCTCAGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGACACATTTATTGGGATGATGATAAGCGCTACAAC
CCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGACAGCTCCAAAACCAGGTGGTCCTTAA
AATCACCAGCGTGGACCCTGTGGACACAGCCACATATTCCTGTGCACGGAGCACCCCATCG
TGGCCAACGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCAGCGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID
NO: 23)

Secuencia de aminoácidos de cadena pesada variable (VH) 2

QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPAGKGLEWLAHIYWDD
DKRYNPSLKSRLTISKDSSKNQVVLMTNMDPVDTATYSCARSTPIVANAMDYWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 19)

Secuencia de ácidos nucleicos de cadena pesada variable (VH) 2

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG
CTGACCTGCAGCTTCTCTGGGTTCTCACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGG
ATCCGTCAGCCCGCCGGAAGGGCCTGGAGTGGCTTGACACATTTATTGGGATGAT
GATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGACAGCTCC

AAAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATAT
TCCTGTGCACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGA
ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 24)

Secuencia de aminoácidos de cadena pesada variable (VH) 3

QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPAGKGLEWLAHIYWDD
DKRYNPSLKSRLTISKDSSKNQVVLTMTNMDPVDATYYCARSTPIVANAMDYWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 20)

Secuencia de ácidos nucleicos de cadena pesada variable (VH) 3

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG
CTGACCTGCAGCTTCTCTGGGTTCTCACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGG
ATCCGTCAGCCCGCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGACACATTTATTGGGATGAT
GATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGACAGCTCC
AAAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATAT
TACTGTGCACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGA
ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 25)

Secuencia de aminoácidos de cadena pesada variable (VH) 4

QVTLKESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGMGVSWIRQPAGKGLEWLAHIYWDD
DKRYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDATYYCARSTPIVANAMDYWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO: 21)

Secuencia de ácidos nucleicos de cadena pesada variable (VH) 4

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGCCCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACG
CTGACCTGCACCTTCTCTGGGTTCTCACTCAGCACTAGTGGAATGGGTGTGAGCTGG
ATCCGTCAGCCCGCCGGAAAGGGCCTGGAGTGGCTTGACACATTTATTGGGATGAT

GATAAGCGCTACAACCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCTCCAAGGACACCTCC
 AAAAACCAGGTGGTCCTTACAATGACCAACATGGACCCTGTGGACACAGCCACATAT
 TACTGTGCACGGAGCACCCCCATCGTGGCCAACGCCATGGACTACTGGGGCCAAGGA
 ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 26)

**Secuencia de aminoácidos de cadena quimérica pesada
 variable (VH) (O)**

QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIYWDD
 DKRYNPSLKSRLTISKDSSSNQVFLKITSVDTADTATYSCARSTPIVANAMDYWGQG
 TSVTVSS (SEQ ID NO: 22)

**Secuencia de ácidos nucleicos de cadena quimérica pesada
 variable (VH) (O)**

CAGGTTACTCTGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGT
 CTGACTTGTTCCTTTCTCTGGGTTTTCACTGAGCACTTCTGGTATGGGTGTGAGCTGG
 ATTCGTCAGCCTTCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGCACACATTTACTGGGATGAT
 GACAAGCGCTATAACCCATCCCTGAAGAGCCGGCTCACAATCTCCAAGGATTCCTCC
 AGCAACCAGGTCTTCCTCAAGATCACCAGTGTGGACACTGCAGATACTGCCACATAC
 TCCTGTGCTCGAAGTACTCCGATTGTAGCTAATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGA
 ACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 27)

**Secuencia de aminoácidos de cadena de cadena ligera
 variable Kappa (VL) 1**

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 LESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQEEVDVATYYCQQSNEDPYTFGQGTKLEIK
 (SEQ ID NO: 28)

**Secuencia de ácidos nucleicos de cadena de cadena ligera
 variable Kappa (VL) 1**

GACATCGTGCTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCC
 ACCATCAACTGCAAGGCCAGCCAGAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAAT
 TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCCGCATCTAAC
 CTGGAATCCGGCATCCCTGCCCCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT
 CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGAGGAAGATGTGGCAACTTATTACTGTCAGCAATCT
 AATGAGGACCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA (SEQ ID
 NO: 32)

Secuencia de aminoácidos de cadena de cadena ligera

variable Kappa (VL) 2

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASN
 LESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQSNEDPYTFGGQGTKLEIK
 (SEQ ID NO: 29)

Secuencia de ácidos nucleicos de cadena de cadena ligera

variable Kappa (VL) 2

GACATCGTGCTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCC
 ACCATCAACTGCAAGGCCAGCCAGAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAAT
 TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCCGCATCTAAC
 CTGGAATCCGGCATCCCTGCCCCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT
 CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTGGCAACTTATTACTGTCAGCAATCT
 AATGAGGACCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA (SEQ ID
 NO: 33)

Secuencia de aminoácidos de cadena de cadena ligera

variable Kappa (VL) 3

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASN LESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQSNEDPYTFGGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 30)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos de cadena de cadena ligera variable Kappa (VL) 3</u> GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCC ACCATCAACTGCAAGGCCAGCCAGAGTGTTGACTACGACGGCGACAGTTACATGAAT TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCCGCATCTAAC CTGGAATCCGGCATCCCTGCCCCGATTGAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTGGCAACTTATTACTGTCAGCAATCT AATGAGGACCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA (SEQ ID NO: 34)
<u>Secuencia de aminoácidos de cadena quimérica ligera (Kappa) variable (VH) (O)</u> DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASN LESGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 31)
<u>Secuencia de ácidos nucleicos de cadena quimérica ligera (Kappa) variable (VH) (O)</u> GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCC ACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAAC TGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAAT CTAGAATCTGGCATCCCAGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACC CTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGT AATGAGGACCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 35)

[00106] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 o 22. Además de esta forma de realización, se proporciona aquí el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida

la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00107] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28, 29,

30, 31, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica al aminoácido secuencia de SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31. Además de esta forma de realización, se proporciona en este documento el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo,

paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00108] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 o 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31. Además de esta forma de realización, en la presente se proporciona el

uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el

fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00109] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o

en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una

composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00110] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al

SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00111] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o

el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig,

esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00112] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%,

97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la

inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00113] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para

tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00114] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el

inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una

composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00115] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En algunos casos, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo derivado del mismo que comprende una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende la SEQ ID NO: 19 y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende la SEQ ID NO: 30 puede denominarse IC 100. Además de esto La forma de realización, proporcionada en el presente documento, es el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una

inflamación relacionada con el inflamasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta

forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00116] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una cadena variable de cadena ligera o kappa (VL) región, en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o

enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00117] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo

que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida

la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00118] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20,

o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo

en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00119] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99%

idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el

fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00120] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La

inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del

mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00121] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o

enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00122] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo

que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida

la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00123] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21,

o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo

en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00124] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99%

idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el

fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00125] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La

inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del

mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00126] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o

enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00127] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo

que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o enfermedades del SNC, incluida

la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00128] En una forma de realización, aquí se proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo del mismo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera o de cadena kappa (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22,

o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31. Además de esta forma de realización, aquí se proporciona el uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación en un sujeto. La inflamación puede ser una inflamación inmune innata. La inflamación puede ser una inflamación relacionada con el inflammasoma. En una forma de realización, los anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos de los mismos proporcionados en este documento se pueden usar en un método para reducir la inflamación en un mamífero como se describe en el documento US 8.685.400, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. La inflamación puede estar en los pulmones y/o en el SNC. La inflamación en los pulmones y/o el SNC puede ser el resultado de una lesión (por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI) o lesión de la médula espinal (SCI)) o enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecte al SNC. Como se proporciona en el presente documento, la enfermedad, afección o aflicción del SNC o que afecta al SNC puede ser un accidente cerebrovascular, así como enfermedades autoinmunes y/o

enfermedades del SNC, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) de Lou Gehrig, esclerosis múltiple (EM), disfunción inmunológica del SNC, degradación muscular, distrofia muscular (DM), enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP). El uso del anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo del mismo en un método para tratar la inflamación puede reducir la inflamación en el SNC y/o pulmones del paciente. La reducción se puede comparar con un control (por ejemplo, paciente no tratado y/o paciente antes del tratamiento). En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo se usa para tratar la EM administrando el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo derivado del mismo a un paciente que padece o se sospecha que padece EM. En algunos casos, el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de esta forma de realización está presente en una composición. La composición puede ser una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento.

[00129] En otra forma de realización, una composición para reducir la inflamación en el SNC o los pulmones de un mamífero incluye un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une específicamente a NLRP1 (por ejemplo, anticuerpo de pollo anti-NLRP1) o un dominio del mismo. Puede usarse

cualquier anticuerpo anti-NLRP1 adecuado, y varios están disponibles comercialmente. Ejemplos de anticuerpos anti-NLRP1 para su uso en los métodos de la presente pueden ser los que se encuentran en el documento US8685400, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Ejemplos de anticuerpos anti-NLRP1 asequibles en comercios para usar en los métodos proporcionados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, anticuerpo policlonal humano NLRP1 AF6788 de R&D Systems, anti-NLRP1 ABF22 policlonal de conejo de EMD Millipore, anti-NLRP1 NB100-56148 policlonal de conejo de Novus Biologicals, anti-NLRP1 SAB1407151 policlonal de ratón de Sigma-Aldrich, anti-NLRP1 ab3683 policlonal de ratón de Abcam, anti-NLRP1 orb325922 policlonal de ratón de Biorbyt, anti-NLRP1 MBS7001225 policlonal de ratón de mybiosource, AF6788 policlonal de oveja de R&D systems, anti-NLRP1 oaed00344 monoclonal de ratón de Aviva Systems, anti-NLRP1 ARO54478_P050 policlonal de conejo de Aviva Systems, anti-NLRP1 APO7775PU-N policlonal de conejo de Origene, anti-NLRP1 ABIN768983 policlonal de conejo de Antibodies online, anti-NLRP1 3037 policlonal de conejo de Prosci, anti-NLRP1 12256-1-AP policlonal de conejo de Proteintech, anti-NLRP1 ALX-804-803-C100 monoclonal de ratón de Enzo, anti-NLRP1 MA1-25842 monoclonal de ratón de Invitrogen, anti-NLRP1 GTX16091 monoclonal de ratón de GeneTex, anti-NLRP1 200-

401-CX5 policlonal de conejo de Rockland, o anti-NLRP1 4990 policlonal de conejo de Cell Signaling Technology. La proteína humana NLRP1 puede tener números de acceso AAH51787, NP_001028225, NP_055737, NP_127497, NP_127499 o NP_127500. En una forma de realización, el anticuerpo se une a un dominio de pirina, NACHT, LRR1-6, FIIND o CARD o una porción o fragmento del mismo de una proteína de mamífero NLRP1 (por ejemplo, NLRP1 humano). En esta forma de realización, un anticuerpo como se describe en este documento se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 65% (por ejemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidad de secuencia con un dominio específico (por ejemplo, pirina, NACHT, LRR1-6, FIIND o CARD) o fragmento del mismo de NLRP1 humana. En una forma de realización, se usa un policlonal anti-NLRP1 de pollo que fue diseñado a medida y producido por Ayes Laboratories para reducir la inflamación pulmonar. Este anticuerpo puede dirigirse contra la siguiente secuencia de aminoácidos en la NLRP1 humana: CEYYTEIREREREKSEKGR (SEQ ID NO: 3). En una forma de realización, un anticuerpo que se une a un dominio NLRP1 o un fragmento del mismo como se describe en este documento inhibe la actividad NLRP1 en células pulmonares, por ejemplo, células alveolares de tipo II de un mamífero.

[00130] En otra forma de realización más, una composición para reducir la inflamación en el SNC o los pulmones de un

mamífero incluye un anticuerpo o un fragmento activo del mismo como se proporciona en el presente documento que se une específicamente a AIM2 o un dominio del mismo. Puede usarse cualquier anticuerpo anti-AIM2 adecuado, y varios están disponibles comercialmente. Los ejemplos de anticuerpos anti-AIM2 disponibles comercialmente para su uso en los métodos proporcionados en este documento incluyen, pero sin limitación, un anti-AIM2 policlonal de conejo con número de catálogo 20590-1-AP de Proteintech, anticuerpo anti-AIMS de Abcam (ab119791), anti-AIM2 policlonal de conejo (región N-terminal) con número de catálogo AP3851 de ECM biosciences, anti-ASC policlonal de conejo con número de catálogo E-AB-30449 de Elabsciences, anticuerpo monoclonal de ratón Anti-AIM2 llamado anticuerpo AIM2 (3C4G11) con número de catálogo sc-293174 de Santa Cruz Biotechnology, anticuerpo AIM2 monoclonal de ratón con número de catálogo TA324972 de Origene, anticuerpo monoclonal AIM2 (10M2B3) de Thermofisher Scientific, anticuerpo AIM2 policlonal de conejo ABIN928372 o ABIN760766 de Antibodies-online, anticuerpo policlonal Biomatrix coat anti-AIM2 con número de catálogo CAE02153, anticuerpo policlonal anti-AIM2 (OABF01632) de Aviva Systems Biology, anticuerpo anti-AIM2 policlonal de conejo LS-C354127 de LSBio-C354127, anticuerpo anti-AIM2 monoclonal de conejo de Cell Signaling Technology, con

número de catálogo MA5-16259. Anticuerpo monoclonal anti-AIM2 policlonal de conejo de Fab Gennix International Incorporated, con número de catálogo AIM2 201AP, anti-AIM2 policlonal de conejo de MyBiosource con número de catálogo MBS855320, anti-AIM2 policlonal de conejo de Signalway con número de catálogo 36253, anti-AIM2 policlonal de conejo de Novus Biological con número de catálogo 43900002, anti-AIM2 policlonal de conejo de GeneTex GTX54910, anti-AIM2 26-540 policlonal de conejo de Prosci, anti-AIM2 monoclonal de ratón orb333902 de Biorbyt, anti-AIM2 ab93015 policlonal de ratón de Abcam), anti-AIM2 ab76423 policlonal de ratón de Abcam, anti-AIM2 SAB1406827 policlonal de ratón de Sigma Aldrich o anti-AIM2 3B10 de Biolegend. La proteína humana AIM2 puede tener los números de acceso NX_014862, NP004824, XP016858337, XP005245673, AAB81613, BAF84731 or AAH10940. En una forma de realización, el anticuerpo se une a un dominio Pirina o HIN-200 o una porción o fragmento del mismo de una proteína AIM2 de mamífero (por ejemplo, AIM2 humana). En esta forma de realización, un anticuerpo como se describe en el presente documento se une específicamente a una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 65% (por ejemplo, 65, 70, 75, 80, 85%) de identidad de secuencia con un dominio específico (por ejemplo, pirina o HIN-200) o fragmento del mismo de AIM2 humano. En una forma de realización, un anticuerpo que se une a un dominio AIM2 o

fragmento del mismo como se describe en el presente documento inhibe la actividad AIM2 en células pulmonares, por ejemplo, células alveolares de tipo II de un mamífero.

[00131] Los anticuerpos anti-inflamasoma (por ejemplo, Anti-ASC, anti-NLRP1 o anti-AIM2) como se describen en este documento incluyen anticuerpos policlonales y monoclonales de roedores, anticuerpos humanos policlonales y monoclonales, o cualquier parte de los mismos, que tienen al menos una región de unión a antígeno de una región variable de inmunoglobulina, cuyo anticuerpo se une específicamente a un componente de un inflamasoma de mamífero (por ejemplo, inflamasoma AIM2) tal como, por ejemplo, ASC o AIM2. En algunos casos, el anticuerpo es específico para ASC de manera que un anticuerpo es específico para ASC si se produce contra un epítipo del polipéptido y se une a al menos parte de la proteína natural o recombinante.

[00132] En determinadas formas de realización, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende un polipéptido que tiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo de unión a ASC comprende un polipéptido que tiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos en comparación con un polipéptido que tiene una secuencia de

aminoácidos de una o más de las SEQ ID NO: 6-8, 12-14, 18-22 o 28-31. Un anticuerpo proporcionado en el presente documento puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo de unión a ASC puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos. Pueden introducirse sustituciones, deleciones o inserciones mediante técnicas estándar, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis mediada por PCR de una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de un anticuerpo anti-ASC o un fragmento de anticuerpo que se une a ASC.

[00133] En determinadas formas de realización, se realizan sustituciones conservadoras de aminoácidos en una o más posiciones en las secuencias de aminoácidos de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos descritos en este documento. Una "sustitución de aminoácidos conservativa" es aquella en la que el residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En determinadas formas de realización, las sustituciones conservadoras de aminoácidos se realizan solo en las secuencias de FR y no en las secuencias de CDR de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo. Se han definido en la técnica familias de residuos de aminoácidos que tienen

cadenas laterales similares, que incluyen cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales de ramificación beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano; histidina). Así, por ejemplo, un residuo de aminoácido en un polipéptido de un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo de unión a ASC puede reemplazarse con otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadenas laterales. En determinadas formas de realización, una cadena de aminoácidos se puede reemplazar con una cadena estructuralmente similar que difiere en el orden y/o composición de los miembros de la familia de cadenas laterales. Los expertos en la técnica podrán evaluar si un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de anticuerpo de unión a ASC que comprende un polipéptido que tiene una o más sustituciones, deleciones o inserciones de aminoácidos en comparación con un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos de una o más de las SEQ ID NO: 6-

8, 12-14, 18-22 o 28-31 se unen a la proteína ASC mediante la utilización de métodos rutinarios reconocidos en la técnica que incluyen, pero sin limitación, ELISA, transferencias de Western, presentación de fagos, etc.

