

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 813 524**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/22** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

**A61K 39/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2012 PCT/US2012/068975**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.07.2013 WO13101451**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2012 E 12805890 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 2797953**

54 Título: **Método para tratar la pérdida de hueso alveolar mediante el uso de anticuerpos antiesclerostina**

30 Prioridad:

**28.12.2011 US 201161580964 P**

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

**24.03.2021**

73 Titular/es:

**AMGEN INC. (50.0%)  
One Amgen Center Drive  
Thousand Oaks, CA 91320-1799, US y  
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF  
MICHIGAN (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KE, HUA, ZHU;  
LIU, MIN y  
GIANNOBILE, WILLIAM, V.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 813 524 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Método para tratar la pérdida de hueso alveolar mediante el uso de anticuerpos antiesclerostina

5 [Eliminado]

**Campo técnico de la invención**

10 La invención generalmente se refiere a un anticuerpo antiesclerostina para su uso en un método para aumentar la altura del hueso alveolar en un sujeto que padece pérdida de hueso alveolar donde el sujeto tiene enfermedad periodontal.

[Eliminado]

15 [Eliminado]

**Antecedentes de la invención**

20 Se sabe que las infecciones periodontales y las inflamaciones gingivales son las principales causas de enfermedades periodontales. Ambas son enfermedades inflamatorias crónicas y, a medida que progresan, el tejido periodontal se destruye y el hueso alveolar se reduce debido a la resorción ósea que causa la pérdida del soporte dental en algunos casos. Además, el hueso alveolar puede volverse defectuoso debido a perforaciones causadas por tratamientos quirúrgicos o lesiones apicales de caries dentales progresivas. Se mencionan los siguientes documentos:

25

- WO 2011/128424, que se refiere a métodos y composiciones para mejorar la osteointegración de implantes;
- WO 2010/100179, que se refiere a un sistema de gel autoformante para el suministro sostenido de fármacos;
- US 2010/100179, que se refiere al material y método de aumentos de tejido;
- WO 2006/119107 que se refiere a agentes aglutinantes; y

30

- WO 2004/060425 que se refiere a composiciones y métodos de uso de collajolie.

**Sumario de la invención**

35 La presente invención proporciona un anticuerpo antiesclerostina para su uso en un método para aumentar la altura del hueso alveolar en un sujeto que padece pérdida de hueso alveolar, donde el sujeto tiene enfermedad periodontal, comprendiendo el método administrar al sujeto un anticuerpo antiesclerostina en una cantidad eficaz para disminuir la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar, a una dosis de 5 mg a 1000 mg por semana y en donde el anticuerpo antiesclerostina comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376. En una realización, el anticuerpo antiesclerostina se administra dos veces por semana durante el período de tratamiento. En otra realización, el anticuerpo antiesclerostina se administra una vez por semana durante el período de tratamiento.

40

45 El período de tratamiento puede ser de al menos aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, 3 meses, 13 semanas, 14 semanas, 15 semanas, 16 semanas, 4 meses, 17 semanas, 18 semanas, 19 semanas, 20 semanas, 5 meses, 21 semanas, 22 semanas, 23 semanas, 24 semanas, 6 meses, 25 semanas, 26 semanas, 27 semanas, 28 semanas, 7 meses, 29 semanas, 30 semanas, 31 semanas o más (por ejemplo, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 15 meses, 18 meses o más). En algunas realizaciones, el período de tratamiento es de aproximadamente 6-12 semanas. En algunas realizaciones, el período de tratamiento es de 4-12 semanas o de aproximadamente 1-3 meses. En algunas realizaciones, el período de tratamiento es de aproximadamente 12-20 semanas o aproximadamente 3-5 meses. En algunas realizaciones, el período de tratamiento es de aproximadamente 20-32 semanas o aproximadamente 5-8 meses. En algunas realizaciones, el período de tratamiento es de aproximadamente 24-36 semanas o aproximadamente 6-9 meses. En algunas realizaciones, el período de tratamiento no es más de aproximadamente 28 semanas. En algunas realizaciones, el período de tratamiento es de aproximadamente 1 año. En algunas o en cualquier realización, el período de tratamiento no es más de aproximadamente 18 meses.

50

55

60 En algunas o en cualquier realización, la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar disminuye al menos un 10 % (p. ej., al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con la distancia antes del tratamiento, seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas o en cualquier realización, la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar disminuye al menos un 10 % (p. ej., al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la distancia entre la unión cemento-

65

esmalte y la cresta del hueso alveolar se restablece al estado anterior a la enfermedad seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar es menor o igual a aproximadamente 2 mm (p. ej., aproximadamente 2 mm, aproximadamente 1,9 mm, aproximadamente 1,8 mm, aproximadamente 1,7 mm, aproximadamente 1,6 mm, aproximadamente 1,5 mm, aproximadamente 1,4 mm, aproximadamente 1,3 mm, aproximadamente 1,2 mm, aproximadamente 1,1 mm o aproximadamente 1 mm) seis semanas después del inicio del tratamiento.

En algunas o en cualquier realización, la altura del hueso alveolar aumenta al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con la altura del hueso alveolar antes del tratamiento seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas o en cualquier realización, la altura del hueso alveolar aumenta al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la altura del hueso alveolar se restablece a la altura del hueso alveolar del estado anterior a la enfermedad seis semanas después del inicio del tratamiento.

En algunas o en cualquier realización, la altura del hueso alveolar aumenta al menos 0,1 mm (por ejemplo, al menos aproximadamente 0,1 mm, aproximadamente 0,2 mm, aproximadamente 0,3 mm, aproximadamente 0,4 mm, aproximadamente 0,5 mm, aproximadamente 0,6 mm, aproximadamente 0,7 mm, aproximadamente 0,8 mm, aproximadamente 0,9 mm, aproximadamente 1 mm, aproximadamente 1,5 mm, aproximadamente 2 mm, aproximadamente 2,5 mm, aproximadamente 3 mm, aproximadamente 3,5 mm, aproximadamente 4 mm, aproximadamente 4,5 mm, aproximadamente 5 mm, aproximadamente 5,5 mm, aproximadamente 6 mm, aproximadamente 6,5 mm, aproximadamente 7 mm, aproximadamente 7,5 mm, aproximadamente 8 mm, aproximadamente 8,5 mm, aproximadamente 9 mm, aproximadamente 9,5 o aproximadamente 10 mm) o más en comparación con la altura del hueso alveolar antes del tratamiento o en comparación con un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio de tratamiento.

En algunas o en cualquier realización, la densidad del hueso alveolar aumenta al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con la densidad del hueso alveolar antes del tratamiento o en comparación con un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la densidad del hueso alveolar se restablece al estado anterior a la enfermedad seis semanas después del inicio del tratamiento.

En algunas o en cualquier realización, la fracción de volumen del hueso alveolar (BVF, por sus siglas en inglés) aumenta al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con el BVF alveolar antes del tratamiento o en comparación con un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento.

En algunas o en cualquier realización, los métodos descritos en el presente documento pueden comprender además medir la densidad mineral ósea del hueso alveolar antes de la administración del anticuerpo antiesclerostina para identificar a los sujetos que necesitan tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina. Sujetos que presentan mediciones de densidad del hueso alveolar de menos de aproximadamente 750 unidades Hounsfield (HU, por sus siglas en inglés) (p.ej., alrededor de 750 HU, alrededor de 700 HU, alrededor de 650 HU, alrededor de 600 HU, alrededor de 550 HU, alrededor de 500 HU, alrededor de 450 HU, aproximadamente 400 HU o menos) se identifican como sujetos que necesitan tratamiento con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo antiesclerostina.

El sujeto padece pérdida de hueso alveolar y tiene enfermedad periodontal. El sujeto puede tener pérdida de hueso alveolar asociada con periodontitis (p. ej., enfermedad periodontal avanzada), pérdida dental, extracción dental, dentadura postiza, cirugía oral, osteomielitis, osteorradionecrosis, deformidades del desarrollo (p. ej., defectos al nacer, tal como falta de partes de los dientes, huesos faciales o mandíbula), deficiencias sinusales, desalineación o trauma (p. ej., diente avulsionado o fractura de mandíbula). En algunas realizaciones, el sujeto a tratar padece de periodontitis avanzada.

[Eliminado]

En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método donde el anticuerpo antiesclerostina se administra en combinación con el uso de materiales que apoyan la regeneración de hueso, tal como el injerto óseo, polvo de hueso, astillas de hueso, matriz ósea desmineralizada, andamios óseos, prótesis, estabilizadores metálicos o sustancias de andamio óseo que comprenden uno o más de polímeros,

cerámicas, cemento y sustitutos de injertos óseos basados en fosfatos de calcio. Muchas variaciones de tales materiales son conocidas en la técnica.

5 En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método que comprende administrar una terapia con un tratamiento de referencia para el tratamiento de la enfermedad periodontal al sujeto antes de administrar el anticuerpo antiesclerostina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la terapia con un tratamiento de referencia para el tratamiento de la enfermedad periodontal es un producto terapéutico, incluyendo, pero sin limitación, Periostat® y/o tetraciclina-3 modificada químicamente (CMT-3). En algunas realizaciones, la terapia con un tratamiento de referencia comprende irrigación y/o descamación y desbridamiento oral supra y/o  
10 subgingival (p. ej., eliminación de placa microbiana y cálculo) del área afectada del sujeto. En algunas realizaciones, el tratamiento de referencia comprende realizar irrigación y/o descamación y desbridamiento oral del área afectada en combinación con Periostat y/o CMT-3 antes de la administración del anticuerpo antiesclerostina. En algunas realizaciones, el método comprende administrar la terapia con un tratamiento de referencia de manera concurrente con la administración del anticuerpo antiesclerostina. En otras realizaciones, la terapia con un tratamiento de referencia se administra de forma secuencial. Por ejemplo, la terapia con un tratamiento de referencia se puede administrar 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 10 semanas, 12 semanas o más antes de administrar el anticuerpo antiesclerostina al sujeto. En realizaciones preferidas, la progresión de la enfermedad periodontal en el sujeto se ralentiza, detiene o revierte antes de la administración del anticuerpo antiesclerostina.

20 En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método que comprende además administrar un antibiótico, tal como un antibiótico seleccionado del grupo que consiste en amoxicilina, clorhidrato de tetraciclina, doxiciclina, minociclina, azitromicina, roxitromicina, moxifloxacino, ciprofloxacino y metronidazol. En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método que comprende administrar el antibiótico al sujeto antes de administrar o después de administrar el anticuerpo antiesclerostina al sujeto. En otras realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método que comprende administrar el antibiótico al sujeto de manera concurrente con la administración del anticuerpo antiesclerostina.

30 En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método que comprende además administrar un segundo agente terapéutico potenciador de hueso para el tratamiento de la disminución de la densidad mineral ósea o la fractura ósea. Muchos agentes terapéuticos de este tipo son conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el agente terapéutico potenciador de hueso se selecciona del grupo que consiste en un fármaco antirresortivo, un agente formador de huesos, un modulador de los receptores de estrógenos (que incluye, pero sin limitación, raloxifeno, bazedoxifeno y lasofoxifeno) y un fármaco que tiene un efecto inhibidor sobre los osteoclastos. En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso se selecciona del grupo que consiste en, un bisfosfonato (que incluye, pero sin limitación, alendronato de sodio (FOSAMAX®), risedronato, ibandronato de sodio (BONIVA®) y ácido zoledrónico (RECLAST®)), un estrógeno o análogo de estrógeno, una fuente de calcio, Tibolona, calcitonina, una terapia de reemplazo de calcitriol y hormonas. En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso incluye, pero sin limitación, hormona paratiroidea (PTH, por sus siglas en inglés) o un fragmento peptídico de la misma, proteína relacionada con PTH (PTHrp, por sus siglas en inglés), proteína morfogenética ósea, osteogenina, NaF, un agonista de PGE<sub>2</sub>, una estatina, un anticuerpo o inhibidor anti-DKKI, un anticuerpo antiligando de RANK (RANKL) (por ejemplo, PROLIA®) o un inhibidor de RANKL, ranelato de estroncio, vitamina D o un derivado de vitamina D o un mimético de los mismos. En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso es Forteo® (Teriparatida o análogo recombinante de la hormona paratiroidea humana (1-34)) o Preatact® (hormona paratiroidea). En algunas o en cualquier realización, el agente potenciador de hueso es Protelos®.

45 En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso se administra de manera concurrente con el anticuerpo antiesclerostina (por ejemplo, durante un período de tiempo dentro del período de tratamiento). En otras realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso se administra durante un período de tiempo una vez que el período de tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina haya finalizado (es decir, durante un período de mantenimiento). En dichas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso se administra durante un período de mantenimiento de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 5 años.

55 El anticuerpo antiesclerostina puede ser para su uso en un método que comprende además administrar posteriormente una o más cantidades de un inhibidor de esclerostina eficaz para mantener la densidad mineral ósea, opcionalmente por un período de mantenimiento de al menos aproximadamente 12 semanas, 6 meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años o más (por ejemplo, durante la vida del sujeto) después de que el período de tratamiento haya finalizado.

60 Los planes de tratamiento de la enfermedad periodontal también pueden incluir terapia de seguimiento de apoyo después de que se complete el tratamiento activo. Las terapias de seguimiento de apoyo incluyen, pero sin limitación, desbridamiento mecánico, refuerzo de la higiene bucal (p. ej., limpiezas profesionales regulares, cepillado diario y uso de hilo dental) y administración de antibióticos.

65 El anticuerpo antiesclerostina empleado en la invención es uno que comprende cadenas pesadas que comprenden

la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376 y puede ser uno como se divulga en la publicación de patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747. Una o más dosis del anticuerpo antiesclerostina se administran en una cantidad y durante un tiempo eficaz para tratar la pérdida de hueso alveolar. En diversas realizaciones, una o más dosis que comprenden de aproximadamente 50 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos de anticuerpo antiesclerostina se administran por semana a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano). Por ejemplo, una dosis de anticuerpo antiesclerostina (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de anticuerpo antiesclerostina) puede comprender al menos aproximadamente 5 mg, 15 mg, 25 mg, 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 850 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 950 mg o hasta aproximadamente 1000 mg de anticuerpo antiesclerostina. También se contemplan los intervalos entre cualquiera de y la totalidad de estos extremos, por ejemplo, aproximadamente 50 mg a aproximadamente 80 mg, aproximadamente 70 mg a aproximadamente 140 mg, aproximadamente 75 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg, aproximadamente 140 mg a aproximadamente 210 mg o aproximadamente 150 mg a aproximadamente 200 mg o aproximadamente 280 a aproximadamente 410 mg. La dosis se administra a cualquier intervalo, tal como varias veces a la semana (por ejemplo, dos o tres veces por semana), una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas. En algunas o en cualquier realización, se administra una dosis de anticuerpo antiesclerostina que varía de aproximadamente 120 mg a aproximadamente 210 mg dos veces por semana. En algunas o en cualquier realización, se administra una dosis de aproximadamente 140 mg del inhibidor de esclerostina (p. ej., anticuerpo o fragmento de anticuerpo antiesclerostina) dos veces por semana.

En algunas realizaciones, la una o más dosis de anticuerpo antiesclerostina pueden comprender entre aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 miligramos (por ejemplo, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 50 miligramos) o aproximadamente 1 a aproximadamente 100 miligramos, de anticuerpo antiesclerostina por kilogramo de peso corporal (mg/kg). Por ejemplo, la dosis de anticuerpo antiesclerostina puede comprender al menos aproximadamente 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 26 mg/kg, aproximadamente 27 mg/kg, aproximadamente 28 mg/kg, aproximadamente 29 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 31 mg/kg, aproximadamente 32 mg/kg, aproximadamente 33 mg/kg, aproximadamente 34 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 36 mg/kg, aproximadamente 37 mg/kg, aproximadamente 38 mg/kg, aproximadamente 39 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 41 mg/kg, aproximadamente 42 mg/kg, aproximadamente 43 mg/kg, aproximadamente 44 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg, aproximadamente 46 mg/kg, aproximadamente 47 mg/kg, aproximadamente 48 mg/kg o aproximadamente 49 mg/kg o aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 55 mg/kg, aproximadamente 60 mg/kg, aproximadamente 65 mg/kg, aproximadamente 70 mg/kg, aproximadamente 75 mg/kg, aproximadamente 80 mg/kg, aproximadamente 85 mg/kg, aproximadamente 90 mg/kg, aproximadamente 95 mg/kg o hasta aproximadamente 100 mg/kg. También se contemplan los intervalos entre cualquiera de y la totalidad de estos extremos, p. ej., aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg o aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg.

También se divulga en el presente documento el uso de una cantidad eficaz de un anticuerpo antiesclerostina para tratar la pérdida de hueso alveolar en un sujeto, por ejemplo, en cualquiera de las cantidades descritas anteriormente, tal como de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1000 mg por semana, en donde una o más administraciones del agente aglutinante de esclerostina se llevan a cabo durante un período de tratamiento que dura al menos 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, 3 meses, 13 semanas, 14 semanas, 15 semanas, 16 semanas, 4 meses, 17 semanas, 18 semanas, 19 semanas, 20 semanas, 5 meses, 21 semanas, 22 semanas, 23 semanas, 24 semanas, 6 meses, 25 semanas, 26 semanas, 27 semanas, 28 semanas, 7 meses, 29 semanas, 30 semanas, 31 semanas o más (por ejemplo, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 15 meses, 18 meses o más).

En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra por vía subcutánea. En otras realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra localmente en la mandíbula del sujeto. En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra localmente en el área gingival enferma del sujeto. En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra en la bolsa periodontal del sujeto.

Opcionalmente, el anticuerpo antiesclerostina se presenta en un recipiente, tal como un vial o jeringa de dosis única o multidosis. También se divulga un recipiente que comprende anticuerpo antiesclerostina o fragmento del mismo e

instrucciones para administrar el anticuerpo o fragmento del mismo para tratar la pérdida de hueso alveolar de acuerdo con cualquiera de los regímenes de dosificación y/o tiempo descritos en el presente documento.

5 El anticuerpo antiesclerostina empleado en la invención es uno que comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376. También se divulga un anticuerpo o fragmento de anticuerpo antiesclerostina que bloquea de forma cruzada la unión de al menos uno de los anticuerpos Ab-A, Ab-B, Ab-C, Ab-D, Ab-1, Ab-2, Ab-3, Ab-4, Ab-5, Ab-6, Ab-7, Ab-8, Ab-9, Ab-10, Ab-11, Ab-12, Ab-13, Ab-14, Ab-15, Ab-16, Ab-17, Ab-18, Ab-19, Ab-20, Ab-21, Ab-22, Ab-23 y Ab-24 a la esclerostina y/o está bloqueado de forma cruzada para la unión a la esclerostina por al menos uno de los anticuerpos Ab-A, Ab-B, Ab-C, Ab-D, Ab-1, Ab-2, Ab-3, Ab-4, Ab-5, Ab-6, Ab-7, Ab-8, Ab-9, Ab-10, Ab-11, Ab-12, Ab-13, Ab-14, Ab-15, Ab-16, Ab-17, Ab-18, Ab-19, Ab-20, Ab-21, Ab-22, Ab-23 y Ab-24.