[00134] Los cálculos de homología o identidad de secuencia (los términos se usan indistintamente en este documento) entre secuencias se pueden realizar como sigue.

[00135] Para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos, o de dos secuencias de ácidos nucleicos, las secuencias se alinean con fines de comparación óptimos (por ejemplo, se pueden introducir espacios en uno o ambos de una primera y segunda secuencia de aminoácidos o ácidos nucleicos para una alineación óptima y secuencias no homólogas pueden descartarse para fines de comparación). En una forma de realización ejemplar, la longitud de una secuencia de referencia alineada con fines de comparación es al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de la longitud de la secuencia de referencia. A continuación, se comparan los residuos de aminoácidos o nucleótidos en las correspondientes posiciones de aminoácidos o posiciones de nucleótidos. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la posición correspondiente en la segunda secuencia,

entonces las moléculas son idénticas en esa posición (como se usa aquí, la "identidad" de aminoácidos o ácidos nucleicos es equivalente a amino "homología" de ácido o ácido nucleico). El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, teniendo en cuenta el número de huecos y la longitud de cada hueco, que deben introducirse para un alineamiento óptimo de las dos secuencias.

[00136] La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias se puede lograr usando un algoritmo matemático. En una forma de realización, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el método Needleman et al. ((1970) J. Mol. Biol. 48: 444-453) algoritmo que se ha incorporado al programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en www.gcg.com), utilizando una matriz BLOSUM 62 o una matriz PAM250, y un peso de espacio de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En otra forma de realización, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos se determina usando el programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en www.gcg.com), usando una matriz NWSgapdna CMP y un peso de espacio de 40, 50, 60, 70 u 80 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Un conjunto de parámetros (y el que se puede

usar si el médico no está seguro de qué parámetros se deben aplicar para determinar si una molécula está dentro de una identidad de secuencia o una limitación de homología de la invención) es una matriz de puntuación BLOSUM 62 con una penalización de espacio de 12, una penalización de extensión de espacio de 4 y una penalización de espacio de cambio de fotograma de 5.

[00137] El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o nucleótidos se puede determinar usando el algoritmo de Meyers et al. ((1989) CABIOS 4: 11-17) que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de espacio de 12 y una penalización de espacio de 4.

[00138] En ciertos aspectos, un anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En otros aspectos, un anticuerpo es un anticuerpo policlonal. El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a una población de moléculas de anticuerpo que contienen sólo una especie de un sitio de unión al antígeno capaz de inmunorreaccionar con un epítipo particular de un antígeno. Por tanto, una composición de anticuerpo monoclonal muestra típicamente una única afinidad de unión por una proteína particular con la que inmunorreacciona.

[00139] En algunos aspectos, un anticuerpo de la invención (un anticuerpo monoclonal anti-ASC o un fragmento de

anticuerpo de unión a ASC) es humanizado, quimérico o humano.

[00140] En algunas formas de realización, un anticuerpo de la invención es un anticuerpo humanizado.

[00141] "Anticuerpo humanizado", como se usa el término en este documento, se refiere a un anticuerpo que ha sido diseñado para comprender una o más regiones marco humanas en la región variable junto con las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada y/o ligera no humana (por ejemplo, ratón, rata o hámster). En determinadas formas de realización, un anticuerpo humanizado comprende secuencias que son completamente humanas excepto las regiones CDR. En algunos casos, los residuos de la región marco (FR) Fv de la inmunoglobulina humana se reemplazan por los residuos no humanos correspondientes. Además, el anticuerpo humanizado puede comprender residuos que no se encuentran ni en la forma humana del anticuerpo ni en las secuencias de marco o CDR importadas, pero que se incluyen para refinar y optimizar aún más el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son

las de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. La región FR se puede modificar de cualquier manera conocida en la técnica y/o proporcionada en el presente documento. Las modificaciones pueden conferir propiedades deseables tales como una vida media aumentada y/o una expresión mejorada en las células huésped. En una forma de realización, la región o regiones FR se pueden modificar o mutar como se describe en el documento US20150232557, que se incorpora aquí como referencia. Otras formas de anticuerpos humanizados pueden tener una o más CDR (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 o CDR H3) que están alteradas con respecto al anticuerpo original, que también se denominan una o más CDR "derivado de" una o más CDR del anticuerpo original. El anticuerpo humanizado también comprenderá de manera óptima al menos una parte de una región o dominio constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana.

[00142] Los anticuerpos humanizados son típicamente menos inmunogénicos para los seres humanos, en comparación con los anticuerpos no humanizados, y por tanto ofrecen beneficios terapéuticos en determinadas situaciones. Por ejemplo, la región constante del anticuerpo se puede diseñar de manera que sea inmunológicamente inerte (por ejemplo, no desencadena la lisis del complemento). Ver, por ejemplo, Publicación PCT N° PCT/GB99/01441; Solicitud de Patente del

Reino Unido No. 9809951.8, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Los expertos en la técnica conocerán los anticuerpos humanizados y también conocerán las técnicas adecuadas para su generación. Véase, por ejemplo, Hwang, W. Y. K., et al., Methods 36:35, 2005; Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86: 10029-10033, 1989; Jones et al., Nature, 321: 522-25, 1986; Riechmann et al., Nature, 332: 323-27, 1988; Verhoeyen et al., Science, 239: 1534-36, 1988; Orlandi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86: 3833-37, 1989; Patente de EE.UU. N° 5.225.539; 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 6,180,370; y Selick et al., WO 90/07861, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Otros métodos de humanización de anticuerpos que también pueden utilizarse se describen en Daugherty et al., Nucl. Acids Res. 19: 2471-2476, 1991 y en la patente de EE.UU. N° 6.180.377; 6,054,297; 5.997.867; 5,866,692; 6,210,671; y 6.350.861; y en la Publicación PCT No. WO 01/27160, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ASC o un fragmento de unión al antígeno anti-ASC de la invención puede comprender una secuencia de aminoácidos de la región VH que comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8; y una secuencia de aminoácidos de la región VL que comprende LCDR1 de SEQ ID

NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14; y una o más secuencias de la región estructural humana.

[00143] En algunas formas de realización, un anticuerpo de la invención es un anticuerpo quimérico y se une específicamente a ASC. En algunos casos, el anticuerpo quimérico anti-ASC reduce la actividad de ASC. "Anticuerpo quimérico", como se usa el término en este documento, se refiere a un anticuerpo que ha sido diseñado para comprender al menos una región constante humana. Por ejemplo, una o todas las regiones variables de la(s) cadena(s) ligera(s) y/o una o todas las regiones variables de la(s) cadena(s) pesada(s) de un anticuerpo de ratón (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal de ratón) se pueden unir cada una a un región constante humana, tal como, sin limitación, una región constante humana IgG1. Los anticuerpos quiméricos son típicamente menos inmunogénicos para los seres humanos, en relación con los anticuerpos no quiméricos, y por tanto ofrecen beneficios terapéuticos en determinadas situaciones. Los expertos en la técnica conocerán los anticuerpos quiméricos y también conocerán las técnicas adecuadas para su generación. Véase, por ejemplo, Cabilly et al., Patente de EE.UU. N° 4.816.567; Shoemaker et al., Patente de EE.UU. N° 4.978.775; Beavers et al., Patente de EE.UU. N° 4.975.369; y Boss et al., patente de EE.UU. 4.816.397, cada una de las cuales se incorpora aquí como

referencia en su totalidad. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención puede comprender una región VH que comprende SEQ ID NO: 22; una región VL que comprende la SEQ ID NO: 31 y una región constante humana.

[00144] Como se usa en este documento, los términos "unión inmunológica" y "propiedades de unión inmunológica" se refieren a las interacciones no covalentes del tipo que ocurren entre una molécula de inmunoglobulina (por ejemplo, un anticuerpo) y un antígeno para el que la inmunoglobulina es específica. La fuerza o afinidad de las interacciones de unión inmunológica se puede expresar en términos de la constante de disociación (K_d) de la interacción, en la que una K_d más pequeña representa una mayor afinidad. Las propiedades de unión inmunológica de polipéptidos seleccionados se pueden cuantificar usando métodos bien conocidos en la técnica. Uno de estos métodos implica medir las tasas de formación y disociación del complejo de antígeno/sitio de unión al antígeno, donde esas tasas dependen de las concentraciones de los socios del complejo, la afinidad de la interacción y los parámetros geométricos que influyen igualmente en la tasa en ambas direcciones. Por tanto, tanto la "constante de velocidad activa" (K_{on}) como la "constante de velocidad inactiva" (K_{off}) pueden determinarse mediante el cálculo de las concentraciones y

las velocidades reales de asociación y disociación. (Véase Nature 361: 186 - 87 (1993)). La relación de Koff/Kon permite la cancelación de todos los parámetros no relacionados con la afinidad y es igual a la constante de disociación Kd. (Véase, en general, Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59: 439-473). Se dice que un anticuerpo de la presente invención se une específicamente a un epítipo (por ejemplo, Fragmento ASC con el aminoácido SEQ ID NO: 5) cuando la constante de unión en equilibrio (Kd) es $\leq 10 \mu\text{M}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, y $\leq 100 \text{ pM}$ a aproximadamente 1 pM , medido mediante ensayos tales como ensayos de unión de radioligando o ensayos similares conocidos por los expertos en la técnica.

[00145] En ciertos aspectos, un anticuerpo de la invención es monovalente o bivalente y comprende una cadena simple o doble. Funcionalmente, la afinidad de unión de un anticuerpo puede estar dentro del rango de 10^{-5} M a 10^{-12} M . Por ejemplo, la afinidad de unión de un anticuerpo es de 10^{-6} M a 10^{-12} M , de 10^{-7} M a 10^{-12} M , de 10^{-8} M a 10^{-12} M , de 10^{-9} M a 10^{-12} M , de 10^{-5} M a 10^{-11} M , de 10^{-6} M a 10^{-11} M , de 10^{-7} M a 10^{-11} M , de 10^{-8} M a 10^{-11} M , de 10^{-9} M a 10^{-11} M , de 10^{-10} M a 10^{-11} M , de 10^{-5} M a 10^{-10} M , de 10^{-6} M a 10^{-10} M , de 10^{-7} M a 10^{-10} M , de 10^{-8} M a 10^{-10} M , de 10^{-9} M a 10^{-10} M , de 10^{-5} M a 10^{-9} M , de 10^{-6} M a 10^{-9} M , de 10^{-7} M a 10^{-9} M , de 10^{-8} M a 10^{-9} M , de

10^{-5} M a 10^{-8} M, de 10^{-6} M a 10^{-8} M, de 10^{-7} M a 10^{-8} M, de 10^{-5} M a 10^{-7} M, de 10^{-6} M a 10^{-7} M or from 10^{-5} M a 10^{-6} M.

[00146] Los métodos para determinar la especificidad y afinidad de anticuerpos monoclonales mediante inhibición competitiva se pueden encontrar en Harlow, et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988, Colligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993), and Muller, Meth. Enzymol. 92:589-601, 1983, cuyas referencias se incorporan en su totalidad aquí como referencia.

[00147] Los anticuerpos antiinflamamasoma (por ejemplo, Anti-ASC y anti-AIM2) de la presente invención se pueden preparar de forma rutinaria de acuerdo con métodos tales como, pero sin limitarse a, la inoculación de un animal apropiado con el polipéptido o un fragmento antigénico, en estimulación in vitro de poblaciones de linfocitos, métodos sintéticos, hibridomas y/o células recombinantes que expresan el ácido nucleico que codifica dichos anticuerpos anti-ASC o anti-NLR1. Inmunización de un animal usando ASC recombinante purificada o fragmentos de péptidos de la misma, por ejemplo, Residuos 178-193 (SEQ ID NO: 1) de ASC de rata (por ejemplo, Número de acceso BAC43754), SEQ ID NO: 2 de ASC humana o residuos 21-41 (SEQ ID NO: 5) de ASC

humana (por ejemplo, número de acceso NP_037390.2), es un ejemplo de un método para preparar anticuerpos anti-ASC. De manera similar, la inmunización de un animal usando NLRP1 recombinante purificada o fragmentos de péptidos del mismo, por ejemplo, residuos MEE SQS KEE SNT EG-cys (SEQ ID NO: 4) de NALP1 de rata o SEQ ID NO: 3 de NALP1 humana, es un ejemplo de una método de preparación de anticuerpos anti-NLRP1.

[00148] Los anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a ASC o NLRP1 pueden obtenerse mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Kohler and Milstein, Nature 256:495-497, 1975; U.S. Pat. No. 4,376,110; Ausubel et al., eds., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1987, 1992); Harlow and Lane ANTIBODIES: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988; Colligan et al., eds., Current Protocols in Immunology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience, N.Y., (1992, 1993), cuyos contenidos se incorporan en su totalidad aquí como referencia. Dichos anticuerpos pueden ser de cualquier clase de inmunoglobulina, incluidas IgG, IgM, IgE, IgA, GILD y cualquier subclase de las mismas. Un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal de la presente invención puede cultivarse in vitro, in situ o in vivo. En una forma

de realización, un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal anti-ASC de la presente divulgación es el hibridoma ICCN1.OH. En otra forma de realización, un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal anti-ASC de la presente divulgación produce anticuerpos monoclonales que comprenden una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en la que la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de la SEC. ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de los mismos que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3. En otra forma de realización, un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal anti-ASC de la presente divulgación produce anticuerpos monoclonales que comprenden una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de SEQ. ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de los mismos que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3. En otra forma de realización más, un hibridoma que produce un anticuerpo monoclonal anti-ASC de la presente divulgación produce anticuerpos monoclonales que comprenden una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende HCDR1 de

SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de las mismas que tiene al menos una sustitución de aminoácidos en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3 y en la que la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de los mismos que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

Administración de composiciones

[00149] Las composiciones de la invención se pueden administrar a mamíferos (por ejemplo, roedores, seres humanos) en cualquier formulación adecuada. Por ejemplo, los anticuerpos anti-ASC se pueden formular en portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables tales como solución salina fisiológica o una solución salina tamponada. Los portadores y diluyentes adecuados pueden seleccionarse basándose en el modo y la vía de administración y la práctica farmacéutica estándar. Se puede encontrar una descripción de portadores y diluyentes farmacéuticamente aceptables ejemplares, así como formulaciones farmacéuticas, en Remington's Pharmaceutical Sciences, un texto estándar en este campo, y en USP/NF. Pueden añadirse otras sustancias a las composiciones para estabilizar y/o conservar las composiciones.

[00150] Las composiciones de la invención se pueden administrar a mamíferos mediante cualquier técnica convencional. Normalmente, dicha administración será por inhalación o por vía parenteral (por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal o intratecal). Las composiciones también pueden administrarse directamente a un sitio objetivo mediante, por ejemplo, administración quirúrgica a un sitio objetivo interno o externo, o mediante catéter a un sitio accesible por un vaso sanguíneo. Las composiciones se pueden administrar en un solo bolo, múltiples inyecciones o mediante infusión continua (por ejemplo, por vía intravenosa, mediante diálisis peritoneal, infusión con bomba). Para la administración parenteral, las composiciones se pueden formular en forma esterilizada sin pirógenos.

Dosis efectivas

[00151] Las composiciones descritas anteriormente se pueden administrar a un mamífero (por ejemplo, una rata, un ser humano) en una cantidad eficaz, es decir, una cantidad capaz de producir un resultado deseable en un mamífero tratado (por ejemplo, reducir la inflamación en el SNC de un mamífero sometido a una lesión traumática del SNC o accidente cerebrovascular o que tiene una enfermedad

autoinmune, autoinflamatoria, metabólica, neurodegenerativa o del SNC) Tal cantidad terapéuticamente eficaz se puede determinar como se describe a continuación. La cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un agente como se proporciona en este documento (por ejemplo, Un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo derivado del mismo como se proporciona en este documento como, por ejemplo, IC 100) generalmente puede ser de aproximadamente 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175 o 200 mg/kg de peso corporal del paciente. La cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un agente como se proporciona en este documento (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo derivado del mismo como se proporciona en este documento, como, por ejemplo, IC 100) generalmente puede ser de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal del paciente. La cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un agente como se proporciona en este documento (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o fragmento de anticuerpo derivado del mismo como se proporciona en este documento, como, por ejemplo, IC 100) generalmente puede ser de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 0,01 mg/kg, aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 0,1

mg/kg, aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 75 mg/kg, aproximadamente 75 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, aproximadamente 100 mg/kg a aproximadamente 125 mg/kg, aproximadamente 125 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg, aproximadamente 150 mg/kg a aproximadamente 175 mg/kg o aproximadamente 175 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg del peso corporal del sujeto. La composición que comprende un agente como se proporciona en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo derivado del mismo como se proporciona en el presente documento tal como, por ejemplo, IC 100) se puede administrar en dosis únicas o múltiples.