10 También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que comprende una CDR-H1 de SEQ ID NO: 245, una CDR-H2 de SEQ ID NO: 246, una CDR-H3 de SEQ ID NO: 247, una CDR-L1 de SEQ ID NO: 78, una CDR-L2 de SEQ ID NO: 79 y una CDR-L3 de SEQ ID NO: 80.

20 El anticuerpo antiesclerostina empleado comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376. También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que tiene cadenas pesadas de SEQ ID NO: 145 o SEQ ID NO: 392 y cadenas ligeras de SEQ ID NO: 141.

25 También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que comprende CDR de SEQ ID NO: 20-25 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 (SEQ ID NO: 416-421), CDR de SEQ ID NO: 26-31 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 (SEQ ID NO: 422-427), CDR de SEQ ID NO: 32-37 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 (SEQ ID NO: 428-433) o CDR de SEQ ID NO: 4, 15, 26, 37, 48 y 59 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356 (SEQ ID NO: 443, 454, 465, 476, 487 y 498, respectivamente). También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NO: 135-143, 153-161 o 171-179 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2010/130830 (SEQ ID NO: 745-753, 763-771, 781-789, respectivamente).

30 También se divulgan implantes dentales, matrices, geles y apósitos para heridas que comprenden un anticuerpo antiesclerostina (o fragmento de anticuerpo) descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, los implantes dentales, matrices, geles y apósitos para heridas están recubiertos con el anticuerpo antiesclerostina (o fragmento de anticuerpo). En otras realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina (o fragmento de anticuerpo) se formula con un transportador descrito en el presente documento y se aplica a un área diana (es decir, área gingival enferma o bolsa periodontal enferma del sujeto), opcionalmente antes (o después) de la aplicación de un implante dental, matrices o apósito para heridas. El anticuerpo antiesclerostina (o fragmento de anticuerpo) puede aplicarse por cualquier medio conocido en la técnica. En algunas realizaciones, el anticuerpo de esclerostina (o fragmento de anticuerpo) se administra a un área diana mediante inyección subcutánea antes de la aplicación del implante dental, matriz o apósito para heridas. En otras realizaciones, el anticuerpo de esclerostina (o fragmento de anticuerpo) se administra en el área afectada cepillando o de otra manera, recubriendo el área afectada antes de la aplicación del implante dental, matriz o apósito para heridas.

[Eliminado]

45 [Eliminado]

50 El sumario anterior no pretende definir todos los aspectos de la invención y los aspectos adicionales se describen en otras secciones, tal como la Descripción Detallada. Se pretende que la totalidad del documento se considere una divulgación unificada y se deberá entender que están contempladas todas las combinaciones de las características descritas en el presente documento, incluso si la combinación de características no se encuentran juntas en la misma oración o párrafo o sección del presente documento. Con respecto a los aspectos de la divulgación descritos o reivindicados que incluyen "un" o "uno/a", deberá entenderse que estos términos significan "uno/a o más" salvo que el contexto necesite inequívocamente un significado más restrictivo. Debe entenderse que el término "o" abarca elementos en la alternativa o en conjunto, a menos que el contexto requiera inequívocamente lo contrario. Si los aspectos de la divulgación se describen como "que comprenden" una característica, también se contemplan las realizaciones "que consisten en" o "que consisten esencialmente en" la característica.

### Breve descripción de las figuras

60 La Figura 1 es un cuadro que enumera las secuencias de aminoácidos y los identificadores de secuencia para las secuencias de aminoácidos de varios anticuerpos antiesclerostina descritos en el presente documento. Los identificadores de secuencia se refieren a las secuencias de aminoácidos proporcionadas en el Listado de Secuencias presentado a continuación en el presente documento. Las secuencias de aminoácidos también se exponen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747 o en las Publicaciones de Patentes Internacionales N.º WO 2008/115732, WO 2009/047356 o WO 2010/130830.

Las Figuras 2A y 2B son gráficos que representan el efecto de la administración del sistema (medido en los parámetros del estudio a las 2 semanas y 4 semanas) de un anticuerpo antiesclerostina sobre la fracción de volumen óseo (Figura 2A) y la densidad mineral ósea (Figura 2B) durante la periodontitis experimental.

5 Las Figuras 3A y 3B son gráficos que representan el efecto de la administración sistémica (medido en los parámetros del estudio a las 4, 7 y 10 semanas) de un anticuerpo antiesclerostina en la fracción de volumen óseo (Figura 3A) y la densidad mineral ósea (Figura 3B) después de la inducción de periodontitis experimental.

10 Las Figuras 4A-4C son gráficos que representan el efecto de la administración de un anticuerpo antiesclerostina sobre la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta ósea (Figura 4A) y las mediciones específicas del sitio para el segundo molar maxilar a las 7 semanas (Figura 4B) y 10 semanas (Figura 4C) después de la inducción de periodontitis experimental.

### 15 Descripción detallada de la invención

La invención está basada, al menos en parte, en el descubrimiento de que los inhibidores de esclerostina pueden tratar la pérdida de hueso alveolar asociada con, por ejemplo, enfermedad periodontal. A este respecto, la invención proporciona un anticuerpo antiesclerostina para su uso en un método para aumentar la altura del hueso alveolar en un sujeto que padece pérdida de hueso alveolar, donde el sujeto tiene enfermedad periodontal, comprendiendo el método administrar al sujeto un anticuerpo antiesclerostina en una cantidad eficaz para disminuir la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar, a una dosis de 5 mg a 1000 mg por semana y en donde el anticuerpo antiesclerostina comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376. La invención es superior a las terapias existentes cuya eficacia terapéutica se basa en métodos quirúrgicos invasivos (por ejemplo, injertos óseos) para restaurar el hueso alveolar del sujeto a afecciones previas a la enfermedad (por ejemplo, altura y/o densidad y/o masa ósea tridimensional).

En la invención, el sujeto es uno que padece pérdida de hueso alveolar, donde el sujeto tiene enfermedad periodontal. La pérdida de hueso alveolar para el tratamiento incluye, pero sin limitación, pérdida de hueso alveolar asociada con periodontitis, pérdida dental, extracción dental, dentadura postiza, cirugía oral, osteomielitis, osteorradionecrosis, deformaciones del desarrollo (p. ej., defectos al nacer, tal como falta de partes de los dientes, huesos faciales o mandíbula), deficiencias sinusales, desalineación o trauma (p. ej., diente avulsionado o fractura de mandíbula). En algunas realizaciones, el sujeto a tratar padece de periodontitis avanzada.

La expresión "enfermedad periodontal" como se usa en el presente documento pretende abarcar un espectro de afecciones clínicas. El diagnóstico clínico de la enfermedad periodontal se basa en la evaluación visual y radiográfica de los tejidos periodontales y en las mediciones del espacio entre el diente y la encía. En seres humanos, estos espacios son normalmente de 1-3 mm de profundidad y se profundizan a medida que se pierden tejido conectivo y hueso de soporte. Durante un examen clínico integral, las profundidades de la bolsa y el soporte de tejido se miden en varios lugares (por ejemplo, 4-6 lugares) alrededor de cada diente y se registran la cantidad de placa, cálculo dental, sangrado gingival y exudados. Las radiografías dentales se usan de forma habitual para evaluar la cantidad de soporte óseo para los dientes.

La gravedad de la enfermedad periodontal generalmente se basa en la pérdida de inserción clínica (CAL, por sus siglas en inglés) medida desde la unión cemento-esmalte o el margen de la corona y puede considerarse leve (1-2 mm), moderada (3-4 mm) o grave ( $\geq 5$  mm). La expresión "pérdida de inserción clínica" (CAL) se refiere a la distancia, medida en milímetros, desde la unión cemento-esmalte (es decir, margen de la corona) hasta el margen gingival apical. La enfermedad periodontal también puede caracterizarse por profundidades de sondaje de bolsa, con enfermedad leve caracterizada por una profundidad de sondaje de la bolsa periodontal de aproximadamente 4-5 mm, enfermedad moderada caracterizada por profundidades de sondaje de la bolsa de aproximadamente 6-7 mm y enfermedad grave caracterizada por profundidades de sondaje de bolsa de aproximadamente  $\geq 8$  mm. La expresión "profundidad de sondaje de bolsa" periodontal (PPD, por sus siglas en inglés) se refiere a la distancia, medida en milímetros, desde la unión cemento-esmalte (es decir, margen de la corona) hasta la cresta del hueso alveolar. Las mediciones de PPD y CAL se realizan con una sonda periodontal en varios sitios alrededor de cada diente, por ejemplo, los sitios mesiobucales o midbucales. Proporcionan una medida de la gravedad de la enfermedad periodontal. De manera alternativa, tanto PPD como CAL se pueden obtener de la radiografía digital convencional con algunos puntos de referencia anatómicos.

La enfermedad periodontal incluye, pero sin limitación, enfermedades gingivales inducidas por placa y no inducidas por placa; periodontitis crónica (clasificada como leve (1-2 mm CAL), moderada (3-4 mm CAL) o grave ( $\geq 5$  mm) de afectación generalizada o localizada; periodontitis agresiva (clasificada como (1-2 mm CAL), moderada (3-4 mm CAL) o grave ( $\geq 5$  mm) de afectación generalizada o localizada); periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas asociadas con trastornos hematológicos y trastornos genéticos; enfermedades periodontales necrotizantes incluyendo gingivitis ulcerosa necrotizante y periodontitis ulcerosa necrotizante; abscesos del periodonto incluyendo abscesos gingivales, periodontales y pericoronales; periodontitis asociada con lesiones endodónticas; y deformidades y afecciones de desarrollo o adquiridas, por ejemplo, factores relacionados con los dientes localizados que modifican o predisponen a enfermedades gingivales o periodontitis inducidas por placa,

deformidades y afecciones mucogingivales alrededor de los dientes y afecciones en las crestas edéntulas y traumatismos oclusales. Todas estas afecciones pueden estar localizadas en uno o pocos dientes específicos o más generalizadas (es decir, están implicados > 30 % de los sitios).

- 5 La expresión "enfermedad periodontal avanzada", como se usa en el presente documento, se refiere a un sujeto que presenta una CAL de  $\geq 5$  mm o una PPD periodontal de  $\geq 8$  mm. La recesión gingival, deriva de dientes, movilidad y la supuración son signos que a menudo se asocian con enfermedad periodontal avanzada debido a la destrucción progresiva del hueso alveolar.
- 10 La pérdida de hueso alveolar puede producirse mediante la extracción de secciones de hueso que contienen un tumor benigno. Ejemplos de tumores óseos benignos incluyen, pero sin limitación, osteoma, osteoma osteoide, osteoblastoma, osteocondroma, encondroma, fibroma condromixoide, quiste óseo aneurismático, quiste óseo unicameral, displasia fibrosa del hueso y tumor de células gigantes del hueso.
- 15 La invención da como resultado un aumento de la altura del hueso alveolar. Por lo tanto, la administración de anticuerpos antiesclerostina aumenta la altura del hueso alveolar y también puede aumentar uno o más parámetros adicionales del hueso alveolar (por ejemplo, uno o más de masa ósea alveolar, densidad del hueso alveolar, volumen del hueso alveolar, contenido mineral del hueso alveolar y estabilidad dental mejorada). A este respecto, "tratar" la pérdida de hueso alveolar incluye cualquier aumento en la altura del hueso alveolar y también puede
- 20 incluir, por ejemplo, cualquier aumento en la altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar y densidad del hueso alveolar, así como la aceleración de la reparación del hueso alveolar. De forma similar, "tratar" la pérdida de hueso alveolar incluye mediar un nivel de reparación de hueso alveolar más allá (es decir, mayor que) el nivel de reparación de hueso alveolar experimentada en sujetos (p. ej., mamíferos, tal como seres humanos) a los que no se administra el anticuerpo antiesclerostina (es decir, sujetos control). La reparación del hueso alveolar se evidencia
- 25 por, por ejemplo, aumento de la altura del hueso alveolar, aumento del volumen del hueso alveolar, aumento de la densidad y del contenido mineral del hueso alveolar, mayor estabilidad dental o mejor uso del paciente del área afectada en comparación con dichos parámetros antes del tratamiento. El sujeto mostrará una mayor altura del hueso alveolar. El aumento en uno o más parámetros del hueso alveolar puede ser un retorno, total o parcialmente, del parámetro medido a, p. ej., (a) el nivel de referencia (por ejemplo, el nivel previo al inicio de la enfermedad), (b)
- 30 los valores proporcionados en bases de datos normativas o estándares clínicos utilizados en la técnica o (c) el nivel funcional contralateral (por ejemplo, retorno, total o parcialmente, a las capacidades funcionales de, por ejemplo, hueso alveolar no enfermo en el sujeto). En algunos casos, el aumento puede ser una mejora más allá del nivel de referencia. Si se desea, los parámetros medidos en sujetos a los que se administró una o más dosis del anticuerpo antiesclerostina pueden compararse con los mismos parámetros en otros sujetos que presentan pérdida de hueso
- 35 alveolar (opcionalmente coincidentes en edad y sexo) a los que no se administró el anticuerpo antiesclerostina para analizar aún más la eficacia de los métodos descritos en el presente documento.

Los parámetros de hueso alveolar (p. ej., altura del hueso alveolar, masa ósea alveolar y/o densidad del hueso alveolar) se pueden medir mediante radiografía (p. ej., absorciometría radiográfica), absorciometría de rayos X de

40 energía simple y/o dual, tomografía computarizada cuantitativa (QCT, por sus siglas en inglés), ultrasonografía, radiografía (p. ej., absorciometría radiográfica) y obtención de imágenes por resonancia magnética. En algunas realizaciones, la cantidad de pérdida de hueso alveolar se identifica y/o cuantifica mediante la medición de la profundidad de sondaje de la bolsa periodontal.

45 En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método donde se administra a una dosis y durante un período de tiempo eficaz para disminuir la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar en al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con la distancia antes del tratamiento o un sujeto control (es decir, un sujeto con un estado de enfermedad similar que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar se restablece al estado anterior a la enfermedad seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas

50 realizaciones, la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar es menor o igual a aproximadamente 2 mm (p. ej., aproximadamente 2 mm, aproximadamente 1,9 mm, aproximadamente 1,8 mm, aproximadamente 1,7 mm, aproximadamente 1,6 mm, aproximadamente 1,5 mm, aproximadamente 1,4 mm, aproximadamente 1,3 mm, aproximadamente 1,2 mm, aproximadamente 1,1 mm o aproximadamente 1 mm) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas o en cualquier realización, la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar es comparable a la distancia en un área no enferma de la boca del sujeto (p. ej., un diente adyacente o contralateral) seis semanas después del inicio del tratamiento.

60

En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina se administra a una dosis y durante un período de tiempo eficaz para aumentar la altura del hueso alveolar en al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con la altura del hueso alveolar antes del tratamiento o un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la altura del hueso

65

alveolar se restablece a la altura del hueso alveolar del estado anterior a la enfermedad seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la altura del hueso alveolar aumenta al menos 0,1 mm (por ejemplo, al menos aproximadamente 0,1 mm, aproximadamente 0,2 mm, aproximadamente 0,3 mm, aproximadamente 0,4 mm, aproximadamente 0,5 mm, aproximadamente 0,6 mm, aproximadamente 0,7 mm, aproximadamente 0,8 mm, aproximadamente 0,9 mm, aproximadamente 1 mm, aproximadamente 1,5 mm, aproximadamente 2 mm, aproximadamente 2,5 mm, aproximadamente 3 mm, aproximadamente 3,5 mm, aproximadamente 4 mm, aproximadamente 4,5 mm, aproximadamente 5 mm, aproximadamente 5,5 mm, aproximadamente 6 mm, aproximadamente 6,5 mm, aproximadamente 7 mm, aproximadamente 7,5 mm, aproximadamente 8 mm, aproximadamente 8,5 mm, aproximadamente 9 mm, aproximadamente 9,5 aproximadamente 10 mm) o más en comparación con la altura del hueso alveolar antes del tratamiento seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas o en cualquier realización, la altura del hueso alveolar es comparable a la distancia en un área no enferma de la boca del sujeto (p. ej., un diente adyacente o contralateral) seis semanas después del inicio del tratamiento.

En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra a una dosis y durante un período de tiempo eficaz para aumentar la densidad del hueso alveolar en al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con la densidad del hueso alveolar antes del tratamiento a un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, la densidad del hueso alveolar se restablece a la densidad del hueso alveolar anterior a la enfermedad (p. ej., de densidad comparable a un área gingival no enferma de la boca del sujeto) seis semanas después del inicio del tratamiento. En seres humanos, la densidad mineral ósea a menudo se determina clínicamente mediante la absorciometría dual de rayos X (DXA, por sus siglas en inglés). Otras técnicas incluyen tomografía computarizada cuantitativa (QCT), ultrasonografía, absorciometría de rayos X de energía simple (SXA, por sus siglas en inglés), obtención de imágenes por resonancia magnética, radiografía y absorciometría radiográfica. A excepción de la ecografía, la American Medical Association señala que las técnicas de BMD (por sus siglas en inglés) generalmente implican el uso de rayos X y se basan en el principio de que la atenuación de la radiación depende del grosor y la composición de los tejidos en la ruta de radiación. A menudo, las técnicas implican la comparación de resultados con una base de datos normativa.

Otro parámetro útil para evaluar el tratamiento exitoso con un anticuerpo antiesclerostina es la fracción de volumen del hueso alveolar (BVF, por sus siglas en inglés). La expresión "fracción de volumen del hueso", como se usa en el presente documento, se refiere al volumen de hueso mineralizado por unidad de volumen de la muestra de hueso (BV/TV,%) y puede medirse, por ejemplo, por tomografía microcomputarizada (micro-CT). En algunas o en cualquier realización, la BVF alveolar aumenta en al menos un 10 % (por ejemplo, al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 % o más) en comparación con el BVF alveolar antes del tratamiento o en comparación con un sujeto control (es decir, un sujeto con enfermedad periodontal avanzada que no recibió tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina) seis semanas después del inicio del tratamiento. En algunas o en cualquier realización, la BVF alveolar es comparable a la BVF alveolar en un área no enferma de la boca del sujeto (p. ej., un diente adyacente o contralateral) seis semanas después del inicio del tratamiento.

El aumento en uno cualquiera o más de altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, densidad del hueso alveolar y fracción de volumen del hueso alveolar y/o la disminución en la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta ósea (o la mejora de cualquier otro parámetro del hueso alveolar) se puede determinar en 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas o más después de la administración inicial del anticuerpo antiesclerostina. De manera alternativa, el aumento en uno cualquiera o más de altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, fracción de volumen del hueso alveolar y densidad del hueso alveolar (y/o la disminución en la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta ósea) se puede determinar después de que finalice el período de tratamiento (p. ej., 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, 13 semanas, 14 semanas, 15 semanas, 16 semanas, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8, meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses o 1 año después de que finalice el período de tratamiento). En un aspecto, el método reduce la cantidad de tiempo requerido para establecer un nivel deseado de altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, densidad del hueso alveolar y/o fracción de volumen del hueso alveolar y/o la disminución en la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta ósea, p. ej., cualquier aumento porcentual en la altura del hueso alveolar, masa ósea alveolar o densidad del hueso alveolar y/o fracción de volumen del hueso alveolar y/o distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta ósea descrito en el presente documento en comparación con pacientes coincidentes en edad y sexo que no reciben el anticuerpo antiesclerostina, reduciendo así el tiempo de recuperación de un sujeto. Por ejemplo, en una realización, el anticuerpo antiesclerostina reduce la cantidad de tiempo requerido para aumentar la altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, densidad del hueso alveolar y/o fracción de volumen del hueso alveolar y/o la disminución en la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta ósea al menos aproximadamente un 10 % (por ejemplo, al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 25 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 35 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 45 % o al menos aproximadamente un 50 %) en comparación con el sujeto que no

recibe el anticuerpo antiesclerostina.