[00152] La toxicidad y la eficacia terapéutica de las composiciones utilizadas en los métodos de la invención se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar, utilizando células en cultivo o animales experimentales para determinar la DL50 (la dosis letal para el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD50/ED50. En algunos casos, las composiciones aquí proporcionadas exhiben

grandes índices terapéuticos. Si bien se pueden usar aquellos que exhiben efectos secundarios tóxicos, se debe tener cuidado de diseñar un sistema de administración que minimice el daño potencial de tales efectos secundarios. En algunos casos, la dosis de las composiciones aquí proporcionadas se encuentra dentro de un intervalo que incluye una DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada.

[00153] Como es bien sabido en las técnicas médica y veterinaria, la dosificación para cualquier sujeto depende de muchos factores, incluido el tamaño del sujeto, la superficie corporal, la edad, la composición particular a administrar, el tiempo y la vía de administración, la salud general y otros medicamentos que se administran al mismo tiempo.

EJEMPLOS

[00154] La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos específicos. Los ejemplos se proporcionan sólo con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

Ejemplo 1: Papel de la señalización del inflamasoma mediada por EV en ALI después de una LCT y efectos de su neutralización

[00155] La disfunción pulmonar se presenta a menudo como una complicación de una lesión cerebral traumática grave (1). Aproximadamente el 20-25 por ciento de los sujetos con TCE desarrollan lesión pulmonar aguda (ALI) (2), pero los mecanismos que median la patología de la ALI inducida por TBI siguen estando poco definidos. La literatura anterior ha apoyado la idea de que la disfunción pulmonar después de un TCE se debe a la respuesta simpática al aumento de la presión intracraneal que conduce a la disfunción cardiopulmonar (42). Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que una respuesta inflamatoria sistémica también juega un papel clave en la lesión pulmonar inducida por TBI (43). Específicamente, la vía del receptor del ligando HMGB1-RAGE sirve como mecanismo de transducción central para la disfunción pulmonar después de un TCE (8). Además, HMGB1 induce la activación del inflamasoma AIM2 (37). Además, la literatura previa revela que los patógenos secretan EV que transportan DAMP, como HMGB1, y desencadenan inflamación (Buzas et al., 2014). Varios estudios han demostrado que la barrera hematoencefálica (BHE) es permeable después de una lesión cerebral traumática tan pronto como 3-6 horas después de la lesión, lo que daña la

barrera protectora entre el cerebro y el compartimento intravascular y conduce a la fuga de proteínas y líquido (44). La interrupción de la BHE después de una lesión da como resultado la secreción de mediadores inflamatorios, como los DAMP, que pueden aumentar la inflamación del cerebro y dañar los órganos distales (5). Varios mediadores inflamatorios pueden actuar como marcadores claros de lesión cerebral, sin embargo, su validez no está ampliamente aceptada (45). Además, actualmente no existe un tratamiento o biomarcador clínicamente aprobado para la ALI inducida por TBI. Recientemente, los EV se han convertido en un área de interés en la investigación de biomarcadores para varios tipos diferentes de enfermedades, incluida la lesión pulmonar (46) y el TBI (47). Se ha demostrado previamente que en el EV aislado del líquido cefalorraquídeo de un paciente con TCE, hay un aumento de proteínas del inflamasoma en comparación con las muestras de control (14). En este ejemplo, se examinó la contribución de la señalización del inflamasoma mediada por EV en la etiología de la ALI inducida por TBI.

Materiales y métodos

Animales y lesión cerebral traumática

[00156] Todos los procedimientos con animales fueron aprobados por el Comité Institucional de Uso y Cuidado de

Animales de la Facultad de Medicina Miller de la Universidad de Miami (Garantía de Bienestar Animal A3224-01) y se realizaron de acuerdo con la Guía de los NIH para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio. Se siguieron las pautas ARRIVE al realizar este estudio. Todos los ratones C57/BL6 tenían de 8 a 12 semanas y de 24 a 32 gramos. Los ratones se asignaron aleatoriamente de forma prospectiva a grupos experimentales (simulados, 4 h, 24) para TBI, grupos experimentales (sin tratamiento previo, solución salina simulada, no tratados, enoxaparina, anti-ASC) para transferencia adoptiva y tratamiento. Para los grupos de experimentos de TBI, los animales simulados se sometieron a procedimiento quirúrgico pero no resultaron heridos. Para los estudios de tratamiento de transferencia adoptiva, el grupo de solución salina simulada se sometió a procedimientos quirúrgicos y recibió solución salina como tratamiento de portador. Los animales ingenuos no se sometieron a procedimientos quirúrgicos. Se utilizó un tamaño de muestra de 5 a 6 para cada grupo basado en el análisis de potencia (utilizando el análisis de potencia G*, con un tamaño de efecto $F = 0,85$, α establecido en 0,05) y datos históricos 49, 50. Todos los ratones se alojaron en el La instalación para animales libre de antígeno (VAF) en el Lois Pope Life Center de la Universidad de Miami en ciclos de luz/oscuridad de 12 horas y se suministró comida

y agua ad libitum. La instalación realiza procedimientos de cría dos veces por semana y verifica las condiciones de los animales a diario. Los animales fueron observados en el posoperatorio, donde se mantuvieron sobre una almohadilla térmica y la temperatura corporal se controló con una sonda rectal donde se mantuvo a 37 °C, en nuestra sala de operaciones y luego se trasladó a los cuartos de los animales.

[00157] Antes de la cirugía, los animales se anestesiaron con ketamina y xilazina (intraperitoneal, i.p.). A continuación, los animales anestesiados se colocaron sobre una almohadilla térmica para asegurar una temperatura corporal de 37°C. La LCT se realizó utilizando un modelo de Impacto Cortical Controlado (CCI). Se realizó una craneotomía de 5 mm en la cortical derecha (-2,5 mm posterior, 2,0 mm lateral de Bregma). La lesión se indujo utilizando el dispositivo ECCI-6.3 (Custom Design & Fabrication, Richmond, VA, EE. UU.) Con un incautador de 3 mm a una velocidad de 6 m/s, una profundidad de 0,8 mm y una duración de impacto de 150 ms (15). Siguiendo estos procedimientos, los animales fueron devueltos a sus jaulas y se les dio comida y agua. Los animales se sacrificaron a las 4 horas y 24 horas después de la TBI como se describe. Los animales simulados se anestesiaron y se sometieron a la

misma incisión prequirúrgica que los animales lesionados, pero no se sometieron a craneotomía ni contusión.

Recolección de tejidos

[00158] Todos los animales fueron anestesiados con ketamina y xilazina, antes de la perfusión. A continuación, los animales se sometieron a perfusión traqueal. Los pulmones se infundieron con paraformaldehído (PFA) al 4% usando un catéter traqueal a 20 cm H₂O y luego se fijaron en PFA al 4% durante la noche a 4 °C. Los tejidos pulmonares fijados se embebieron en parafina y se procesaron secciones de 5 µm (16). Se recogió tejido del pulmón derecho para el aislamiento de proteínas y los análisis moleculares. Luego, los animales se sometieron a decapitación y se recogió tejido cortical derecho para el aislamiento de proteínas y los análisis moleculares.

Ensayo de aislamiento de piroptosomas

[00159] Se filtraron lisados de tejido pulmonar de ratones a través de una membrana de difluoruro de polivinilideno (PVDF) de baja unión de 5 µm (Millipore). Después de la filtración, el sobrenadante se centrifugó a 2700 xg durante 8 minutos. El sedimento se resuspendió en 40 µl de tampón de ácido 3 [(3-colamidopropil) dimetilamonio] -

propanosulfónico (CHAPS) (20 mmol/L de HEPES-KOH, pH 7,5, 5 mmol/L de MgCl₂, 0,5 mmol/L de EGTA, 0,1 mmol/L fluoruro de fenilmetilsulfonilo, cóctel inhibidor de proteasa y CHAPS al 0,1%). El piroptosoma se sedimentó mediante centrifugación a 2700 xg durante 8 minutos. A continuación, el sedimento se resuspendió y se incubó en 27,8 µl de tampón CHAPS con 2,2 µl de sustrato disuccinimidilo (9) durante 30 minutos a temperatura ambiente para reticular los dímeros ASC. Por último, se añadió una cantidad igual de tampón 2x Laemmli y se analizaron las proteínas mediante inmunotransferencia utilizando anticuerpos disponibles comercialmente para ASC y Gasdermin D (GSD).

Extracción nuclear y citoplasmática

[00160] Las fracciones nucleares y citoplasmáticas se extrajeron usando los reactivos de extracción nuclear y citoplasmática NE-PER (Thermo Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, se cortaron muestras de tejido pulmonar de ratones en trozos de 20-100 mg y se centrifugaron a 500 x g durante 5 minutos. Las piezas de tejido se homogeneizaron con el reactivo de extracción citoplasmática y se centrifugaron a 16.000 x g durante 5 minutos. Luego se eliminó el sobrenadante (extracto celular) y el sedimento se centrifugó con Reactivo de Extracción Nuclear (Thermo Scientific) a 16.000 x g

durante 10 minutos. Este sobrenadante correspondió a la fracción nuclear, la cual fue removida y almacenada a -80 °C.

Inmunotransferencia

[00161] Se congelaron instantáneamente muestras de tejido pulmonar y cerebral en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C. Se homogeneizaron secciones de 2 mm de pulmón inferior derecho y tejido cortical derecho en tampón de extracción que contenía un cóctel inhibidor de proteasa y fosfatasa (Sigma, St Louis, MO, EE. UU.) y se resolvieron en geles prefabricados de Tris-TGX Criterion al 4-20% (Bio-Rad, Hercules, CA, EE. UU.) Como se describe en de Rivero Vaccari et al. 2015 (13) utilizando anticuerpos contra caspasa-1 (Novus Biologicals), ASC (Santa Cruz), IL-1 β (Señalización celular), IL-18 (Abcam) AIM2 (Santa Cruz) y HMGB1 (Millipore). La cuantificación de la densidad de la banda se realizó usando Image Lab y todos los datos se normalizaron a β -actina.

Inmunohistoquímica

[00162] Se desparafinaron secciones de tejido en xileno y luego se rehidrataron usando etanol y solución salina tampón Tris. Luego se llevaron a cabo procedimientos inmunohistoquímicos para doble tinción como se describió

anteriormente (16). Las secciones se incubaron durante la noche a 4 °C con anticuerpos contra Caspase-1 y ASC (Millipore), AIM2 (Santa Cruz), HMGB1 (Millipore) y SPC (Millipore). Se examinaron secciones de pulmón inmunoteñidas de ratones simulados de 4 horas y 24 horas con un microscopio confocal de barrido láser Zeiss (Zeiss, Inc., Thornwood, NY, EE. UU.). Las secciones de pulmón fueron analizadas por individuos que estaban cegados a los grupos.

Aislamiento de EV

[00163] Los EV se aislaron del suero de ratones lesionados por TBI y ratones lesionados usando la solución de aislamiento total de exosomas de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen). Brevemente, se centrifugaron 100 µl de cada muestra a 2000 x g durante 30 minutos. A continuación, se incubó el sobrenadante con 20 µl de reactivo de aislamiento total de exosomas (TEI) durante 30 minutos a 4 °C seguido de centrifugación a 10.000 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se descartaron los sobrenadantes y se resuspendió el sedimento en 100 µl de PBS. Los EV se caracterizaron por la expresión de CD81 y por análisis de seguimiento de Nanosight (FIG. 6).

Transferencia adoptiva de VE

[00164] Se inyectaron EV derivado de suero de C57BL-6 TBI y ratones simulados en ratones C57BL-6 sin experiencia a través de la vena yugular a una dosis de $1,0 \times 10^{10}$ partículas por gramo/peso corporal 48. El recuento de partículas se midió mediante análisis de seguimiento de Nanosight y las muestras se diluyeron en consecuencia. Antes de la cirugía, los animales fueron anestesiados con ketamina y xileno. Se hizo una incisión de 1-2 cm entre la mandíbula y la clavícula. Se elevó y ató la vena yugular, seguido de la colocación de un catéter. Se transfirieron EV derivados de suero y se recogieron tejidos de pulmón y cerebro 24 horas después de la inyección para análisis (n = 5).

Tratamiento con enoxaparina y anti-ASC

[00165] Se inyectaron EV derivado de suero de ratones TBI en ratones C57-BL6 sin tratamiento previo a través de una inyección en la vena yugular. Una hora más tarde, se administraron enoxaparina (3 mg/kg) (n = 4) y Anti-ASC (IC 100; 5 mg/kg) (n = 4) a los animales receptores. Se utilizaron los siguientes grupos: 1) el grupo sin tratamiento previo no recibió ningún tratamiento, 2) el grupo de solución salina simulada se utilizó como control negativo y se sometió a una inyección en la vena yugular de solo solución salina, 3) el grupo sin tratamiento recibió

EV de ratones con TBI sin ningún tratamiento y se utilizó como control positivo, 4) el grupo ENOX recibió EV de ratones TBI y enoxaparina, y 5) el grupo Anti-ASC recibió EV de ratones TBI y Anti-ASC. El orden de tratamiento fue aleatorio. Se recogieron tejidos de pulmón y cerebro 24 horas después de la inyección para su análisis. Cabe señalar que el anticuerpo anti-ASC usado en los experimentos de tratamiento fue un anticuerpo monoclonal humanizado contra ASC y reconoce ASC murino, humano y porcino.

Puntuación de histología y lesión pulmonar

[00166] Se tiñeron secciones de tejido pulmonar mediante un método estándar de hematoxilina y eosina para histología, morfometría y puntuación de ALI. Un patólogo ciego puntuó las secciones de pulmón utilizando el Sistema de puntuación de lesiones pulmonares del Informe del taller de la American Thoracic Society (17). Se eligieron veinte campos aleatorios de alta potencia para la puntuación. Los criterios para la puntuación de ALI se basaron en el número de neutrófilos en el espacio alveolar, el espacio intersticial, las membranas hialinas, los detritos proteicos que llenan los espacios aéreos y el engrosamiento del tabique alveolar. Con base en estos criterios, se otorgó una puntuación entre 0 (sin lesión) y 1 (lesión grave).

Análisis estadístico

[00167] Los datos se analizaron usando una prueba T de estudiante para dos grupos y un ANOVA de un factor seguido de pruebas de comparación múltiple de Tukey (GraphPad Prism versión 7.0) para dos o más grupos. Se utilizó la prueba de D'Agostino-Pearson para comprobar la normalidad. Los datos se expresan como media+/- SEM. Los valores de p de significación utilizados fueron *p <0,05.

Resultados

El TBI severo aumenta las proteínas del Inflammasoma AIM2 y la expresión de HMGB1 en el cerebro de ratones

[00168] Los niveles excesivos de las citoquinas proinflamatorias IL-1 β e IL-18 y las proteínas del inflammasoma están asociados con un daño secundario después de una lesión cerebral por percusión de fluidos (18). Para determinar si la CCI severa inducía el procesamiento de citoquinas proinflamatorias y las alteraciones en los niveles de proteínas del inflammasoma, se analizaron los lisados corticales, sin embargo, existe una investigación limitada sobre la activación del inflammasoma en el TCE grave. En este ejemplo, después de una CCI severa, se examinaron los lisados corticales para determinar los niveles de caspasa-1 (Fig 1A, B) (p < 0,001), ASC (Fig 1A,

C) ($p = 0,003$), IL-18 (FIG. 1 A, D) ($p = 0,0042$), AIM2 (FIG. 1A, F) ($p = 0,0197$) e IL-1 β (FIG. 1 A, G) ($p = 0,0141$) a las 4 y 24 horas después lesión. Los niveles de caspasa-1, ASC, AIM2 e IL-1 β alcanzaron su punto máximo 4 horas después de la CCI y disminuyeron a las 24 horas. El curso temporal para la maduración de las citoquinas inflamatorias difirió ligeramente, pero alcanzó su punto máximo 24 horas después de la LCT. Dado que otros han demostrado un papel del inflamasoma DAMP HMGB1 en la activación del inflamasoma AIM2, los niveles de estas proteínas también se determinaron en lisados corticales. Como se muestra en las Figs. 1A, 1E, CCI indujo un aumento significativo en los niveles de HMGB1 (Fig. 1A, 1E) ($p = 0,0121$) a las 4 y 24 horas después de la lesión. Estos datos indican que después de una CCI grave en ratones, los niveles de las proteínas del inflamasoma AIM2 se elevaron significativamente en la corteza después de la lesión.

TBI grave aumenta la proteína del inflamasoma AIM2 y la expresión de HMGB1 en los pulmones de ratones

[00169] Para determinar si CCI inducía la activación del inflamasoma en los pulmones, se realizó un análisis de inmunotransferencia de lisados pulmonares para caspasa-1 (Fig. 1 H, I) ($p = 0,0026$), ASC (Fig 1 H, J) ($p = 0,0427$), IL-18 (FIG. 1H, K) ($p = 0,0025$), IL-1 β (FIG. 1 H, N) ($p =$

0,0012) y AIM2 (FIG. 1 H, M) ($p < 0,001$) y NLRP3 ($p = 0,0047$) (FIG. complementaria 1). Los niveles aumentados de caspasa-1, ASC, IL-18 y AIM2 aumentaron significativamente a las 4 horas y 24 horas después de la lesión en comparación con el control simulado. Sin embargo, el transcurso del tiempo del aumento en la expresión de proteínas difirió ligeramente del observado en el cerebro en donde alcanzaron su punto máximo 24 horas después de la CCI. Dado que el eje HMGB1-RAGE juega un papel en el mecanismo por el cual el TBI induce la disfunción pulmonar (8), los lisados pulmonares se analizaron para determinar los niveles de expresión de la proteína HMGB1. La FIG. 1H, 1L ($p = 0,0158$) muestra que la expresión de HMGB1 aumentó a las 4 y 24 horas después del TCE, lo que indica que el inflamasoma AIM2 y el HMGB1 juegan un papel en la respuesta inflamatoria en los pulmones después del TBI.

TBI induce piroptosis en los pulmones de ratones

[00170] Como se mostró previamente, la activación del inflamasoma AIM2 en las neuronas corticales conduce a la muerte de las células piroptóticas (19). Para investigar si el TBI da como resultado piroptosis en el tejido pulmonar de ratones, se aisló el piroptosoma en el tejido pulmonar después del TBI. Los animales con TBI, sacrificados 4 horas después de la lesión, mostraron evidencia de

oligomerización de ASC en comparación con los animales simulados (FIG. 4A). Se observaron dímeros y trímeros de ASC en animales con TBI (50, 75 kDA respectivamente). Estos resultados fueron indicativos de la formación de piroptosomas, que pueden caracterizarse por el ensamblaje supramolecular de oligómeros ASC. Además, la gasdermina D (GSDMD), que se escinde con la activación de la caspasa-1 y desencadena la piroptosis y la liberación de IL-1 β (20), se incrementó significativamente en los pulmones de los animales con TBI en comparación con la simulación (FIG. 4B y 4C) ($p = 0,0001$). Estos hallazgos indicaron que la piroptosis contribuye a la muerte celular en el tejido pulmonar después de una LCT.

El TBI aumenta la inmunorreactividad de las proteínas del inflamasoma en las células epiteliales alveolares tipo II

[00171] El TBI puede conducir a una fuga capilar, lo que da como resultado una mayor permeabilidad vascular y daño a las células epiteliales alveolares especializadas, llamadas neumocitos de tipo II (5). Para examinar los efectos celulares de la LCT sobre la expresión del inflamasoma en los pulmones después de una lesión, se realizó un análisis inmunohistoquímico en secciones de pulmón de animales lesionados simulados, de 4 horas y de 24 horas. Se sabe que las células epiteliales alveolares de tipo II son el

principal tipo de células pulmonares lesionadas en la ALI (17). Las secciones de pulmón se tiñeron con anticuerpos contra AIM2, caspasa-1 y ASC (verde) y se tiñeron conjuntamente con proteína C Pro-surfactante (Pro-SPC, rojo), un marcador de células epiteliales de tipo II, y tinción nuclear DAPI (azul). Como se muestra en la FIG. 2A-2C, caspasa-1 activa (FIG. 2A), ASC (FIG. 2B), así como AIM2 (FIG. 2C) están presentes en células positivas a SPC (flecha). La inmunorreactividad de estas proteínas del inflammasoma aumentó después de la LCT. Estos hallazgos indican que las proteínas del inflammasoma se expresan en células epiteliales alveolares de tipo II y que el TBI da como resultado un aumento de la inmunorreactividad en estas células.

TBI aumenta la expresión de HMGB1 nuclear y citoplásmica

[00172] Para determinar la distribución celular de HMGB1 en células pulmonares después de TBI, se aislaron fracciones nucleares y citoplasmáticas de homogeneizados pulmonares (FIG. 3A, 3C) ($p = 0,0337$). La inmunotransferencia indicó que ambas fracciones tenían aumentos significativos en la expresión de HMGB1 a las 4 horas después de la LCT (FIG. 3B, 3D) ($p = 0,0345$). También se realizó un análisis inmunohistoquímico de HMGB1 para determinar los cambios en la inmunorreactividad en secciones de pulmón después de una

LCT. Las secciones se tiñeron conjuntamente para HMGB1 (verde) y SPC (rojo) y tinción nuclear DAPI (azul). La inmunorreactividad de HMGB1 aumentó a las 4 horas y a las 24 horas en comparación con la simulación. Se observó una inmunorreactividad débil de HMGB1 en células positivas para SPC (flecha) (FIG. 3E); por lo tanto, lo que sugiere que los cambios de HMGB1 en el tejido pulmonar lesionado pueden ser citoplasmáticos.

TBI induce cambios en la morfología pulmonar e induce ALI [00173] La ALI se puede caracterizar por procesos inflamatorios, que conducen a edema alveolar e intersticial, así como a la infiltración de células inflamatorias en el espacio alveolar (23). El análisis histopatológico del tejido pulmonar (FIG. 5A) indica que el TBI grave provoca cambios sustanciales en la arquitectura y morfología del pulmón 4 y 24 horas después de la lesión. Los animales simulados mostraron una morfología alveolar normal, mientras que los animales lesionados mostraron cambios agudos en el edema alveolar, pero disminuyeron ligeramente 24 horas después de la lesión (flechas largas). Además, hubo evidencia de infiltración de neutrófilos (puntas de flecha) y cambios en la morfología de las membranas capilares alveolares (*) en ambos puntos de tiempo. Los animales heridos mostraron signos de edema

intersticial, que fue más pronunciado a las 4 horas después de la lesión, pero todavía era evidente a las 24 horas después de la lesión (flechas cortas). Por último, los animales lesionados también mostraron evidencia de engrosamiento del área intersticial y del tabique alveolar (libra, #).

[00174] Para confirmar que la lesión grave induce ALI, se analizaron secciones histológicas utilizando el sistema de puntuación ALI definido por la American Thoracic Society (17). Este sistema se basa en la evidencia de infiltración de neutrófilos en los espacios alveolar e intersticial, formación de membranas hialinas, detritos proteicos que llenan los espacios aéreos y engrosamiento del tabique alveolar. (17). Estas características se elevaron significativamente en los animales lesionados y las puntuaciones de ALI fueron en general más altas en los animales con TBI en comparación con los simulados (FIG. 5B) ($p = 0,0017$).

El tratamiento con enoxaparina y anticuerpos anti-ASC reduce significativamente la expresión del inflammasoma y la ALI después de la transferencia adoptiva de EV de ratones con TBI

[00175] Con el fin de proporcionar evidencia de que el EV y su carga que pueden ser liberados a la circulación después

de TBI pueden inducir la activación del inflamasoma en el pulmón, se realizó un experimento clásico de transferencia adoptiva usando EV derivado de suero de ratones CCI severos. Las preparaciones de EV se validaron usando Western Blot para el marcador EV CD81 (FIG. 6). Los controles recibieron EV aislado de animales falsos o sin tratamiento previo. Como se muestra en la FIG. 7A-7F, caspasa-1 activa (FIG. 7A, 7B), ASC (FIG. 7A, 7C), IL-18 (FIG. 7A, 7D), AIM2 (FIG. 7A, 7E) y HMGB1 (FIG. 7A, 7F) se elevaron significativamente en los pulmones de los animales que recibieron el EV de animales lesionados por TBI en comparación con los pulmones de animales que recibieron EV de ratones no lesionados o ingenuos o ratones ingenuos. Además, la infiltración de células inflamatorias (flechas) fue evidente en los pulmones tratados con EV de ratones TBI (FIG. 7G). Por último, la puntuación ALI también fue significativamente mayor en los animales que recibieron EV de ratones lesionados (FIG. 7G). Estos estudios proporcionaron evidencia de un eje neural-respiratorio-inflamasoma en donde el EV liberado a la circulación después de la LCT activa el inflamasoma en las células diana del pulmón que contribuyen a la patogénesis de la ALI.

[00176] A continuación, se intentó el bloqueo de la captación de exosomas mediante el tratamiento con enoxaparina o un anticuerpo monoclonal contra ASC (IC 100) después de la

transferencia adoptiva de EV de ratones lesionados a ratones sin tratamiento previo. Los animales de control negativo recibieron solución salina y los animales de control positivo no recibieron tratamiento. Como se muestra en la FIG. 8A-8F, Caspasa-1 (FIG. 8A, 8B), ASC (FIG. 8A, 8C), IL-1 β (FIG. 8A, 8D), AIM2 (FIG. 8A, 8E) y HMGB1 (FIG. 8A, 8F) se redujeron significativamente ($p = < 0,0001$) en comparación con el grupo no tratado (control positivo) después del tratamiento con enoxaparina o un anticuerpo anti-ASC monoclonal humanizado (por ejemplo, anticuerpo IC 100). Además, las secciones de pulmón teñidas con H&E mostraron una infiltración de neutrófilos significativamente menor en el espacio alveolar e intersticial, así como sin signos de engrosamiento septal (FIG. 9A-D). Las puntuaciones de ALI para los animales tratados con enoxaparina y anticuerpo anti-ASC (IC 100) fueron significativamente más bajas en comparación con el grupo no tratado (FIG. 9E) ($p = < 0,0001$). Por lo tanto, el EV liberado a la circulación después de un TBI juega un papel en la activación del inflamasoma en las células pulmonares que conducen a la ALI.

Conclusiones

[00177] El TBI puede estar asociado con tasas más altas de ciertas complicaciones médicas, especialmente disfunción

del sistema nervioso central y pulmonar. En este ejemplo, se demostró que el TBI grave aumenta la expresión de HMGB1 y del inflamasoma (por ejemplo, AIM2, caspasa-1 y expresión de ASC) en tejido cortical y pulmonar e induce cambios en la morfología pulmonar compatibles con ALI (por ejemplo, espacio intersticial, engrosamiento del tabique alveolar y edema y hemorragia alveolar) e introduce la idea de un eje inflamatorio neural respiratorio. Es importante destacar que el TBI dio como resultado piroptosis en el tejido pulmonar (por ejemplo, presencia de escisión de GSDMD) y aumento de la expresión de proteínas del inflamasoma en las células epiteliales alveolares de tipo II. Además, la transferencia adoptiva de EV de ratones TBI activó el inflamasoma e indujo ALI, lo que indica que la lesión cerebral induce la liberación de EV que contiene una carga de proteínas del inflamasoma que luego se transportan al inflamasoma, lo que da lugar a ALI. Además, se demostró que al inhibir la captación de EV (enoxaparina) y la activación del inflamasoma (tratamiento con anticuerpo anti-ASC (IC 100)), hay una reducción en la expresión de la proteína del inflamasoma y en el desarrollo de ALI.

[00178] En resumen, este Ejemplo mostró que la señalización del inflamasoma AIM2 juega un papel central en el patomecanismo de la lesión pulmonar después de TBI y demuestra un mecanismo de ALI inducido por TBI que implica

la señalización del inflamasoma mediada por EV. Estos datos proporcionaron evidencia de que la señalización del inflamasoma mediada por EV puede desempeñar un papel central en un eje neuronal-respiratorio-inflamatorio. Por lo tanto, apuntar a este eje con anticuerpos contra proteínas del inflamasoma o fármacos que bloquean la captación de EV puede proporcionar un enfoque terapéutico en la ALI inducida por neurotrauma en todas las áreas de la medicina de cuidados intensivos. A la luz de estos resultados, las estrategias terapéuticas descritas pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del pulmón en general.

Incorporación por referencia

[00179] Las siguientes referencias se incorporan como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

[00180] 1. Pfeifer R, et al. (2015) Development of a standardized trauma-related lung injury model. *J Surg Res* 196(2):388-394.

[00181] 2. Summers CR, Ivins B, & Schwab KA (2009) Traumatic brain injury in the United States: an epidemiologic overview. *The Mount Sinai journal of medicine, New York* 76(2):105-110.

- [00182] 3. Erickson SE, et al. (2009) Recent trends in acute lung injury mortality: 1996-2005. *Crit Care Med* 37(5):1574-1579.
- [00183] 4. Nicolls MR & Laubach VE (2014) Traumatic brain injury: lungs in a RAGE. *Sci Transl Med* 6(252):252fs234.
- [00184] 5. Rincon F, et al. (2012) Impact of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome after traumatic brain injury in the United States. *Neurosurgery* 71(4):795-803.
- [00185] 6. Andersson U & Rauvala H (2011) Introduction: HMGB1 in inflammation and innate immunity. *J Intern Med* 270(4):296-300.
- [00186] 7. Weber DJ, et al. (2014) The HMGB1-RAGE axis mediates traumatic brain injury-induced pulmonary dysfunction in lung transplantation. *Sci Transl Med* 6(252):252ra124.
- [00187] 8. Lu B, et al. (2012) Novel role of PKR in inflammasome activation and HMGB1 release. *Nature* 488(7413):670-674.
- [00188] 9. de Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, & Keane RW (2014) Activation and regulation of cellular inflammasomes: gaps in our knowledge for central nervous system injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official*

journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism 34(3):369-375.

[00189] 10. Ware LB & Matthay MA (2000) The Acute Respiratory Distress Syndrome. *New England Journal of Medicine* 342(18):1334-1349.

[00190] 11. Yanez-Mo M, et al. (2015) Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 4:27066.

[00191] 12. Qu Y, Franchi L, Nunez G, & Dubyak GR (2007) Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *J Immunol* 179(3):1913-1925.

[00192] 13. de Rivero Vaccari JP, et al. (2015) Exosome-mediated inflammasome signaling after central nervous system injury. *J Neurochem.* Jan;136 Suppl 1:39-48. doi: 10.1111/jnc.13036.

[00193] 14. Atkins CM, Cepero ML, Kang Y, Liebl DJ, & Dietrich WD (2013) Effects of early rolipram treatment on histopathological outcome after controlled cortical impact injury in mice. *Neurosci Lett* 532:1-6.

[00194] 15. Wu S, et al. (2010) Conditional overexpression of connective tissue growth factor disrupts

postnatal lung development. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 42(5):552-563.

[00195] 16. Matute-Bello G, et al. (2011) An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 44(5):725-738.

[00196] 17. de Rivero Vaccari JP, et al. (2009) Therapeutic neutralization of the NLRP1 inflammasome reduces the innate immune response and improves histopathology after traumatic brain injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 29(7):1251-1261.

[00197] 18. Adamczak SE, et al. (2014) Pyroptotic neuronal cell death mediated by the AIM2 inflammasome. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 34(4):621-629.

[00198] 19. Liu X, et al. (2016) Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature* 535(7610):153-158.

- [00199] 20. Dolinay T, et al. (2012) Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 185(11):1225-1234.
- [00200] 21. Muller MC, et al. (2014) Contribution of damage-associated molecular patterns to transfusion-related acute lung injury in cardiac surgery. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue* 12(3):368-375.
- [00201] 22. Ragaller M & Richter T (2010) Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Journal of emergencies, trauma, and shock* 3(1):43-51.
- [00202] 23. Lee K & Rincon F (2012) Pulmonary complications in patients with severe brain injury. *Critical care research and practice* 2012:207247.
- [00203] 24. Yasui H, Donahue DL, Walsh M, Castellino FJ, & Ploplis VA (2016) Early coagulation events induce acute lung injury in a rat model of blunt traumatic brain injury. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 311(1):L74-86.
- [00204] 25. Hendrickson CM, et al. (2016) The acute respiratory distress syndrome following isolated severe traumatic brain injury. *J Trauma Acute Care Surg*.
- [00205] 26. Cross LJ & Matthay MA (2011) Biomarkers in acute lung injury: insights into the pathogenesis of acute lung injury. *Crit Care Clin* 27(2):355-377.

- [00206]** 27. Butt Y, Kurdowska A, & Allen TC (2016) Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review. *Archives of pathology & laboratory medicine* 140(4):345-350.
- [00207]** 28. Luh SP & Chiang CH (2007) Acute lung injury/acute respiratory distress syndrome (ALI/ARDS): the mechanism, present strategies and future perspectives of therapies. *Journal of Zhejiang University. Science. B* 8(1):60-69.
- [00208]** 29. Matute-Bello G & Martin TR (2003) Science review: apoptosis in acute lung injury. *Critical care* 7(5):355-358.
- [00209]** 30. Miao EA, Rajan JV, & Aderem A (2011) Caspase-1-induced pyroptotic cell death. *Immunological reviews* 243(1):206-214.
- [00210]** 31. Hornung V, et al. (2009) AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature* 458(7237):514-518.
- [00211]** 32. Lam NY, Rainer TH, Chan LY, Joynt GM, & Lo YM (2003) Time course of early and late changes in plasma DNA in trauma patients. *Clinical chemistry* 49(8):1286-1291.
- [00212]** 33. Fernandes-Alnemri T & Alnemri ES (2008) Assembly, purification, and assay of the activity of the ASC pyroptosome. *Methods Enzymol* 442:251-270.