Los parámetros funcionales, de calidad de vida indicativos de hueso alveolar potenciado incluyen, pero sin limitación, disminución del riesgo de pérdida de dientes; disminución del sangrado de las encías, profundidad reducida de la bolsa periodontal, nivel de fijación del tejido gingival aumentado, pronunciación mejorada; sentido del gusto mejorado; capacidad para comer determinados alimentos aumentada; tensión disminuida; dieta mejorada e irritabilidad disminuida. La administración de una o más dosis de un anticuerpo antiesclerostina, como se describe en el presente documento, acelera la mejora de los parámetros, funcionales, de calidad de vida asociados con la pérdida de hueso alveolar de una manera estadísticamente significativa en la población de pacientes analizados.

En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que una o más dosis del anticuerpo antiesclerostina se administra a un ser humano en el transcurso de un período de tratamiento que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 semanas, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 18 meses o más. Un "período de tratamiento" comienza con la administración de una primera dosis de anticuerpo antiesclerostina y termina con la administración de una dosis final de anticuerpo antiesclerostina. Se contempla cualquier número de administraciones de anticuerpo antiesclerostina durante un período de tratamiento. Por ejemplo, se proporcionan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 dosis o administraciones del anticuerpo antiesclerostina al sujeto durante el período de tratamiento. En una realización, el período de tratamiento comprende al menos 6 semanas. En algunas realizaciones, el período de tratamiento dura al menos 28 semanas. En otras realizaciones, el período de tratamiento dura al menos 1 año. Como alternativa o además, el período de tratamiento no dura más de 18 meses. De hecho, pueden llevarse a cabo una o más administraciones de una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo antiesclerostina durante un tratamiento o período terapéutico que no dure más de 18 meses, menos de 1 año, no más de 8 meses, no más de 28 semanas o no más de 20 semanas. En una realización, el período de tratamiento es de aproximadamente 28 semanas y produce una mejora significativa en los parámetros del hueso alveolar, tal como (pero sin limitación) la altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, fracción de volumen del hueso alveolar y densidad del hueso alveolar en comparación con sujetos no tratados con pérdida de hueso alveolar.

El anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra en una cantidad que promueve, potencia o acelera la reparación del hueso alveolar. En cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina se administra a un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) en una cantidad de aproximadamente 5 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos de inhibidor de esclerostina por semana. Por ejemplo, la cantidad de anticuerpo antiesclerostina puede comprender al menos aproximadamente 5 mg, 15 mg, 25 mg, 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 850 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 950 mg o hasta aproximadamente 1000 mg de anticuerpo antiesclerostina. También se contemplan los intervalos entre cualquiera de y la totalidad de estos extremos, por ejemplo, aproximadamente 50 mg a aproximadamente 80 mg, aproximadamente 70 mg a aproximadamente 140 mg, aproximadamente 70 mg a aproximadamente 210 mg, aproximadamente 75 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg, aproximadamente 120 mg a aproximadamente 270 mg, aproximadamente 140 mg a aproximadamente 210 mg o aproximadamente 150 mg a aproximadamente 200 mg o aproximadamente 280 a aproximadamente 410 mg. Se administra una dosis a cualquier intervalo, tal como varias veces a la semana (por ejemplo, dos o tres veces por semana), una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas. En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina puede ser para su uso en un método en el que se administra una dosis de anticuerpo antiesclerostina que varía de aproximadamente 120 mg a aproximadamente 210 mg dos veces por semana. En algunas o en cualquier realización, se administra una dosis de aproximadamente 140 mg del anticuerpo antiesclerostina dos veces por semana. En algunas o en cualquier realización, el período de tratamiento es de 12 semanas y el anticuerpo antiesclerostina se administra en la semana 2, semana 6 y semana 12 del período de tratamiento, opcionalmente a una dosis de aproximadamente 140 mg. Cualquiera de las dosis descritas en el presente documento puede administrarse como dosis divididas. Por ejemplo, se puede administrar una dosis de 140 mg de anticuerpo antiesclerostina como dos inyecciones de 70 mg de anticuerpo antiesclerostina o siete inyecciones de 20 mg de anticuerpo antiesclerostina durante una visita al dentista.

En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina puede ser para su uso en un método donde la dosis de anticuerpo antiesclerostina administrada a un sujeto (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano) puede variar de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg o aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal. Por ejemplo, la dosis de inhibidor de esclerostina (p. ej., agente aglutinante de esclerostina) puede variar de aproximadamente 0,1 mg/kg, aproximadamente 0,5 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg,

aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 26 mg/kg, aproximadamente 27 mg/kg, aproximadamente 28 mg/kg, aproximadamente 29 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 31 mg/kg, aproximadamente 32 mg/kg, aproximadamente 33 mg/kg, aproximadamente 34 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 36 mg/kg, aproximadamente 37 mg/kg, aproximadamente 38 mg/kg, aproximadamente 39 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 41 mg/kg, aproximadamente 42 mg/kg, aproximadamente 43 mg/kg, aproximadamente 44 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg, aproximadamente 46 mg/kg, aproximadamente 47 mg/kg, aproximadamente 48 mg/kg, aproximadamente 49 mg/kg o aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 55 mg/kg, aproximadamente 60 mg/kg, aproximadamente 65 mg/kg, aproximadamente 70 mg/kg, aproximadamente 75 mg/kg, aproximadamente 80 mg/kg, aproximadamente 85 mg/kg, aproximadamente 90 mg/kg o aproximadamente 95 mg/kg, hasta aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal.

Además, puede ser ventajoso administrar múltiples dosis de un anticuerpo antiesclerostina o espaciar la administración de dosis, dependiendo del régimen terapéutico seleccionado para un paciente en particular. Por ejemplo, se puede administrar una dosis de anticuerpo antiesclerostina una vez cada cuatro semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada dos semanas, una vez a la semana o varias veces a la semana (por ejemplo, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana o más), dependiendo de la gravedad de la patología, la edad y la salud física del paciente y similares.

El sujeto tiene enfermedad periodontal. En algunas realizaciones, el sujeto padece opcionalmente un trastorno relacionado con los huesos seleccionado del grupo que consiste en enfermedad periodontal avanzada, acondroplasia, pérdida ósea posmenopáusica, pérdida ósea oral, osteonecrosis de la mandíbula y pérdida de hueso de la mandíbula asociada con el envejecimiento. Opcionalmente, el sujeto está siendo sometido o ha sido sometido a cirugía oral o maxilofacial.

En algunas realizaciones, el sujeto padece opcionalmente una afección secundaria seleccionada del grupo que consiste en la enfermedad de Paget juvenil, melorreostosis, enfermedades metabólicas óseas, mastocitosis, anemia/enfermedad falciforme, pérdida de hueso relacionada con el trasplante de órganos, pérdida de hueso relacionada con trasplante de riñón, lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, epilepsia, artritis juveniles, talasemia, mucopolisacaridosis, enfermedad de Fabry, Síndrome de Turner, Síndrome de Down, Síndrome de Klinefelter, lepra, Enfermedad de Perthe, escoliosis idiopática del adolescente, enfermedad inflamatoria multisistémica de inicio infantil, Síndrome de Winchester, Enfermedad de Menkes, Enfermedad de Wilson, enfermedad ósea isquémica (tal como la enfermedad de Legg-Calvé-Perthes y la osteoporosis migratoria regional), estados anémicos, afecciones causadas por esteroides, pérdida ósea inducida por glucocorticoides, pérdida ósea inducida por heparina, trastornos de la médula ósea, escorbuto, desnutrición, deficiencia de calcio, osteoporosis, osteopenia, alcoholismo, enfermedad hepática crónica, estado posmenopáusico, afecciones inflamatorias crónicas, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, colitis inflamatoria, enfermedad de Crohn, oligomenorrea, amenorrea, embarazo, diabetes mellitus, hipertiroidismo, trastornos tiroideos, trastornos paratiroides, Enfermedad de Cushing, acromegalia, hipogonadismo, inmovilización o desuso, síndrome de distrofia simpática refleja, osteoporosis regional, osteomalacia, pérdida ósea asociada con reemplazo articular, pérdida ósea asociada al VIH, pérdida ósea asociada con pérdida de la hormona del crecimiento, pérdida ósea asociada con fibrosis quística, pérdida ósea asociada a quimioterapia, pérdida ósea inducida por tumor, pérdida ósea relacionada con el cáncer, pérdida ósea por ablación de hormonas, mieloma múltiple, pérdida ósea inducida por fármacos, anorexia nerviosa, pérdida ósea facial asociada a enfermedad, pérdida de hueso craneal asociada a enfermedad, pérdida ósea de la mandíbula asociada a enfermedad, pérdida ósea del cráneo asociada a enfermedad, pérdida ósea asociada con el envejecimiento, pérdida ósea facial asociada con el envejecimiento, pérdida de hueso craneal asociada con el envejecimiento, disostosis cleidocraneal, encondromatosis, displasia fibrosa, enfermedad de Gaucher, raquitismo hipofosfatémico, síndrome de Marfan, exotosis hereditarias múltiples, neurofibromatosis, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteopoiquiosis, lesiones escleróticas, pseudoartrosis, osteomielitis piógena, enfermedad periodontal, pérdida ósea inducida por fármacos antiepilépticos, hiperparatiroidismo primario y secundario, síndromes familiares de hiperparatiroidismo, pérdida ósea inducida por ingravidez, osteoporosis en hombres, osteoartritis, osteodistrofia renal, trastornos infiltrantes del hueso, pérdida ósea del cráneo asociada con el envejecimiento y pérdida ósea asociada con los viajes espaciales.

En algunas realizaciones, el sujeto opcionalmente también padece (o ha padecido) un cáncer. El término "cáncer" se refiere a un trastorno proliferativo asociado con la proliferación celular incontrolada, crecimiento celular sin restricciones y disminución de la muerte celular/apoptosis. El cáncer incluye, pero sin limitación, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de tiroides, melanoma, linfomas foliculares, carcinomas con mutaciones de p53 y tumores dependientes de hormonas, incluyendo, pero sin limitación, cáncer de colon, tumores cardíacos, cáncer pancreático, retinoblastoma, glioblastoma, cáncer de intestino, cáncer de testículos, cáncer de estómago, neuroblastoma, mixoma, mioma, linfoma, endotelioma, osteoblastoma, osteoclastoma, osteosarcoma, condrosarcoma, adenoma, sarcoma de Kaposi, cáncer de ovario, leucemia (incluidas leucemias agudas (por ejemplo, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, incluidas mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica y eritroleucemia)) y leucemias crónicas (por ejemplo, leucemia mielocítica crónica (granulocítica) y leucemia linfocítica crónica), síndrome mielodisplásico policitemia vera, linfomas (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin y enfermedad no de Hodgkin), mieloma múltiple, macroglobulinemia de

Waldenström, enfermedades de la cadena pesada y tumores sólidos que incluyen, pero sin limitación, sarcomas y carcinomas tal como fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomas, rabdomiosarcoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de las vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer de cuello de útero, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma y meningioma. Las expresiones "metástasis" y "metástasis del cáncer" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a la capacidad de una célula cancerosa para propagarse a otros tejidos. Por ejemplo, "metástasis en hueso" se refiere a la capacidad de ciertos tipos de cáncer que incluyen, pero sin limitación, mama, próstata, pulmón, riñón, tiroides y melanoma, de hacer metástasis en hueso.

Los métodos descritos en el presente documento también son aplicables a otras formas de enfermedad periodontal, incluida la enfermedad periodontal asociada con trastornos sistémicos tal como enfermedad cardiovascular, accidente cerebrovascular, enfermedad pulmonar, enfermedades inflamatorias y lupus eritematoso sistémico; enfermedad periodontal asociada con trastornos metabólicos tal como diabetes mellitus y enfermedad periodontal asociada con alteraciones hormonales asociadas con, por ejemplo, la menopausia. El uso de determinados fármacos tal como anticonvulsivos, bloqueadores de los canales de calcio y ciclosporina, también puede elevar el riesgo de hiperplasia gingival o enfermedad periodontal, al igual que determinados trastornos hematológicos, incluidos los trastornos del sistema inmunitario causados por, por ejemplo, VIH. Se contempla específicamente el tratamiento de sujetos que padecen o corren el riesgo de padecer los trastornos mencionados anteriormente con un anticuerpo anti-esclerostina descrito en el presente documento.

En algunas realizaciones, el sujeto padece opcionalmente un trastorno osteolítico. La expresión "trastorno osteolítico" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier afección causada por un aumento en la actividad de los osteoclastos, que son las células responsables de la resorción ósea. Las expresiones "osteólisis" y "pérdida osteolítica de hueso" se usan indistintamente para referirse a la resorción ósea mediada por osteoclastos o pérdida ósea asociada con un trastorno osteolítico. Los trastornos osteolíticos se producen en sujetos con una predisposición a desarrollar un trastorno osteolítico o se producen en sujetos con una enfermedad que conduce o contribuye a un trastorno osteolítico al estimular la actividad de los osteoclastos. En algunas realizaciones, el trastorno osteolítico es la pérdida ósea osteolítica. En otras realizaciones, el trastorno osteolítico es la pérdida ósea osteolítica inducida por metástasis de cáncer. En realizaciones adicionales, el trastorno óseo osteolítico es una enfermedad metabólica ósea, incluyendo, pero sin limitación, endocrinopatías (p. ej., hipercortisolismo, hipogonadismo, hiperparatiroidismo primario o secundario, e hipertiroidismo); deficiencia dietética, incluyendo, pero sin limitación, raquitismo, osteomalacia, escorbuto y desnutrición; osteoporosis; consumo de fármacos, incluidos los glucocorticoides (osteoporosis inducida por glucocorticoides), heparina y alcohol; enfermedad crónica, incluyendo síndromes de malabsorción; insuficiencia renal crónica, incluyendo osteodistrofia renal; enfermedad hepática crónica, incluyendo osteodistrofia hepática; enfermedad hereditaria, incluyendo osteogénesis imperfecta y homocistinuria; e inflamación ósea asociada con artritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, displasia fibrosa, enfermedad periodontal y enfermedad de Paget.

Las expresiones "pérdida ósea osteolítica inducida por metástasis" y "pérdida ósea osteolítica inducida por metástasis de cáncer", se usan indistintamente en el presente documento para referirse a osteólisis o pérdida ósea osteolítica resultante de metástasis de células cancerosas en hueso. La expresión "activación de osteoclastos inducida por metástasis de cáncer" se usa en el presente documento para referirse a la capacidad de las células cancerosas que se han metastatizado en hueso para inducir la activación de los osteoclastos.

Los métodos descritos en el presente documento comprenden administrar una cantidad de un anticuerpo anti-esclerostina. Como se usa en el presente documento, la expresión "inhibidor de esclerostina" significa cualquier molécula que inhibe la actividad biológica de la esclerostina en el hueso, medida por los cambios en la mineralización ósea, densidad ósea, altura del hueso, efecto sobre osteoblastos y/u osteoclastos, marcadores de formación ósea, marcadores de resorción ósea, marcadores de actividad de osteoblastos y/o marcadores de actividad de osteoclastos. Dichos inhibidores pueden actuar uniéndose a la esclerostina o a su receptor o a su compañero de unión. Los inhibidores en esta categoría incluyen "agentes aglutinantes de esclerostina" tal como, p. ej., anticuerpos o moléculas basadas en péptidos. Los "inhibidores de esclerostina" también se refieren a pequeños compuestos químicos orgánicos, opcionalmente de menos de aproximadamente 1000 Daltons en peso molecular que se unen a esclerostina e inhiben su actividad. Los inhibidores pueden actuar de manera alternativa inhibiendo la expresión de esclerostina. Los inhibidores en esta categoría incluyen polinucleótidos u oligonucleótidos que se unen al ADN o ARNm de esclerostina e inhiben la expresión de esclerostina, incluyendo, pero sin limitación, un oligonucleótido antisentido, ARN inhibidor, enzima de ADN (desoxirribosoma), ribosoma, un aptámero o sales farmacéuticamente aceptables del mismo que inhiben la expresión de esclerostina. El "inhibidor de esclerostina" empleado en la invención es un anticuerpo anti-esclerostina que comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376.

Un "agente aglutinante de esclerostina" se une a la esclerostina o a porciones de la misma para bloquear o perjudicar la unión de la esclerostina humana a uno o más ligandos. La esclerostina, el producto del gen SOST, está ausente en la esclerosteosis, una enfermedad esquelética caracterizada por sobrecrecimiento óseo y huesos densos fuertes (Brunkow *et al.*, *Am. J. Hum. Genet.*, 68:577-589 (2001); Balemans *et al.*, *Hum. Mol. Genet.*, 10:537-543 (2001)). La secuencia de aminoácidos de la esclerostina humana se informa por Brunkow *et al.* y se divulga en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747 como SEQ ID NO: 1. La esclerostina/SOST humana recombinante está disponible comercialmente de R&D Systems (Minneapolis, Minn., Estados Unidos; Catálogo 2006 n.º 1406-ST-025). De manera adicional, la esclerostina/SOST de ratón recombinante está disponible comercialmente de R&D Systems (Minneapolis, Minn., Estados Unidos; Catálogo 2006 n.º 1589-ST-025). Los anticuerpos monoclonales de unión a esclerostina de grado de investigación están disponibles comercialmente de R&D Systems (Minneapolis, Minn., Estados Unidos; monoclonal de ratón: Catálogo 2006 n.º MAB1406; monoclonal de rata: Catálogo 2006 n.º MAB1589). Las patentes de Estados Unidos números 6.395.511 y 6.803.453 y las publicaciones de patente de Estados Unidos números 20040009535 y 20050106683 se refieren a anticuerpos antiesclerostina en general. También se divulgan ejemplos de agentes aglutinantes de esclerostina adecuados para su uso en el contexto de la invención en las publicaciones de patente de Estados Unidos números 20070110747 y 20070072797. Se puede encontrar información adicional con respecto a materiales y métodos para generar agentes aglutinantes de esclerostina en la publicación de patente de Estados Unidos N.º 20040158045.