- [00213] 34. Man SM & Kanneganti TD (2016) Converging roles of caspases in inflammasome activation, cell death and innate immunity. *Nature reviews. Immunology* 16(1):7-21.
- [00214] 35. Liu L, et al. (2014) HMGB1-DNA complex-induced autophagy limits AIM2 inflammasome activation through RAGE. *Biochem Biophys Res Commun* 450(1):851-856.
- [00215] 36. Hoesch RE, et al. (2012) Acute lung injury in critical neurological illness. *Critical care medicine* 40(2):587-593.
- [00216] 37. Kalsotra A, Zhao J, Anakk S, Dash PK, & Strobel HW (2007) Brain trauma leads to enhanced lung inflammation and injury: evidence for role of P4504Fs in resolution. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 27(5):963-974.
- [00217] 38. Hay (2015) Blood-Brain Barrier Disruption Is an Early Event That May Persist for Many Years After Traumatic Brain Injury in Humans. *J Neuropathol Exp Neurol* 74(12):1147-1157.
- [00218] 39. Zygun DA, Kortbeek JB, Fick GH, Laupland KB, & Doig CJ (2005) Non-neurologic organ dysfunction in severe traumatic brain injury. *Critical care medicine* 33(3):654-660.

- [00219]** 40. Peltz ED ME, Eckels PC, Damle SS, Tsuruta Y, Johnson JL, Sauaia A, Silliman CC, Banerjee A, Abraham E. (2009) HMGB1 is markedly elevated within 6 hours of mechanical trauma in humans. *Shock* 32(1):17-22.
- [00220]** 41. Chi W, et al. (2015) HMGB1 promotes the activation of NLRP3 and caspase-8 inflammasomes via NF-kappaB pathway in acute glaucoma. *Journal of neuroinflammation* 12:137.
- [00221]** 42. Woodcock T & Morganti-Kossmann MC (2013) The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. *Frontiers in neurology* 4:18.
- [00222]** 43. Monsel A, Zhu YG, Gudapati V, Lim H, & Lee JW (2016) Mesenchymal stem cell derived secretome and extracellular vesicles for acute lung injury and other inflammatory lung diseases. *Expert opinion on biological therapy* 16(7):859-871.
- [00223]** 44. Taylor DD & Gercel-Taylor C (2014) Exosome platform for diagnosis and monitoring of traumatic brain injury. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 369(1652).
- [00224]** 45. Guo H, Callaway JB, & Ting JP (2015) Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature medicine* 21(7):677-687.

[00225] 46. Silverman WR, et al. (2009) The pannexin 1 channel activates the inflammasome in neurons and astrocytes. *The Journal of biological chemistry* 284(27):18143-18151.

[00226] 47. Tomura S, de Rivero Vaccari JP, Keane RW, Bramlett HM, & Dietrich WD (2012) Effects of therapeutic hypothermia on inflammasome signaling after traumatic brain injury. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 32(10):1939-1947.

[00227] 48. Wiklander, O.P., Nordin, J.Z., O'Loughlin, A., Gustafsson, Y., Corso, G., Mager, I., Vader, P., Lee, Y., Sork, H., Seow, Y., Heldring, N., Alvarez-Erviti, L., Smith, C.I., Le Blanc, K., Macchiarini, P., Jungebluth, P., Wood, M.J. and Andaloussi, S.E. (2015). Extracellular vesicle in vivo biodistribution is determined by cell source, route of administration and targeting. *J Extracell Vesicles* 4, 26316.

[00228] 49. de Rivero Vaccari, J.P., Lotocki, G., Marcillo, A.E., Dietrich, W.D. and Keane, R.W. (2008). A molecular platform in neurons regulates inflammation after spinal cord injury. *J Neurosci* 28, 3404-3414.

[00229] 50. Assis-Nascimento, P., Umland, O., Cepero, M.L. and Liebl, D.J. (2016). A flow cytometric approach to

analyzing mature and progenitor endothelial cells following traumatic brain injury. J Neurosci Methods 263, 57-67.

Ejemplo 2: Papel de la señalización del inflamasoma mediada por EV en ALI después de una LCT en pacientes humanos

[00230] Como seguimiento de los experimentos en ratones del Ejemplo 1, se examinó el papel del EV aislado de pacientes con TBI humano en la señalización del inflamasoma en células endoteliales pulmonares humanas.

[00231] En un primer experimento, los EV derivados de suero se aislaron de pacientes con TBI y de control usando el kit de aislamiento total de exosomas (Thermofisher). Se cultivaron células endoteliales microvasculares humanas pulmonares (HMVEC-Lonza) y se colocaron en placas en una placa de 12 pocillos. Una vez que se alcanzó la confluencia, se administraron EV aislado de TBI y los pacientes de control ($1,94 \times 10^8$ partículas/ml) a las células durante un período de incubación de 4 horas. Después de la incubación, las células se recogieron con 200 μ l de tampón de lisis y se usaron lisados celulares para el análisis de transferencia Western.

[00232] En un segundo experimento, los EV derivados de suero se aislaron de pacientes con TBI y de control usando el kit de aislamiento total de exosomas (Thermofisher). Se cultivaron células endoteliales microvasculares humanas

pulmonares (HMVEC-Lonza) y se colocaron en placas en una placa de 96 pocillos. Después de que se alcanzó la confluencia, se administraron EV aislado de TBI y los pacientes de control ($1,94 \times 10^8$ partículas/ml) a las células durante un período de incubación de 3 horas y luego 1 hora adicional con caspasa-1 FAM FLICA (Tecnologías de inmunohistoquímica) con un 1: 30 relación volumen a volumen. Después de la incubación, se eliminó el medio y las células se lavaron 3 veces con tampón de lavado de apoptosis (Immunohistochemistry Technologies). A continuación, las células se tiñeron conjuntamente con Hoechst para la tinción nuclear y yoduro de propidio para la muerte celular. Se tomaron imágenes usando un microscopio EVOS y luego las células se leyeron bajo un lector de placas fluorescentes a una longitud de onda de excitación de 492 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm. En un segundo experimento, se aislaron EV derivados de suero de pacientes con TBI y de control utilizando el kit de aislamiento total de exosomas (Thermofisher). Se cultivaron células endoteliales microvasculares humanas pulmonares (HMVEC-Lonza) y se colocaron en placas en una placa de 96 pocillos. Después de que se alcanzó la confluencia, se administraron EV aislado de TBI y los pacientes de control ($1,94 \times 10^8$ partículas/ml) a las células durante un período de incubación de 3 horas y luego 1 hora adicional con caspasa-1 FAM FLICA

(Tecnologías de inmunohistoquímica) con un 1: 30 relación volumen a volumen. Después de la incubación, se eliminó el medio y las células se lavaron 3 veces con tampón de lavado de apoptosis (Immunohistochemistry Technologies). A continuación, las células se tiñeron conjuntamente con Hoechst para la tinción nuclear y yoduro de propidio para la muerte celular. Se tomaron imágenes usando un microscopio EVOS y luego se leyeron las células bajo un lector de placas fluorescentes a una longitud de onda de excitación de 492 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm.

Resultados

[00233] Como se muestra en la FIG. 10A-10F, el suministro de EV derivado de suero de pacientes con TBI aumentó la expresión de la proteína del inflammasoma en las células endoteliales pulmonares. La FIG. 10A-10E mostró que la caspasa-1, ASC, AIM2 y HMGB1 se elevaron en PMVEC incubados con TBI-EV durante 4 horas en comparación con PMVEC incubados con control-EV durante 4 horas. Los resultados del inmunoensayo mostraron un aumento significativo en la expresión de IL-1beta usando el ensayo de plex simple de Ella (FIG. 10F).

[00234] Como se muestra en la FIG. 11A-11C, la administración de TBI-EV a las células endoteliales pulmonares aumentó la inmunorreactividad de la caspasa-1 y la muerte celular.

Conclusión

[00235] Estos estudios proporcionaron pruebas adicionales de un eje neural-respiratorio-inflamasoma en donde los EV liberados a la circulación después de la LCT activan el inflamasoma en las células diana del pulmón que contribuyen a la patogénesis de la ALI.

Ejemplo 3: Efecto del uso de anticuerpo anti-ASC humanizado en un modelo animal de esclerosis múltiple

[00236] Para determinar la utilidad de un anticuerpo monoclonal anti-ASC humanizado en el tratamiento de la EM, dicho anticuerpo se administró a ratones de encefalomiелitis alérgica experimental (EAE). EAE es un modelo animal (es decir, roedor) de EM como se describe en Höftberger R, Leisser M, Bauer J, Lassmann H (Dec 2015). "Autoimmune encephalitis in humans: how closely does it reflect multiple sclerosis?". *Acta Neuropathol Commun.* 3 (1): 80 and Lassman Hans (Feb 2010). "Acute disseminated encephalomyelitis and multiple sclerosis". *Brain.* 133: 317-319 and L. Gómez Vicente et al. Relapse in a paucisymptomatic form of multiple sclerosis in a patient treated with nivolumab, *Neuro Oncol* (2016) 18 (suppl 4): iv25.

MÉTODOS

Inducción de EAE y tratamiento con IC 100

[00237] Se indujo EAE activa en ratones hembra C57BL/6 de 2 meses de edad con péptido de glicoproteína 35-55 de oligodendrocitos de mielina (MOG35-55, BioSynthesis) como se describió previamente (Brambilla et al., 2014). Brevemente, los ratones recibieron una inyección intraperitoneal (ip) de toxina pertussis (disuelta en PBS (350 ng/ratón; día 0), seguida de la administración subcutánea de MOG35-55 (300 ng/ratón; día 1) emulsionado en Adyuvante Completo de Freund y una segunda inyección ip de toxina pertussis (350 ng/ratón; día 2). A los ratones se les administró portador (solución salina al 0,9%) o IC 100 en tres dosis diferentes (10, 30 y 45 mg/kg) mediante inyección ip cada 4 días, comenzando el día 8 después de la inducción de EAE. Los síntomas clínicos de EAE se evaluaron diariamente en una escala de 0 a 6 de la siguiente manera: 0, sin signos clínicos; 1, pérdida del tono de la cola; 2, cola flácida; 3, completa parálisis de las extremidades posteriores; 4, parálisis completa de las extremidades anteriores; 5, moribundo; 6, muerto.

Aislamiento celular para citometría de flujo

[00238] Después de la perfusión transcardial con PBS, se recogieron médulas espinales y se colocaron en solución

salina equilibrada de Hanks fría sin Mg^{2+} y Ca^{2+} (HBSS w/o). Las muestras se disociaron manualmente en suspensiones de células individuales a través de un colador de 70 μm y se lavaron en HBSS w/o. Las muestras de bazo se centrifugaron a 1200 rpm durante 10 min a 4 °C, se eliminaron los sobrenadantes y se lisaron los glóbulos rojos (RBC) en 2 ml de tampón de lisis de RBC (eBioscience) según las instrucciones del fabricante. A continuación, se resuspendieron las células del bazo en PBS. Las células aisladas de la médula espinal se resuspendieron en tampón de citometría de flujo (FCB, eBioscience) y se incubaron con Myelin Removal Beads II (Miltenyi). La mielina se agotó usando las columnas magnéticas LS como se describe en el protocolo del fabricante (Miltenyi). De manera similar a los esplenocitos, las células de la médula espinal se resuspendieron en PBS y se tiñeron como se describe a continuación.

Inmunomarcado y análisis de citometría de flujo

[00239] Para los experimentos en los que se evaluó Caspase-1, se utilizó el kit FAM FLICATM Caspase 1 (BioRad) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se incubaron durante 30 min a 4 °C en solución FLICA (BioRad), se lavaron con tampón de lavado de apoptosis (BioRad) y se resuspendieron en 1 ml de PBS. A continuación,

las muestras se incubaron durante 30 min a 4 °C con un colorante vivo/muerto fijable (Tonbo Biosciences), se centrifugaron a 1200 rpm durante 10 min a 4 °C y se eliminaron los sobrenadantes. Las células se resuspendieron en 100 ul de tampón FACS, se bloquearon con anti-CD16/32 (bloque FcR, eBioscience) a temperatura ambiente durante 5 min, se inmunoteñieron durante 30 min a 4 °C y se fijaron con PFA al 1%. Las muestras se analizaron con un citómetro de flujo CytoFLEX S equipado con el software CytExpert 2.1 (Beckman Coulter). El número de leucocitos de la médula espinal se determinó con 123count eBeads (eBioscience). El número de leucocitos esplénicos se determinó mediante citometría de flujo en combinación con el recuento de exclusión con azul tripán usando un contador de células automatizado TC20TM (Bio-Rad). Se proporciona una lista de anticuerpos de citometría de flujo debajo de la Tabla 3.

[00240] Tabla 3. Anticuerpos de citometría de flujo para uso en los métodos proporcionados aquí.

Antígeno	Color	Dilución	Proveedor	Catálogo N.º
CD45	FITC	1:1000	eBioscience	11-0451- 82

CD45	PE	1:1000	eBioscience	12-0451-82
CD4	PE/Cy7	1:200	eBioscience	25-0042-81
CD8	Percp-Cy5.5	1:200	Biolegend	100734
B220	PE	1:200	Biolegend	103208
B220	APC eFluor780	1:200	eBioscience	47-0452-80
CD11b	APC eFluor780	1:200	eBioscience	47-0112-82
CD11b	PE/Cy7	1:200	Biolegend	101215
MHCII	APC	1:200	eBioscience	17-5321-81
Ly6-G	Percp-Cy5.5	1:200	Biolegend	127616
NK1.1	APC	1:200	Tonbo Biosciences	20-5941-U025
Live/Dead	Violet 450	1:1000	Tonbo Biosciences	13-0863-T500

[00241] Tinción con azul rápido Luxol y cuantificación del volumen de materia blanca desmielinizada.

[00242] Se incrustaron en parafina segmentos de la médula espinal fijados con paraformaldehído (PFA), se seccionaron en secciones transversales de 10 μ m de espesor con un micrótopo Leica RM 2135 y se tiñeron con luxol fast blue (LFB). Se utilizaron diez secciones seriadas a intervalos de 50 μ m para estimar el volumen de materia blanca desmielinizada. Las áreas desmielinizadas se delinearon con un microscopio Olympus BX51 y el volumen de materia blanca desmielinizada se cuantificó con el software Stereoinvestigator (MicroBrightfield). Se realizaron reconstrucciones 3D de la médula espinal desmielinizada en las mismas secciones seriadas con el software Neurolucida (MBF Bioscience).

Cuantificación de IC 100 en tejidos

[00243] Se cuantificó IC 100 en cerebro, médula espinal, hígado y bazo a los 35 días después de la inducción (dpi) de EAE usando un ensayo desarrollado por InflamaCORE, LLC usando Meso Scale Technology. El ensayo se leyó usando el instrumento QuickPlex SQ 120 (Meso Scale Diagnostics, Maryland).

[00244] Se llevaron a cabo experimentos similares en un modelo de rata de lesión contusiva de la médula espinal cervical para determinar si el anti-ASC penetra en las neuronas de la médula espinal.

[00245] Para determinar si las células absorben IC 100, se añade IC 100 marcada con fluoresceína al medio de cultivo de tejidos que contiene células THP-1 (línea celular monocítica humana).

Resultados

El tratamiento con el anticuerpo anti-ASC IC 100 mejora el resultado funcional en la encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE)

[00246] Para evaluar el potencial terapéutico de IC 100, se indujo EAE con péptido MOG35-55 (Brambilla et al., 2014) en ratones hembra C57BL/6 de dos meses de edad y se administró IC 100 o portador solo a partir del día 8 post-inducción (dpi) de la enfermedad. La administración se repitió cada cuatro días hasta el sacrificio, que se fijó en 35 dpi. Se probaron tres dosis, 10, 30 y 45 mg/kg.

[00247] La IC 100 mejoró significativamente la recuperación funcional cuando se usó a las dosis de 30 y 45 mg/kg, con una fuerte reducción de las puntuaciones de enfermedad clínica a lo largo de la duración del experimento (FIG. 12A). El tratamiento redujo las puntuaciones clínicas máximas medias (figura 12B) así como la gravedad global de EAE medida como una reducción en el índice de enfermedad acumulativo (CDI) (figura 12C). Los ratones tratados con 30 y 45 mg/kg de IC 100 también mostraron una tendencia a un

inicio retardado de la enfermedad (FIG. 12D). No se observaron diferencias en el día en que los ratones alcanzaron su puntaje máximo de enfermedad (FIG. 12E).

El tratamiento con el anticuerpo anti-ASC IC 100 reduce la infiltración de células inmunitarias periféricas en la médula espinal después de EAE

[00248] El inicio, la persistencia y la gravedad de los síntomas clínicos de EAE se correlacionan directamente con la infiltración de células inmunes en la médula espinal. Para evaluar si IC 100 afectaba este proceso, las poblaciones de células inmunes aisladas de la médula espinal a 35 dpi se perfilaron mediante citometría de flujo. El tratamiento con 30 mg/kg de IC 100 redujo significativamente el número total de células T CD4+ encefalitogénicas, así como células T CD8+ (FIG. 13A), las poblaciones de células inmunitarias más cruciales para impulsar la patología de EAE. Todas las demás poblaciones de células inmunitarias mostraron una clara tendencia a la reducción. No se observaron diferencias en el número de células con ninguna de las dosis de IC 100 en el bazo, lo que sugiere que el tratamiento no interfirió con la capacidad de los ratones para montar una respuesta inmune adecuada a la exposición a EAE (FIG. 13B).