La invención emplea un anticuerpo antiesclerostina que comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376. El término "anticuerpo" se refiere a un anticuerpo intacto o un fragmento de unión del mismo. Un anticuerpo puede comprender una molécula completa de anticuerpo (inmunoglobulina) (que incluye versiones policlonales, monoclonales, quiméricas, humanizadas y/o humanas que tienen cadenas pesadas y/o ligeras de longitud completa) o comprender un fragmento de unión a antígeno de la misma. Los fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, Fab, Fab', Fv, Fc y Fd y pueden incorporarse en anticuerpos de dominio sencillos (p. ej., nanocuerpos), anticuerpos, maxicuerpos, minicuerpos, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv de cadena sencilla (véase, p. ej., Hollinger y Hudson, *Nature Biotechnology*, 23(9):1126-1136 (2005)). Los polipéptidos de anticuerpos, incluidos los monocuerpos de polipéptidos de fibronectina, también se divulgan en la Patente de Estados Unidos N.º 6.703.199. Otros polipéptidos de anticuerpos se divulgan en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20050238646. Las patentes de Estados Unidos números 6.395.511 y 6.803.453 y las publicaciones de patente de Estados Unidos números 20040009535 y 20050106683 se refieren a anticuerpos antiesclerostina en general. La secuencia de aminoácidos de la esclerostina humana se expone en la SEQ ID NO: 1 del Listado de Secuencias y se proporciona como la SEQ ID NO: 1 de la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747. Se puede encontrar información adicional con respecto a materiales y métodos para generar anticuerpos antiesclerostina en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20040158045.

Un fragmento de anticuerpo puede ser una proteína sintética o modificada por ingeniería genética. Por ejemplo, fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos aislados que consisten en la región variable de cadena ligera, fragmentos "Fv" que consisten en las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras y moléculas de polipéptidos de cadena sencilla recombinantes en las que las regiones variables ligeras y pesadas están conectadas por un enlazador peptídico (proteínas scFv).

Otra forma de un fragmento de anticuerpo es un péptido que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) de un anticuerpo. Las CDR (también denominadas "unidades mínimas de reconocimiento" o "región hipervariable") se obtienen mediante, p. ej., la construcción de polinucleótidos que codifican la CDR de interés. Tales polinucleótidos se preparan, por ejemplo, mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa para sintetizar la región variable usando ARNm de células productoras de anticuerpos (véanse, por ejemplo, Larrick *et al.*, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 2:106 (1991); Courtenay-Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," en *Monoclonal Antibodies Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter *et al.* (eds.), página 166, Cambridge University Press (1995); y Ward *et al.*, "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," en *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch *et al.*, (eds.), página 137, Wiley-Liss, Inc. (1995)).

Los anticuerpos antiesclerostina pueden unirse a la esclerostina de la SEQ ID NO: 1 o a una variante de origen natural de la misma, con una afinidad (Kd) menor o igual a  $1 \times 10^{-7}$  M, menor que o igual a  $1 \times 10^{-8}$  M, menor que o igual a  $1 \times 10^{-9}$  M, menor que o igual a  $1 \times 10^{-10}$  M, menor que o igual a  $1 \times 10^{-11}$  M o menor que o igual a  $1 \times 10^{-12}$  M. La afinidad se determina usando una variedad de técnicas, un ejemplo de las cuales es un ensayo ELISA de afinidad. En diversas realizaciones, la afinidad se determina mediante un ensayo BIAcore. En diversas realizaciones, la afinidad se determina mediante un método cinético. En diversas realizaciones, la afinidad se determina mediante un método de equilibrio/solución. La Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747 contiene una descripción adicional de ensayos de afinidad adecuados para determinar la afinidad (Kd) de un anticuerpo para la esclerostina.

También se divulga un anticuerpo o fragmento de anticuerpo antiesclerostina que se une a un polipéptido de esclerostina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1 y se une a la secuencia de la SEQ ID NO: 6 (CGPARLLPNAIGRGKWWRPSPDFRC; correspondiente a los aminoácidos 86-111 de la SEQ ID

NO: 1). Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina se une a un polipéptido de esclerostina que comprende los aminoácidos 57-146 de la SEQ ID NO: 1. Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina se une a un polipéptido de esclerostina que comprende los aminoácidos 89-103 de la SEQ ID NO: 1 y/o los aminoácidos 137-151 de la SEQ ID NO: 1. Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina se une a un polipéptido de esclerostina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1 y se une a la secuencia de al menos una de SEQ ID NO: 2 (DVSEYSCRELHFTR; correspondiente a los aminoácidos 51-64 de la SEQ ID NO: 1), SEQ ID NO: 3 (SAKPVTELVCSGQCQCPAR; correspondiente a los aminoácidos 73-90 de la SEQ ID NO: 1), SEQ ID NO: 4 (WWRPSGPDFRCIPDRYR; correspondiente a los aminoácidos 101-117 de la SEQ ID NO: 1), SEQ ID NO: 5 (LVASCKCKRLTR; correspondiente a los aminoácidos 138-149 de la SEQ ID NO: 1), SEQ ID NO: 70 (SAKPVTELVCSGQC; correspondiente a los aminoácidos 73-86 de la SEQ ID NO: 1), SEQ ID NO: 71 (LVASCKC; correspondiente a los aminoácidos 138-144 de la SEQ ID NO: 1), SEQ ID NO: 72 (C1RELHFTR; correspondiente a los aminoácidos 57-64 de la SEQ ID NO: 1) o SEQ ID NO: 73 (CIPDRYR; correspondiente a los aminoácidos 111-117 de la SEQ ID NO: 1) dentro de la SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, en un caso, el anticuerpo antiesclerostina se une a una subregión de esclerostina de la SEQ ID NO: 1 que comprende las SEQ ID NO: 2-5 (y/o las SEQ ID NO: 70-73) opcionalmente en su conformación tridimensional natural. Opcionalmente, el anticuerpo antiesclerostina se une a un péptido que consiste en una o más de la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 73 (por ejemplo, un péptido que consiste en la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5 o un péptido que consiste en la SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73).

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que se une a un polipéptido de esclerostina que tiene las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, en donde la SEQ ID NO: 2 y 4 están unidas por un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 57 y 111 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 3 y 5 están unidas por al menos uno de (a) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 82 y 142 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y (b) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 86 y 144 con referencia a la SEQ ID NO: 1; el polipéptido puede conservar la estructura terciaria de la región polipeptídica correspondiente de la esclerostina humana de la SEQ ID NO: 1. Como alternativa o además, el agente aglutinante de esclerostina (p. ej., anticuerpo antiesclerostina) se une a un polipéptido que tiene las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73, en donde la SEQ ID NO: 72 y 73 están unidas por un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 57 y 111 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 70 y 71 están unidas por al menos uno de (a) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 82 y 142 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y (b) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 86 y 144 con referencia a la SEQ ID NO: 1.

Opcionalmente, el anticuerpo antiesclerostina se une a un péptido que consiste esencialmente en las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 5, en donde la SEQ ID NO: 2 y 4 están unidas por un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 57 y 111 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 3 y 5 están unidas por al menos uno de (a) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 82 y 142 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y (b) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 86 y 144 con referencia a la SEQ ID NO: 1.

Opcionalmente, el anticuerpo antiesclerostina se une a un polipéptido que consiste esencialmente en una proteína esclerostina humana truncada multiplicada de la SEQ ID NO: 1, en donde (a) los aminoácidos 1-50, 65-72, 91-100, 118-137 y 150-190 de la SEQ ID NO: 1 están ausentes de dicho polipéptido o (b) los aminoácidos 1-56, 65-72, 87-110, 118-137 y 145-190 de SEQ ID NO: 1 están ausentes de dicho polipéptido.

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que se une a un polipéptido que tiene las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73, en donde la SEQ ID NO: 72 y 73 están unidas por un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 57 y 111 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 70 y 71 están unidas por al menos uno de (a) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 82 y 142 con referencia a la SEQ ID NO: 1 y (b) un enlace disulfuro en las posiciones de aminoácidos 86 y 144 con referencia a la SEQ ID NO: 1.

En algunos o en cualquier caso divulgado, el polipéptido conserva la estructura terciaria de la región polipeptídica correspondiente de la esclerostina humana de la SEQ ID NO: 1.

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que se une a

(i) una porción de esclerostina humana que comprende los aminoácidos 51-64, 73-90, 101-117 y 138-149 de la SEQ ID NO: 1, en donde dicha porción tiene al menos uno, al menos dos o los tres de:

- (a) un enlace disulfuro entre los aminoácidos 57 y 111;
- (b) un enlace disulfuro entre los aminoácidos 82 y 142; y
- (c) un enlace disulfuro entre los aminoácidos 86 y 144;

o

(ii) una porción de esclerostina humana que comprende los aminoácidos 57-64, 73-86, 111-117 y 138-144 de la SEQ ID NO: 1, en donde dicha porción tiene al menos uno, al menos dos o los tres de:

- 5 (a) un enlace disulfuro entre los aminoácidos 57 y 111;  
 (b) un enlace disulfuro entre los aminoácidos 82 y 142; y  
 (c) un enlace disulfuro entre los aminoácidos 86 y 144.

También se divulga un anticuerpo que también se une a un epítipo de la SEQ ID NO: 6.

- 10 Se divulgan anticuerpos antiesclerostina que preferentemente modulan la función de la esclerostina en el ensayo basado en células descrito en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747 y/o en el ensayo *en vivo* descrito en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747 y/o se unen a uno o más de los epítopos descritos en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747 y/o bloquean de forma cruzada la unión de uno de los anticuerpos descritos en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747 y/o están bloqueados de forma cruzada para la unión a la esclerostina por uno de los anticuerpos descritos en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747.