El tratamiento con el anticuerpo anti-ASC IC 100 reduce el número y el estado de activación de la microglía después de EAE

[00249] La microglía participa en la respuesta inmunoinflamatoria a la enfermedad del SNC. A medida que aumenta su estado de activación, proliferan y regulan positivamente la expresión superficial de MHCII. Para evaluar si IC 100 afectó esta respuesta, se cuantificó el número de microglia total y microglia activada MHCII+ en la médula espinal mediante citometría de flujo. Ambas poblaciones se redujeron significativamente mediante el tratamiento con 30 mg/kg de IC 100, lo que indica que a esta dosis, IC 100 es eficaz para suprimir la activación de la microglía y la neuroinflamación mediada por microglía (véase la FIG. 14).

IC 100 penetra en el cerebro y la médula espinal

[00250] Un parámetro importante en el diseño de fármacos para retirar la EM es determinar si el fármaco penetra en el SNC a un nivel terapéutico. Esta es una característica importante, particularmente en el tratamiento de la forma progresiva de EM, ya que la barrera hematoencefálica parece relativamente intacta en esta etapa de la enfermedad (Lassman et al. 2012). Por lo tanto, recolectamos cerebro, médula espinal, hígado y bazo para determinar los niveles

de IC 100 en estos tejidos. Como se muestra en la FIG. 15, IC 100 penetró en todos estos tejidos en las tres dosis, incluido el cerebro y la médula espinal. Curiosamente, los niveles de CI 100 en la médula espinal fueron más altos con la dosis de 30 mg/kg, lo que concuerda con mayores efectos terapéuticos con esta dosis.

[00251] Las células THP-1 (línea celular monocítica humana) absorben la IC 100 marcada con fluoresceína y se incorporan a las motas de ASC cuando se añaden al medio de cultivo de tejidos. Además, la inducción del inflamasoma de estas células estimula la captación de IC 100 marcada en motas de ASC junto con dextrano marcado con rodamina, lo que sugiere que la captación de IC 100 está mediada por endocitosis (véase la FIG. 16).

[00252] Asimismo, IC 100 evitó la liberación de IL-1 β de las células THP-1 (véase la FIG. 17).

[00253] Los anticuerpos anti-ASC (por ejemplo, IC 100) también penetraron en las neuronas de la médula espinal en un modelo de rata de lesión contusiva de la médula espinal cervical.

[00254] IC 100 puede funcionar tanto intracelularmente como extracelularmente. Intracelularmente, puede actuar uniéndose e inhibiendo la proteína ASC, evitando así el ensamblaje del inflamasoma multiproteico y el inicio de la respuesta inflamatoria. También puede unirse a ASC en puntos

de ASC, evitando la propagación de la gran plataforma de señalización filamentosa, inhibiendo así la activación extracelular de pro-IL β responsable de perpetuar la inflamación en enfermedades inflamatorias crónicas.

Incorporación por referencia

[00255] Las siguientes referencias se incorporan como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

[00256] Brambilla R, Morton PD, Ashbaugh JJ, Karmally S, Lambertsen K y Bethea JR (2014) Los astrocitos desempeñan un papel clave en la fisiopatología de la EAE al orquestar en el SNC la respuesta inflamatoria de las células inmunes residentes y periféricas y suprimir la remielinización. GLIA, 62: 452-457.

[00257] Lassmann, H., van Horssen, J. y Mahad, D. Esclerosis múltiple progresiva: patología y patogenia. Nat Rev Neurol 8, 647-656, doi: 10.1038/nrneurol.2012.168 (2012).

Ejemplo 4: Análisis cinético de anticuerpos monoclonales anti-ASC candidatos

[00258] Se realizó un análisis cinético de los anticuerpos monoclonales anti-ASC candidatos usando interferometría de biocapa (BLI). En BLI, la asociación o disociación con los casos de superficie, un cambio en la longitud de onda de la

luz reflejada y medir el cambio en el tiempo permite la determinación de la cinética de unión.

[00259] El ensayo BLI consistió en lo siguiente:

[00260] [00260] Comprobación del sensor (30 s) -> Load Ab/Supnt. (700 s) ---> Línea de base (300 s) -> Ab Assoc. (600s) -> Dissoc. (600 s) -> Repetir

[00261] Se ensayó la unión de los sobrenadantes de anticuerpos IgG de ratón candidatos al péptido ASC humano (SEQ ID NO: 5) a 7 concentraciones diferentes (es decir, 540 nM; 180 nM; 60 nM; 20 nM; 6,67 nM; 2,22 nM; 0,741 nM). Los anticuerpos probados fueron ICCN 1.0H (es decir, IC 100); ICCN 2.0H; e ICCN 3.0H. Se cargaron biosensores AMC (Anti-Mouse IgG Fc) con IgG de ratón procedente del sobrenadante sin diluir. Los datos de la cinética de anticuerpos en bruto para los 3 anticuerpos candidatos se muestran en la FIG. 21, mientras que la FIG. 22 muestra los valores KD globales.

Ejemplo 5: Estudios de absorción, distribución, metabolismo y excreción Estudios de farmacocinética de IC 100

[00262] Se realizarán experimentos de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) para describir la disposición de IC 100 en ratas macho CD-1.

[00263] En un primer experimento, se obtendrán 30 ratas macho CD-1 de seis semanas de edad de Charles River. Los experimentos se llevarán a cabo en Bolder BioPath (BBP). Los ratones se aclimatarán durante al menos siete días después de su llegada a BBP. Los ratones se alojarán en cuatro animales por jaula.

[00264] Los animales se distribuirán al azar en grupos de tratamiento (nueve ratones por grupo) basándose en el peso corporal y se les administrará una dosis de IC 100 por vía intravenosa (IV). Los grupos de tratamiento recibirán 5 mg/kg, 15 mg/kg o 30 mg/kg de CI 100. El plasma se recolectará en varios momentos después de una única dosis intravenosa para la monitorización farmacocinética (PK). En la Tabla 4 a continuación se muestra un calendario ejemplar de recogida de plasma. La toxicidad aguda se controlará mediante observaciones clínicas. El plasma se enviará a Antibody Solutions para su análisis. El experimento continuará durante diez semanas.

[00265] Las medidas del peso corporal se tomarán los días 0, 7, 14, 21, 28 y 35.

[00266] Se empleará sangrado retroorbitario para recolectar volúmenes adecuados de sangre; los ratones serán anestesiados con isoflurano antes de la recolección de la muestra. Los animales 1, 2 y 3 de cada grupo se sangrarán los días 1 y 10; los animales 4, 5 y 6 se sangrarán los

días 2 y 15; los animales 7, 8 y 9 se sangrarán los días 5 y 20.

[00267] En el punto de tiempo final, los animales se anestesiaron con isoflurano y se desangrarán hasta desangrarse seguido de neumotórax bilateral. Los animales 1, 2 y 3 serán sacrificados el día 25. Los animales 4, 5 y 6 serán sacrificados el día 30. Los animales 7, 8 y 9 serán sacrificados el día 35.

Tabla 4. Lista de recolección de muestras

Grupo	An. N.º	Punto temporal
1, 2, 3	1-3	Día 1 (24 h)
1, 2, 3	4-6	Día 2 (48 h)
1, 2, 3	7-9	Día 5
1, 2, 3	1-3	Día 10
1, 2, 3	4-6	Día 15
1, 2, 3	7-9	Día 20
1, 2, 3	1-3	Día 25 (terminal)
1, 2, 3	4-6	Día 30 (terminal)
1, 2, 3	7-9	Día 35 (terminal)

* La necropsia ocurre en sangrado terminal

Ejemplo 6. Biodistribución de IC 100 utilizando ratones hembra B6 albinos e imágenes de fluorescencia

[00268] En un segundo experimento, la IC 100 y la IgG de ratón de control se marcarán con colorante de marcaje fluorescente VivoTag 680XL de acuerdo con los protocolos establecidos de VivoTag, y se determinará la afinidad de unión. En resumen, según los protocolos de VivoTag, el protocolo de etiquetado implicará:

[00269] 1. Preparar las soluciones de anticuerpo (> 7 kDa) a 1-10 mg/ml en PBS. Los anticuerpos estarán libres de iones de amonio o aminos primarios para reducir la competencia por la reacción con el colorante reactivo.

[00270] 2. Se disolverán 0,25 mg de VivoTag 680XL en 10 μ l de DMSO seco. Una vez reconstituido, VivoTag 680XL es estable hasta por 7 días cuando se almacena a 2-8 °C y protegido de la luz.

[00271] 3. Se añadirán 0,5 ml de proteína (0,5-5 mg), 50 μ l de bicarbonato de sodio, 2 μ l de VivoTag 680XL por cada mg de proteína a un tubo eppendorf. La mezcla se incubará en la oscuridad durante 2 horas a temperatura ambiente con agitación.

[00272] 4. Separe el conjugado de proteína del colorante libre. Gire el cierre inferior de la columna y afloje la tapa. La columna se colocará en un tubo de recogida cónico

de 15 ml y se centrifugará a 1.000 xg durante 2 min. Se agregarán 2 ml de PBS a la columna y se centrifugarán a 1000 xg durante 2 min. El lavado se repetirá dos veces más.

[00273] 5. La columna se colocará en un tubo de recogida cónico de 15 ml nuevo. Todas las muestras de proteína se cargarán (200-700 µL) en la columna y se centrifugarán a 1000xg durante 2 min. Se recolectará el flujo a través de la muestra de proteína.

[00274] 6. La muestra de anticuerpo marcado recogida puede analizarse para determinar el grado de marcado (DOL). Determine la absorbancia del conjugado purificado a 280 nm y 668 nm.

[00275] 7. Ajustar la absorbancia a 280 nm de la proteína purificada restando la absorbancia de 280 nm de VivoTag 680XL, que es el 16% de la absorbancia a 668 nm.

[00276] 8. El análisis de absorbancia se puede realizar con un espectrofotómetro UV o un espectrofotómetro Nanodrop. Para usar este último, las muestras deben diluirse a un rango de 0.5-2 mg/mL antes de la medición. Como la trayectoria de la luz es de 1 mm, la lectura debe normalizarse con un factor de 10.

[00277] En un tercer experimento, se determinará la biodistribución de IC 100. Para el estudio se utilizarán quince ratones hembra B6 Albino (C57BL6) de 8-12 semanas de

edad. Los animales se distribuirán al azar en grupos según el peso corporal del primer día.

[00278] Los ratones hembra B6 Albino no recibirán tratamiento (control negativo), una dosis única de IC 100 marcado con VivoTag 680XL, o una dosis única de IgG de ratón marcado con VivoTag 680XL (control negativo). Los tratamientos se administrarán por vía intravenosa (volumen = 200 µL) a una dosis de 100 µg/animal.

[00279] Se realizarán imágenes de fluorescencia in vivo a las 2 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 hr y 96 hr post Se capturarán imágenes de cuerpo entero in vivo dorsal y ventral utilizando imágenes de fluorescencia en varios intervalos de tiempo hasta a 96 horas después del tratamiento. Imágenes ex vivo del cerebro, ojos con nervios ópticos, corazón, riñones izquierdo y derecho, intestino grueso, incluyendo colon terminal, hígado, pulmones, ovarios, páncreas, intestino delgado, columna vertebral, estómago, tiroides y vejiga urinaria de todos Se realizarán animales.

[00280] Se recolectará sangre completa y el infiltrado inmune se analizará para detectar células T CD4+ (CD4+ CD11b- CD3+ CD8-), células T CD8+ (CD8+ CD11b-CD3+ CD4-), células B (CD3-CD11b-CD45R+), monocitos (CD3-CD11b+ CD115+) y células NK (CD3-CD49b+ CD335+). Se cuantificará la expresión de Ab-VivoTag 680 XL para determinar el nivel de anticuerpo marcado administrado. Se incluirá un tinte

VIVO/MUERTO en el panel de citometría de flujo para cuantificar el número de células vivas. El panel completo de anticuerpos incluirá anticuerpos dirigidos contra CD3, CD4, CD8, CD11b, CD115, CD45R, CD49b, CD335 y un colorante LIVE/DEAD.

Ejemplo 7: Efecto de la administración de IC 100 sobre la señalización del inflamasoma

[00281] La sangre de pacientes humanos con esteatohepatitis no alcohólica (NASH), nefropatía diabética y nefritis lúpica se obtendrá de BioReclamation IVT para el análisis de biomarcadores de proteínas del inflamasoma. Se obtendrán tejidos de pacientes con EHNA, nefropatía diabética y nefritis lúpica de Bolder BioPath, y se obtendrán lisados de proteínas de esos tejidos y se analizarán mediante inmunotransferencia y otras técnicas bioquímicas para la expresión de proteínas de señalización del inflamasoma, incluidas la caspasa-1 y la ASC.

[00282] Además, se utilizará una línea celular de cáncer humano para examinar la activación de inflamasomas dependientes de ASC en tiempo real. Este estudio constará de dos objetivos y comenzará durante un período de 6 a 9 semanas.

[00283] [00283] Objetivo específico 1: Marcado de anticuerpos

[00284] Se marcarán 2 mg de IC 100 con IgG-680 XL-IFC (VivoTag® 680 XL, PerkinElmer # -NEV11120) colorante de etiquetado fluorescente y la estequiometría del etiquetado se determinará según las instrucciones del fabricante. La IgG de ratón de control (proporcionada por Charles River Laboratories (CRL)) se marcará y analizará de manera similar.

[00285] Objetivo específico 2: Determinación de la afinidad de unión

[00286] La línea celular de cáncer humano THP-1 se cultivará en fase logarítmica y se colocará en placas a 20.000 células por pocillo en un volumen de 100 µL de medio en una placa de microcultivo de poliestireno blanco de 6 pocillos (Corning® Costar® 96- placa de fondo plano para pocillos, Cat. # 3917). Luego, el anticuerpo marcado se agregará por duplicado a los pocillos (respuesta a la dosis de 10 puntos, dilución 1: 3, concentración más alta 200 nM. El anticuerpo unido se detectará en todos los pocillos siguiendo el protocolo de Charles River. Se representará el anticuerpo unido (intensidad fluorescente media) en función de la concentración de anticuerpo y la afinidad de unión (Kd) se estimará ajustando la siguiente ecuación a los datos: $Y = B_{max} * X / (Kd + X)$.

Ejemplo 8: Estudios in vivo de IC 100 en un modelo de rata NASH

[00287] Las ratas macho Wistar Han, que se alimentan con una dieta alta en grasas y deficiente en colina (CDHFD) que tienen fibrosis hepática, servirán como modelo animal de NASH. Se utilizarán 55 ratones para este estudio. Se obtendrán ratas Wistar Han de 8-9 semanas de Envigo o Charles River. Las ratas se aclimatarán durante 3-7 días después de su llegada a Bolder Biopath. Las ratas se alojarán en 2-3 animales por jaula. Los animales serán alimentados con comida estándar.

[00288] El día 0, los animales se distribuirán al azar en cinco grupos en función del peso corporal. El grupo 1 se alimentará con Teklad Global Diets – Rodent 2014, que es una dieta estándar. Los grupos 2, 3, 4 y 5 se alimentarán con una dieta CDHFD.

[00289] El día 38 del estudio, los animales se sangrarán para la química clínica y se colocarán en grupos de tratamiento basados en concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT). El día 42 del estudio, comenzará el tratamiento. La eficacia de IC 100 se probará usando dosis que se determinarán en base a los datos farmacocinéticos obtenidos del Ejemplo 5. Un grupo recibirá tratamiento con portador para que sirva como control negativo. El grupo que reciba una dieta estándar también recibirá tratamiento con

portador. Se medirá semanalmente el peso corporal, el consumo de alimentos y la observación clínica del lado de la jaula. El día 38 y el día 63, se obtendrá sangre completa mediante recolección de la vena de la cola. La necropsia se realizará el día 84. Los animales serán sacrificados con anestesia con isoflurano, desangrados hasta exanguinación y luego neumotórax bilateral.

[00290] Los animales se pesarán los días -1, 0, 2, 4, 6, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 66, 70, 73, 77, 80 y 83 del estudio.

[00291] Se registrará una actualización semanal del consumo de alimentos (gramos/día/rata) los días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 y 84 del estudio.

[00292] Las observaciones clínicas del lado de la jaula se realizarán los días 0-7, 14, 21, 28, 35, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 66, 70, 73, 77, 80, 83. Si los animales comienzan a mostrar signos clínicos de toxicidad o enfermedad, los animales serán observados y pesados diariamente.

[00293] En la necropsia, se medirán los pesos del hígado, tejido adiposo pardo y tejido adiposo inguinal derecho. Se obtendrán biopsias de 4 x 7 mm del lóbulo lateral izquierdo del hígado, se congelarán en nitrógeno líquido y se conservarán a -80 °C. Se obtendrán cortes transversales de tres mm del lóbulo medial, lóbulo lateral izquierdo y lóbulo lateral derecho del hígado y se fijarán en formalina al 10%

durante 36-48 horas antes de almacenarlos en etanol al 70% a temperatura ambiente para histopatología. Se congelarán instantáneamente tres trozos de tejido adiposo de 100 mg en nitrógeno líquido y se almacenarán en tubos de cierre seguro Eppendorf a -80 °C. Tres trozos de tejido adiposo marrón del mismo tamaño se congelarán rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenarán en tubos con cierre seguro Eppendorf a -80 °C.

[00294] Se recolectará tejido adiposo subcutáneo inguinal, un depósito de tejido adiposo blanco (WAT) de acuerdo con el siguiente protocolo. Los depósitos de SQ triangulares e inguinales se revelarán al desgazar la mitad inferior del ratón. Los apéndices superiores y el tórax se sujetarán con una mano y la piel se tirará hacia los pies con la otra mano. El ratón se orientará en una posición supina, teniendo cuidado de no contaminar el depósito expuesto con pelo. Se limpiarán los instrumentos quirúrgicos y se cambiarán los guantes. Posteriormente, se diseccionarán los triángulos de grasa subcutánea, teniendo cuidado de no contaminar la muestra con músculo, grasa vecina, glándulas mamarias o sangre. Se utilizará un microscopio de disección si los bordes no están claramente definidos. Los depósitos de grasa se eliminarán y se transferirán a un fijador 50: 1 al volumen de tejido de formal tamponado neutro al 10% y se fijarán durante 36 a 48 horas a temperatura ambiente. Si se

va a extraer ARN o proteína, el tejido se congelará por inmersión en nitrógeno líquido y se almacenará a -80 °C para evitar la degradación. Se hará un esfuerzo para no contaminar entre depósitos de grasa cambiándose los guantes con frecuencia.

[00295] El procesamiento de histología será realizado por Histotox Labs. El procesamiento histológico de LLL, MLL y RLL se realizará en tres cortes transversales de hígado por animal. Las muestras se teñirán con rojo Sirius y hematoxilina y eosina (H & E).

Ejemplo 9: Estudios in vivo del efecto de IC 100 sobre la nefropatía diabética en un modelo de ratón BTBR Ob/Ob

[00296] La cepa de ratón BTBR con la mutación por deficiencia de leptina ob/ob sirve como modelo de ratón para la nefropatía diabética. Se utilizarán ratones macho BTBR Ob/Ob para evaluar el efecto de IC 100 en la reversión de los efectos de la nefropatía diabética. Se utilizarán cinco ratones BTBR macho de tipo salvaje (WT) como control negativo y no recibirán tratamiento. Se utilizarán 50 ratones BTBR Ob/Ob y se dividirán en cinco grupos. Los grupos recibirán portador, control o IC 100 a las dosis determinadas en base al Ejemplo 5. El experimento tendrá lugar durante seis semanas.

[00297] La histología se realizará en riñones de ratón por Histotox Labs. El patólogo determinará los parámetros apropiados utilizando los métodos actuales de Bolder BioPATH.

[00298] Las mediciones de glucosa en sangre se tomarán mediante un corte de cola y aplicando una gota de sangre (~ 5 µl) en una tira reactiva compatible con un glucómetro True Metrix. Se tomarán mediciones de glucosa en sangre dos veces por semana hasta que se complete el estudio.

[00299] La puntuación de proteinuria se realizará extrayendo la orina del ratón manteniendo al ratón boca abajo y aplicando presión en el abdomen. Se utilizarán tiras reactivas de Albustix para determinar la cantidad de proteína en la orina.

[00300] Si se encuentran animales muertos, no se tomarán muestras. Si los animales necesitan ser sacrificados, independientemente del motivo, las muestras se tomarán como se tomarían en la necropsia después del día 7 del estudio.

Ejemplo 10: Estudios in vivo del efecto de IC 100 sobre la nefritis lúpica en un modelo de ratón

[00301] Se utilizarán ratones hembra MRL/MpJ-Tnfrsf6lpr/J de 12 semanas de edad para desarrollar un modelo de nefritis lúpica. Los ratones se obtendrán de Bolder BioPath. Los

ratones se distribuirán al azar en grupos de tratamiento según el peso corporal. Los animales serán observados diariamente para detectar signos clínicos significativos, morbilidad y mortalidad. El inicio de la nefritis lúpica se producirá aproximadamente a las 12-14 semanas de edad.

[00302] Después de la aparición de la nefritis lúpica, los ratones se dividirán en cinco grupos y se tratarán con dosis variables de IC 100, según los resultados del Ejemplo 5, portador o IgG de control.

[00303] Se recopilarán puntuaciones de peso corporal, proteinuria urinaria, linfadenopatía y lesiones cutáneas. La necropsia se realizará en la semana 20 y se recolectarán tejidos y sangre completa para su análisis. Se espera que el experimento dure 15 semanas.

Ejemplo 11: Estudio de toxicidad de la inyección de bolo intravenoso en un intervalo de 21 días y agudo de IC 100 en la rata albina

[00304] Las ratas albinas se obtendrán de Charles River. Se establecerán los niveles de dosis de IC 100 para una toxicidad de dosis múltiple definitiva de 28 días y estudios farmacocinéticos en ratas. Las ratas se dividirán en cuatro grupos que contienen tres ratas/sexo/dosis. Se realizará un estudio de subida y bajada.

[00305] Se realizará un estudio de dosis repetidas durante tres semanas. Las ratas se dividirán en grupos de todos los machos o todas las hembras que contienen cinco ratas. A las ratas se les administrará una dosis semanal de un nivel de dosis de IC 100. Se realizarán parámetros en vida que incluyen mortalidad, signos clínicos, peso corporal y laboratorio clínico con toxicocinética.

Ejemplo 12: Estudio de determinación de dosis máxima tolerada y rango de dosis de 22 días de IC 100 en el mono Cynomolgus

[00306] Los niveles de dosis y la farmacocinética para IC 100 se establecerán en monos Cynomolgus. Los experimentos ocurrirán en Charles River. Los monos se dividirán en cuatro grupos que contienen un mono/sexo/dosis. Se realizará un estudio de subida y bajada durante 28 días.

[00307] Se realizará un estudio de dosis repetidas durante tres semanas. Los monos se dividirán en grupos de todos los machos o todas las hembras que contengan dos monos. A los monos se les administrará una dosis semanal con un nivel de dosis de IC 100. Se realizarán parámetros en vida que incluyen mortalidad, signos clínicos, peso corporal y laboratorio clínico con toxicocinética.

[00308] Se espera que este experimento dure 15 semanas.

Ejemplo 13: Estudio de toxicidad de IC 100 en la rata seguido de un período de recuperación de 4 semanas

[00309] Se establecerá la toxicidad y la toxicocinética tras la administración intravenosa de IC 100 seguida de un período de recuperación en ratas obtenidas de Charles River.

[00310] Las ratas se dividirán en 10-15 ratas/sexo/grupo con tres niveles de dosis más control. Los grupos adicionales incluirán un grupo de dosis alta y un grupo de control que contendrá 5 ratas/sexo para una recuperación de cuatro semanas.

[00311] Se medirán la mortalidad, el peso corporal, el consumo de alimentos, las observaciones clínicas, la patología clínica (hematología y química clínica), los hallazgos de la necropsia, la histopatología de los órganos y la toxicocinética. Después de la recuperación, se medirán los mismos parámetros, excluyendo la toxicocinética.

[00312] Se espera que este experimento dure seis meses.

Ejemplo 14: Estudio de toxicidad de IC 100 en el mono *Cynomolgus* seguido de un período de recuperación de 4 semanas

[00313] En Charles River se establecerá la toxicidad y la toxicocinética tras la administración intravenosa de IC 100

seguida de un período de recuperación en primates no humanos.

[00314] Los monos se dividirán en 3 monos/sexo/grupo con tres niveles de dosis más control. Los grupos adicionales incluirán un grupo de dosis alta y un grupo de control que contendrá 2 monos/sexo para una recuperación de cuatro semanas.

[00315] Se medirán la mortalidad, el peso corporal, el consumo de alimentos, las observaciones clínicas, la patología clínica (hematología y química clínica), los hallazgos de la necropsia, la histopatología de órganos y la toxicocinética. Después de la recuperación, se medirán los mismos parámetros, excluyendo la toxicocinética.

[00316] Se espera que este experimento dure seis meses.

Ejemplo 15: Estudio cardiovascular in vitro utilizando un ensayo hERG

[00317] El potencial de toxicidad cardiovascular (prolongación del QT) se evaluará en un ensayo in vitro con células CHO o HEK293.

[00318] Este experimento establecerá la IC50 para el bloqueo de IC 100 del canal HERG.

[00319] Se espera que este experimento dure dos meses.

Ejemplo 16: Estudio de hemólisis sanguínea in vitro

[00320] Se evaluará el potencial de la formulación intravenosa de IC 100 para provocar hemólisis de glóbulos rojos humanos in vitro. Las concentraciones de IC 100 (determinadas en base al Ejemplo 5) se mezclarán con glóbulos rojos en un sistema in vitro. Se establecerá el grado de hemólisis. Se espera que el experimento dure dos meses.

Ejemplo 17: examen de la eficacia in vivo de IC 100 en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP)

[00321] La eficacia de IC 100 en el tratamiento de la EP se evaluará administrando IC 100 en varios modelos animales (es decir, roedores) de EP. 5 mg/kg, 15 mg/kg, 30 mg/kg.

[00322] El modelo de rata de 6-OHDA de la EP es un modelo unilateral inducido químicamente (lesión intraestriatal o del haz del prosencéfalo mediano) de la EP en donde los ratones presentan déficits de comportamiento que incluyen asimetría rotacional y defectos motores. El modelo 6-OHDA muestra una disminución del contenido de dopamina, DOPAC y HVA en el cuerpo estriado y muestra una reducción de las células TH-positivas en la sustancia negra por histología.

[00323] En un conjunto de experimentos que utilizan el modelo 6-OHDA de PD, un total de 45 ratas macho se separarán en 3

grupos experimentales (n = 15 ratas/grupo) se tratarán de la siguiente manera:

[00324] 1. Las ratas inducidas de forma simulada tratadas se tratarán con portador;

[00325] 2. Las ratas inducidas por 6-OHDA tratadas se tratarán con portador; y

[00326] 3. Las ratas inducidas por 6-OHDA tratadas serán tratadas con IC 100 dosis 1 (seleccionada en base a estudios de PK/vida media)

[00327] La infusión unilateral de 6-OHDA/simulada se producirá el día 0 del estudio;

[00328] La formulación y dosificación de la dosis diaria (QD, p.o.) se producirá en los días de estudio 15-28.

[00329] Se llevará a cabo un seguimiento del peso corporal y se realizarán pruebas de comportamiento el día 14 (línea de base), el día 28 y el día 42 e incluirán rotaciones inducidas por anfetaminas.

[00330] El muestreo terminal de sangre, LCR y cerebro se producirá el día 42 del estudio seguido de HPLC para examinar DA, DOPAC y HVA en el cuerpo estriado e IHC para examinar las células TH+ en SNpc.

[00331] En un segundo conjunto de experimentos que utilizan el modelo 6-OHDA de PD, un total de 45 ratas macho se

separarán en 3 grupos experimentales (n = 15 ratas/grupo) y se tratarán de la siguiente manera:

[00332] 1. Las ratas inducidas de forma simulada tratadas se tratarán con portador;

[00333] 2. Las ratas inducidas por 6-OHDA tratadas se tratarán con portador; y

[00334] 3. Las ratas inducidas por 6-OHDA tratadas serán tratadas con IC 100 dosis 1 (seleccionada en base a estudios de PK/vida media)

[00335] El experimento se llevará a cabo durante un período de 6 semanas con una infusión unilateral de 6-OHDA/simulada ocurriendo el día 0 del estudio;

[00336] La formulación y dosificación de la dosis diaria (QD, p.o.) se producirá el día 1 del estudio y continuará hasta 6 semanas después de la infusión de 6-OHDA.

[00337] Las pruebas de comportamiento se realizarán el día 14 (línea de base), el día 28 y el día 42 e incluirán rotaciones inducidas por anfetaminas y una prueba de cilindro.

[00338] El muestreo cerebral terminal se producirá el día 42 del estudio seguido de HPLC para examinar DA, DOPAC y HVA en el cuerpo estriado e IHC para examinar TH e Iba-1 en SNc (bilateralmente).

[00339] En un tercer conjunto de experimentos que utilizan el modelo 6-OHDA de PD, un total de 90 ratas macho se separarán en 6 grupos experimentales (n = 18 ratas/grupo al inicio hasta el día 14 de la línea base, n = 15 ratas/grupo como objetivo) se tratarán de la siguiente manera:

[00340] 1. Ratas inducidas por simulación tratadas con portador

[00341] 2. Ratas inducidas por 6-OHDA tratadas con portador

[00342] 3. Ratas inducidas por 6-OHDA tratadas con IC 100 dosis 1

[00343] 4. Ratas inducidas por 6-OHDA tratadas con IC 100 dosis 2

[00344] 5. Ratas inducidas por 6-OHDA tratadas con IC 100 dosis 3

[00345] 6. Ratas inducidas por 6-OHDA tratadas con IC 100 dosis 4

[00346] El experimento se llevará a cabo durante un período de 6 semanas con una infusión unilateral de 6-OHDA/simulada ocurriendo el día 0 del estudio;

[00347] La formulación y dosificación de la dosis diaria (QD, p.o.) se producirá en los días de estudio 15-42.

[00348] Las pruebas de comportamiento se realizarán el día 14 (línea de base), el día 28 y el día 42 e incluirán

rotaciones inducidas por anfetaminas y una prueba de cilindro.

[00349] El muestreo cerebral terminal se producirá el día 42 del estudio seguido de HPLC para examinar DA, DOPAC y HVA en el cuerpo estriado e IHC para examinar TH e Iba-1 en SNc (bilateralmente).

Ejemplo 18: examen de la eficacia in vitro de IC 100 en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP)

[00350] *Ensayo TOM20:*

[00351] La patogénesis de la EP se ha relacionado con la disfunción mitocondrial a través de varias líneas de investigación, comenzando con el hallazgo de que el inhibidor del complejo mitocondrial I rotenona induce parkinsonismo. Además, las mutaciones en genes que codifican proteínas implicadas en la eliminación selectiva de mitocondrias disfuncionales y redundantes (mitofagia), como PARK2 y PINK1, están presentes en la mayoría de los casos autosómicos recesivos de EP. Asimismo, un creciente cuerpo de evidencia implicaba a la disfunción mitocondrial en otros trastornos neurodegenerativos como la EA, la ELA y la enfermedad de Huntington (EH). Por lo tanto, se cree que las lecturas fenotípicas para medir la (dis) función mitocondrial en el fondo celular relevante para la enfermedad representan poderosas herramientas predictivas

para investigar la patobiología neurodegenerativa e identificar posibles terapias que pueden aumentar la mitofagia.

[00352] TOM20 es una subunidad de la translocasa mitocondrial del complejo de la membrana externa (TOM) y representa un biomarcador de la abundancia mitocondrial. Al perfilar los candidatos terapéuticos en ausencia (monotratamiento) y presencia (cotratamiento) de un desencadenante inductor de mitofagia establecido, se pueden seleccionar moléculas candidatas (por ejemplo, IC 100) que mejoran el aclaramiento mitocondrial inducido por el desencadenante sin dañar las mitocondrias directamente.

[00353] El ensayo de pérdida de TOM20 es un ensayo in vitro escalable y rápido para cribar compuestos por su capacidad para aumentar la mitofagia en un entorno neuronal.

[00354] El ensayo TOM20 utilizará células progenitoras mesencefálicas humanas inmortalizadas (ReNcell VM) sembradas a 50.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos recubiertas con laminina que se diferenciarán mediante la extracción de factores de crecimiento (bFGF, EGF) y la adición de pro -factores de diferenciación (cAMP, GDNF) durante siete días a partir del día 0 (D0), con refrescos el día 1 (D1) y el día 4 (D4). A continuación, las células se tratarán con IC 100 el día 7 en ausencia y presencia de oligomicina/antimicina 1 micromolar (O/A; un desencadenante

mitofágico de uso común) durante 18 horas seguido de tinción inmunocitoquímica de fijación de TOM20 con un anticuerpo anti-TOM20 y Tinción DAPI (es decir, el día 8). En última instancia, el ensayo contendrá un control positivo 1 uM O/A y un control negativo DMSO al 0,1%.

[00355] La combinación del tratamiento de compuestos potenciadores de la mitofagia con 1 uM de O/A conducirá a una reducción drástica en los niveles de TOM20 además de las reducciones inducidas por el tratamiento con O/A solo. La intensidad de la inmunotinción de TOM20 se cuantificará utilizando algoritmos basados en análisis de alto contenido (HCA) desarrollados por Charles River Labs. Se cuantificarán los recuentos nucleares para identificar la citotoxicidad inducida por compuestos potenciales (por ejemplo, IC 100).

[00356] *Ensayo de agregación de alfa-sinucleína:*

[00357] Los agregados de la proteína presináptica alfa-sinucleína se consideran los biomarcadores primarios de la EP y la evidencia sugiere que los agregados de alfa-sinucleína median directamente en la muerte de las células neuronales. Como tal, las estrategias destinadas a reducir la agregación y la toxicidad de la alfa-sinucleína pueden poseer potencial terapéutico.

[00358] En este ensayo, las células progenitoras mesencefálicas humanas immortalizadas (ReNcell VM)

sembradas a 10.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos recubiertas con laminina se diferenciarán mediante la extracción de factores de crecimiento (bFGF, EGF) y la adición de factores de prodiferenciación (cAMP, GDNF) durante siete días a partir del día 0 (D0). También en D0, las células se transducirán con un adenovirus que codifica alfa-sinucleína humana de tipo salvaje. Después de 24 horas, las células se tratarán con IC 100 y la expresión y agregación de alfa-sinucleína se detectará después de 6 días mediante inmunocitoquímica utilizando anticuerpos que detectan alfa/beta sinucleína (Syn205; Cell Signaling Technology) y alfa-sinucleína agregada (MJFR14; Abcam), seguido de la cuantificación de HCA como se describe para el ensayo TOM20. Por último, el ensayo también contendrá un control positivo KU 0063794 10 uM y un control negativo DMSO al 0,1% añadidos en D1 y D4.

Formas de realización numeradas de la divulgación

[00359] Otro tema contemplado por la presente divulgación se establece en las siguientes formas de realización numeradas:

[00360] 1. Un método para tratar la inflamación en los pulmones de un paciente que lo necesita, comprendiendo el método: administrar al paciente una composición que comprende un agente que inhibe la señalización del

inflammasoma, mediante el cual se trata la inflamación en los pulmones del paciente.

[00361] 2. El método de la forma de realización 1, en donde la inflamación en los pulmones es causada por una afección seleccionada entre una lesión del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad neurodegenerativa, una enfermedad autoinmune, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística., enfermedad pulmonar intersticial y síndrome de dificultad respiratoria aguda.

[00362] 3. El método de la forma de realización 2, en donde la lesión del SNC se selecciona del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI).

[00363] 4. El método de 2, en donde la enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis múltiple (EM) y enfermedad de Parkinson (EP).

[00364] 5. El método de una cualquiera de las formas de realización anteriores, en donde la administración de la composición da como resultado la inhibición de la activación del inflammasoma en las células pulmonares del paciente.

[00365] 6. El método de una cualquiera de las formas de realización 1-4, en donde la administración de la

composición da como resultado una reducción de la caspasa-1, que se une al dominio de pirina repetido rico en leucina que se une a nucleótidos que contiene proteína 1 (NLRP1), que se une a los nucleótidos, dominio de pirina de repetición rico en leucina que contiene proteína 2 (NLRP2), dominio de pirina de repetición rico en leucina de unión a nucleótidos que contiene proteína 3 (NLRP3), proteína 4 que contiene dominio CARD de la familia NLR (NLRC4), caspasa-11, inhibidor ligado a X de proteína de apoptosis (XIAP), pannexina-1, proteína similar a Spec asociada a apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento activador de caspasa (ASC), interleuquina-18 (IL-18), cuadro de grupo de alta movilidad 1 (HMGB1) o ausente en el melanoma 2 (AIM2) niveles en células pulmonares del paciente en comparación con un control, en donde el control es un paciente no tratado.

[00366] 7. El método de la forma de realización 5 o 6, en donde las células pulmonares son células alveolares de Tipo II.

[00367] 8. El método de una cualquiera de las formas de realización 1-5, en donde la administración de la composición da como resultado una reducción de la lesión pulmonar aguda (ALI) en comparación con un control, en donde el control es un paciente no tratado.

[00368] 9. El método de la forma de realización 8, en donde la reducción de ALI se evidencia por una reducción en la infiltración de neutrófilos en el espacio alveolar y/o intersticial, engrosamiento del tabique alveolar reducido o ausente o una combinación de los mismos.

[00369] 10. El método de una cualquiera de las formas de realización anteriores, en donde el agente es un inhibidor de la captación de vesículas extracelulares (EV), un anticuerpo que se une a un componente inflammasoma o una combinación de los mismos.

[00370] 11. El método de la forma de realización 10, en donde el inhibidor de la captación de EV es un compuesto o un anticuerpo, en donde el anticuerpo se selecciona de la Tabla 1.

[00371] 12. El método de una cualquiera de las formas de realización 10-11, en donde el agente es un inhibidor de la captación de EV en combinación con un anticuerpo que se une a un componente del inflammasoma.

[00372] 13. El método de la forma de realización 12, en donde el inhibidor de la absorción de EV es una heparina.

[00373] 14. El método de la forma de realización 13, en donde la heparina es enoxaparina.

[00374] 15. El método de una cualquiera de las formas de realización 10-14, en donde el anticuerpo que se une a un

componente del inflamasoma es un anticuerpo que se une específicamente a un componente de un inflamasoma AIM2, NLRP1, NLRP2, NLRP3 o NLRC4 de mamífero.

[00375] 16. El método de la forma de realización 10 o 15, en donde el componente inflamasoma es caspasa-1, ASC o AIM2.

[00376] 17. El método de la forma de realización 16, en donde el componente inflamasoma es ASC.

[00377] 18. El método de la forma de realización 17, en donde el anticuerpo se une a un dominio PYRIN-PAAD-DAPIN N-terminal (PYD), dominio C-terminal de reclutamiento de caspasa (CARD) o un epítipo derivado de PYD o CARD dominio de la proteína ASC.

[00378] 19. El método de la forma de realización 17, en donde el anticuerpo se une a un aminoácido que tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2.

[00379] 20. El método de una cualquiera de las formas de realización 17-19, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de ASC en los pulmones del paciente.

[00380] 21. El método de una cualquiera de las formas de realización anteriores, en donde la composición se formula con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[00381] 22. El método de una cualquiera de las formas de realización anteriores, en donde la composición se administra por vía intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación.

[00382] 23. Un método para tratar la inflamación en los pulmones de un paciente que ha sido sometido a una lesión del sistema nervioso central (SNC), comprendiendo el método: administrar al paciente una composición que comprende un agente que inhibe la señalización del inflamasoma, por lo que la inflamación en los pulmones del paciente se trata.

[00383] 24. El método de la forma de realización 23, en donde la lesión del SNC se selecciona del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI).

[00384] 25. El método de una cualquiera de las formas de realización 23-24, en donde la administración de la composición da como resultado la inhibición de la activación del inflamasoma en las células pulmonares del paciente.

[00385] 26. El método de una cualquiera de las formas de realización 23-24, en donde la administración de la composición da como resultado una reducción de caspasa-1, NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRC4, caspasa-11, XIAP, pannexina-1, apoptosis -proteína tipo Spec asociada que contiene un

dominio de reclutamiento activador de caspasa (ASC), interleuquina-18 (IL-18), cuadro de grupo de alta movilidad 1 (HMGB1) o ausente en los niveles de melanoma 2 (AIM2) en las células pulmonares del paciente en comparación a un control, en donde el control es un paciente no tratado.

[00386] 27. El método de la forma de realización 25 o 26, en donde las células pulmonares son células alveolares de Tipo II.

[00387] 28. El método de una cualquiera de las formas de realización 23-27, en donde la administración de la composición da como resultado una reducción de la lesión pulmonar aguda (ALI) en comparación con un control, en donde el control es un paciente no tratado.

[00388] 29. El método de la forma de realización 28, en donde la reducción de ALI se evidencia por una reducción en la infiltración de neutrófilos en el espacio alveolar y/o intersticial, engrosamiento del tabique alveolar reducido o ausente o una combinación de los mismos.

[00389] 30. El método de una cualquiera de las formas de realización 23-29, en donde el agente es un inhibidor de la captación de vesículas extracelulares (EV), un anticuerpo que se une a un componente inflammasoma o una combinación de los mismos.

[00390] 31. El método de la forma de realización 30, en donde el inhibidor de la captación de EV es un compuesto o un anticuerpo, en donde el anticuerpo se selecciona de la Tabla 1.

[00391] 32. El método de una cualquiera de las formas de realización 30-31, en donde el agente es un inhibidor de la captación de EV en combinación con un anticuerpo que se une a un componente del inflamasoma.

[00392] 33. El método de la forma de realización 32, en donde el inhibidor de la captación de EV es una heparina.

[00393] 34. El método de la forma de realización 33, en donde la heparina es enoxaparina.

[00394] 35. El método de una cualquiera de las formas de realización 30-34, en donde el anticuerpo que se une a un componente del inflamasoma es un anticuerpo que se une específicamente a un componente de un inflamasoma AIM2, NLRP1, NLRP2, NLRP3 o NLRC4 de mamífero.

[00395] 36. El método de la forma de realización 30 o 35, en donde el componente inflamasoma es caspasa-1, ASC o AIM2.

[00396] 37. El método de la forma de realización 36, en donde el componente inflamasoma es ASC.

[00397] 38. El método de la forma de realización 37, en donde el anticuerpo se une al dominio PYD, CARD o un epítipo derivado del dominio PYD o CARD de la proteína ASC.

[00398] 39. El método de la forma de realización 37, en donde el anticuerpo se une a un aminoácido que tiene al menos un 85% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2.

[00399] 40. El método de una cualquiera de las formas de realización 37-39, en donde el anticuerpo inhibe la actividad de ASC en los pulmones del paciente.

[00400] 41. El método de una cualquiera de las formas de realización 23-40, en donde la composición se formula con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[00401] 42. El método de una cualquiera de las formas de realización 23-41, en donde la composición se administra por vía intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación. 43. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une a una proteína similar a Spec asociada a la apoptosis que contiene un dominio de reclutamiento activador de caspasa (ASC), en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo se une específicamente a un epítipo de ASC, en donde el epítipo comprende o consta de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 5-10, 10-15 o 15-20 aminoácidos de SEQ ID NO: 5.

[00402] 44. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, donde

el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), donde la región VH amino La secuencia de ácido comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3.

[00403] 45. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera (VL) y una región variable de cadena pesada (VH), donde la región VL amino La secuencia de ácido comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de las mismas que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

[00404] 46. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC, donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), donde la región VH amino la secuencia de ácido comprende HCDR1 de SEQ ID NO: 6, HCDR2 de SEQ ID NO: 7 y HCDR3 de SEQ ID NO: 8, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en HCDR1, HCDR2 y/o HCDR3; y donde la secuencia de aminoácidos de la

región VL comprende LCDR1 de SEQ ID NO: 12, LCDR2 de SEQ ID NO: 13 y LCDR3 de SEQ ID NO: 14, o una variante de la misma que tiene al menos una sustitución de aminoácido en LCDR1, LCDR2 y/o LCDR3.

[00405] 47. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 44, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos del 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 o 22.

[00406] 48. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 45, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, o una secuencia de aminoácidos que es al menos el 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31.

[00407] 49. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21, 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos del 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, 19, 20, 21 o 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende SEQ ID NO: 28, 29, 30, 31, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99%

idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, 29, 30 o 31.

[00408] 50. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

[00409] 51. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.

[00410] 52. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la

SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

[00411] 53. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 18, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

[00412] 54. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%,

98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

[00413] 55. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.

[00414] 56. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

[00415] 57. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la

SEQ ID NO: 19, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

[00416] 58. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

[00417] 59. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%,

98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.

[00418] 60. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

[00419] 61. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 20, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

[00420] 62. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la

SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

[00421] 63. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.

[00422] 64. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%,

98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

[00423] 65. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 21, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

[00424] 66. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 28 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

[00425] 67. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la

SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 29 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29.

[00426] 68. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y en donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 30 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

[00427] 69. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de la forma de realización 46, en donde la secuencia de aminoácidos de la región VH comprende la SEQ ID NO: 22, o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y donde la secuencia de aminoácidos de la región VL comprende la SEQ ID NO: 31 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, 96%, 97%,

98% o 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

[00428] 70. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de una cualquiera de las formas de realización 44-69, en donde la ASC es una proteína ASC humana.

[00429] 71. El fragmento de anticuerpo monoclonal de cualquiera de las formas de realización 44-70, en donde el fragmento de anticuerpo es un Fab, un F(ab')₂, un Fab', un scFv, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo o un Anticuerpo de camélido monocatenario.

[00430] 72. El anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de una cualquiera de las formas de realización 44-71, en donde el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo es humano, humanizado o quimérico.

[00431] 73. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de una cualquiera de las formas de realización 44-72.

[00432] 74. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de la forma de realización 73.

[00433] 75. El vector de expresión de la forma de realización 32, en donde la molécula de ácido nucleico está

operativamente unida a secuencias reguladoras adecuadas para la expresión del segmento de ácido nucleico en una célula huésped.

[00434] 76. Una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión de la forma de realización 74 o 75.

[00435] 77. Un método para producir un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo que se une específicamente a ASC, comprendiendo el método: cultivar una célula huésped recombinante que comprende el vector de expresión de la forma de realización 74 o 75 en condiciones en las que la molécula de ácido nucleico se expresa, por lo tanto producir el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo que se une específicamente a ASC.

[00436] 78. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de una cualquiera de las formas de realización 44-72, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[00437] 79. Un método para tratar la inflamación en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de cualquiera de las formas de realización 44-72, tratando así la inflamación en el sujeto.

[00438] 80. El método de la forma de realización 79, en donde la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria.

[00439] 81. El método de la forma de realización 80, en donde la inflamación es una inflamación relacionada con el inflamasoma.

[00440] 82. El método de la forma de realización 81, en donde la inflamación relacionada con el inflamasoma está asociada con una lesión del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad autoinmune, autoinflamatoria, metabólica o neurodegenerativa.

[00441] 83. El método de la forma de realización 82, en donde la lesión del SNC se selecciona del grupo que consiste en lesión cerebral traumática (TBI), accidente cerebrovascular y lesión de la médula espinal (SCI).

[00442] 84. El método de la forma de realización 82, en donde la enfermedad autoinmune o neurodegenerativa es esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, distrofia muscular (DM), lupus eritematoso sistémico, nefritis lúpica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal. (por ejemplo, enfermedad de Crohn y colitis ulcerante) o esclerosis múltiple (EM).

[00443] 85. El método de la forma de realización 82, en donde la enfermedad autoinflamatoria es el síndrome periódico asociado a criopirina (CAPS).

[00444] 86. El método de la forma de realización 85, en donde el CAPS se selecciona de síndrome autoinflamatorio por frío familiar (FCAS), síndrome de Muckle-Wells (MWS) y enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio neonatal (NOMID).

[00445] 87. El método de la forma de realización 82, en donde la enfermedad metabólica es síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, nefropatía diabética o enfermedad renal diabética (DKD), resistencia a la insulina, aterosclerosis, trastorno por almacenamiento de lípidos, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena, enfermedad de hígado graso no alcohólico (por ejemplo, esteatohepatitis no alcohólica (NASH)) y gota.

[00446] 88. El método de una cualquiera de las formas de realización 79-87, en donde la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflammasoma en el sujeto.

[00447] 89. El método de una cualquiera de las formas de realización 79-87, en donde la administración del

anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción en la actividad de ASC en comparación con un control.

[00448] 90. El método de la forma de realización 89, en donde el control es un sujeto no tratado.

[00449] 91. El método de una cualquiera de las formas de realización 79-90, en donde la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación.

[00450] 92. Un método para tratar la esclerosis múltiple (EM) en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo de cualquiera de las formas de realización 44-72, tratando así la EM en el sujeto.

[00451] 93. El método de la forma de realización 92, en donde la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo reduce los niveles de al menos citoquina inflamatoria.

[00452] 94. El método de la forma de realización 92, en donde la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado la inhibición de la activación del inflammasoma en el sujeto.

[00453] 95. El método de una cualquiera de las formas de realización 92-94, en donde la administración del anticuerpo monoclonal o el fragmento de anticuerpo del mismo da como resultado una reducción en la actividad de ASC en comparación con un control.

[00454] 96. El método de la forma de realización 95, en donde el control es un sujeto no tratado.

[00455] 97. El método de una cualquiera de las formas de realización 92-96, en donde la administración es intracerebroventricular, intraperitoneal, intravenosa o por inhalación.

* * * * *

[00456] Las diversas formas de realización descritas anteriormente se pueden combinar para proporcionar formas de realización adicionales. Todas las patentes de EE. UU., Publicaciones de solicitudes de patente de EE. UU., Solicitudes de patente de EE. UU., Patentes extranjeras, solicitudes de patentes extranjeras y publicaciones que no son de patente a las que se hace referencia en esta especificación se incorporan aquí como referencia, en su totalidad. Los aspectos de las formas de realización pueden modificarse, si es necesario, para emplear conceptos de las diversas patentes, solicitudes y publicaciones para proporcionar aún más formas de realización.

[00457] Estos y otros cambios se pueden realizar en las formas de realización a la luz de la descripción detallada anteriormente. En general, en las siguientes reivindicaciones, los términos utilizados no deben interpretarse para limitar las reivindicaciones a las formas de realización específicas descritas en la especificación y las reivindicaciones, sino que deben interpretarse para incluir todas las posibles formas de realización junto con el alcance completo de los equivalentes a los que tales las reivindicaciones tienen derecho. Por consiguiente, las afirmaciones no están limitadas por la divulgación.