En varios casos, el anticuerpo antiesclerostina es capaz de neutralizar la esclerostina humana en un ensayo de mineralización basado en células MC3T3 cuando hay menos de un exceso de 6 veces de moles de sitios de unión a esclerostina por pocillo en comparación con el número de moles de esclerostina por pocillo. La mineralización por células de linaje de osteoblastos en cultivo, ya sean células primarias o líneas celulares, se usa como un modelo *in vitro* de formación ósea. Un ensayo de mineralización basado en células ejemplar se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747 en, p. ej., el Ejemplo 8. Las células MC3T3-E1 (Sudo *et al.*, J. Cell Biol., 96:191-198 (1983)) y los subclones de la línea celular original pueden formar minerales en cultivo al crecer en presencia de agentes diferenciadores. Dichos subclones incluyen MC3T3-E1-BF (Smith *et al.*, J. Biol. Chem., 275:19992-20001 (2000)). Tanto para el subclón MC3T3-E1-BF así como para las células MC3T3-E1 originales, la esclerostina puede inhibir una o más de la secuencia de eventos que conducen e incluyen la deposición de minerales (es decir, la esclerostina inhibe la mineralización). Los anticuerpos antiesclerostina que son capaces de neutralizar la actividad inhibitoria de la esclerostina permiten la mineralización del cultivo en presencia de esclerostina, de modo que hay un aumento estadísticamente significativo en, p. ej., la deposición de fosfato de calcio (medido como calcio) en comparación con la cantidad de calcio medido en el grupo de tratamiento con esclerostina sola (es decir, sin anticuerpos).

35 Cuando se ejecuta el ensayo con el objetivo de determinar si un determinado anticuerpo antiesclerostina (u otro inhibidor de esclerostina) puede neutralizar la esclerostina, la cantidad de esclerostina utilizada en el ensayo deseablemente es la cantidad mínima de esclerostina que causa al menos una reducción, estadísticamente significativa, del 70 %, en la deposición de fosfato de calcio (medido como calcio) en el grupo de esclerostina sola, en comparación con la cantidad de calcio medida en el grupo sin esclerostina. Un anticuerpo neutralizador antiesclerostina se define como uno que causa un aumento estadísticamente significativo en la deposición de fosfato de calcio (medido como calcio) en comparación con la cantidad de calcio medido en el grupo de tratamiento con esclerostina sola (es decir, sin anticuerpo). Para determinar si un anticuerpo antiesclerostina es neutralizante o no, la cantidad de anticuerpo antiesclerostina utilizada en el ensayo debe ser tal que haya un exceso de moles de sitios de unión a esclerostina por pocillo en comparación con el número de moles de esclerostina por pocillo. Dependiendo de la potencia del anticuerpo, el exceso de veces que puede necesitarse puede ser 24, 18, 12, 6, 3 o 1,5 y un experto está familiarizado con la práctica habitual de probar más de una concentración de agente aglutinante (anticuerpo). Por ejemplo, un anticuerpo neutralizador antiesclerostina muy potente neutralizará la esclerostina cuando haya menos de un exceso de 6 veces de moles de sitios de unión a esclerostina por pocillo en comparación con el número de moles de esclerostina por pocillo. Un anticuerpo neutralizador antiesclerostina menos potente neutralizará la esclerostina solo en un exceso de 12, 18 o 24 veces.

50 El anticuerpo antiesclerostina tiene opcionalmente una  $CI_{50}$  de 100 nM o menos o 75 nM o menos o 50 nM o menos o 25 nM o menos para neutralizar la esclerostina humana en un ensayo basado en células, tal como un ensayo de fosfatasa alcalina específica de hueso, p. ej., el ensayo de fosfatasa alcalina específica de hueso descrito en la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 y en la Patente de Estados Unidos N.º 7.744.874. E  
 55 ensayo de fosfatasa alcalina específica de hueso se basa en la capacidad de la esclerostina para disminuir los niveles de fosfatasa alcalina estimulada por BMP-4 y Wnt3a en la línea celular murina multipotencial, C2C12. De acuerdo con el documento WO 2008/115732, un anticuerpo neutralizante antiesclerostina media un aumento dependiente de la dosis de la actividad de fosfatasa alcalina en este ensayo. En el Ejemplo 1 se proporcionan protocolos ejemplares de los ensayos basados en células.

60 Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina tiene una  $CI_{50}$  de 100 nM o menos (por ejemplo, 75 nM o menos o 50 nM o menos) para neutralizar la esclerostina humana en un ensayo de señalización Wnt basado en células en líneas celulares HEK293, tal como el ensayo Wnt que implica la inducción mediada por Wnt1 del gen inductor de STF descrito en, por ejemplo, la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356. Como  
 65 alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina tiene una  $CI_{50}$  de 500 nM o menos (por ejemplo, 250 nM o menos, 150 nM o menos, 100 nM o menos o 50 nM o menos) para neutralizar la esclerostina humana en un ensayo

de mineralización inducido por BMP2 en células MC3T3, tal como el ensayo de mineralización descrito en, por ejemplo, la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356. Se proporciona un protocolo ejemplar en el Ejemplo 1.

5 Ejemplos de anticuerpos antiesclerostina se describen en las Publicaciones de Patentes de EE. UU. N.º 2007/0110747 y 2007/0072797. En una realización de la invención, el anticuerpo antiesclerostina bloquea de forma cruzada la unión de al menos uno de los anticuerpos Ab-A, Ab-B, Ab-C, Ab-D, Ab-1, Ab-2, Ab-3, Ab-4, Ab-5, Ab-6, Ab-7, Ab-8, Ab-9, Ab-10, Ab-11, Ab-12, Ab-13, Ab-14, Ab-15, Ab-16, Ab-17, Ab-18, Ab-19, Ab-20, Ab-21, Ab-22, Ab-23 y Ab-24 (todos los cuales se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747) a  
 10 esclerostina. Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina está bloqueado de forma cruzada para la unión a esclerostina por al menos uno de los anticuerpos Ab-A, Ab-B, Ab-C, Ab-D, Ab-1, Ab-2, Ab-3, Ab-4, Ab-5, Ab-6, Ab-7, Ab-8, Ab-9, Ab-10, Ab-11, Ab-12, Ab-13, Ab-14, Ab-15, Ab-16, Ab-17, Ab-18, Ab-19, Ab-20, Ab-21, Ab-22, Ab-23 y Ab-24 (todos los cuales se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747). Las expresiones "bloqueo de forma cruzada" "bloqueo de forma cruzada" y "que bloquea de forma cruzada" se  
 15 usan indistintamente en el presente documento para significar la capacidad de un anticuerpo para interferir con la unión de otros anticuerpos a la esclerostina. La medida en que un anticuerpo puede interferir con la unión de otro a la esclerostina y, por lo tanto, si se puede decir que bloquea de forma cruzada, puede determinarse usando ensayos de unión competitiva. En algunos casos, un anticuerpo que bloquea de forma cruzada o fragmento del mismo reduce la unión a esclerostina de un anticuerpo de referencia entre aproximadamente un 40 % y aproximadamente un  
 20 100 %, tal como aproximadamente un 60 % y aproximadamente un 100 %, específicamente entre un 70 % y un 100 % y más específicamente entre un 80 % y un 100 %. Un ensayo cuantitativo particularmente adecuado para detectar el bloqueo de forma cruzada utiliza una máquina Biacore que mide el alcance de las interacciones utilizando la tecnología de resonancia de plasmón superficial. Otro ensayo de bloqueo de forma cruzada cuantitativo adecuado utiliza un enfoque basado en ELISA para medir la competencia entre anticuerpos en términos de su unión a  
 25 esclerostina.

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que bloquea de forma cruzada la unión de una inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa a la esclerostina de la SEQ ID NO: 1 y/o está  
 30 bloqueado de forma cruzada para la unión a la esclerostina de la SEQ ID NO: 1 por una inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa, en donde la inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa comprende secuencias CDR divulgadas en el presente documento, tal como uno de los siguientes tres conjuntos de secuencias CDR: a) CDR-L1 de la SEQ ID NO: 284, CDR-L2 de la SEQ ID NO: 285, CDR-L3 de la SEQ ID NO: 286, CDR-H1 de la SEQ ID NO: 296, CDR-H2 de la SEQ ID NO: 297 y CDR-H3 de la SEQ ID NO: 298; b) CDR-L1 de la SEQ ID NO: 48, CDR-L2 de la SEQ ID NO: 49, CDR-L3 de la SEQ ID NO: 50, CDR-H1 de la SEQ ID NO: 45, CDR-H2 de la SEQ ID NO: 46 y CDR-H3 de la SEQ ID NO: 47; o c) CDR-L1 de la  
 35 SEQ ID NO: 42, CDR-L2 de la SEQ ID NO: 43, CDR-L3 de la SEQ ID NO: 44, CDR-H1 de la SEQ ID NO: 39, CDR-H2 de la SEQ ID NO: 40 y CDR-H3 de la SEQ ID NO: 41. Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina bloquea de forma cruzada la unión de la inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa a la esclerostina de la SEQ ID NO: 1 y/o está bloqueado de forma cruzada para la unión a la esclerostina  
 40 de la SEQ ID NO: 1 por una inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa, en donde la inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa comprende las siguientes CDR: CDR-H1 de la SEQ ID NO: 245, CDR-H2 de la SEQ ID NO: 246, CDR-H3 de la SEQ ID NO: 247, CDR-L1 de la SEQ ID NO: 78, CDR-L2 de la SEQ ID NO: 79 y CDR-L3 de la SEQ ID NO: 80.

45 Como alternativa o además, el anticuerpo antiesclerostina bloquea de forma cruzada la unión de la inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa a la esclerostina de la SEQ ID NO: 1 y/o está bloqueado de forma cruzada para la unión a la esclerostina de la SEQ ID NO: 1 por una inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa, en donde la inmunoglobulina que comprende cadenas pesadas y ligeras de longitud completa comprende las siguientes CDR: CDR-H1 de la SEQ ID NO: 269, CDR-H2 de la SEQ ID NO: 270, CDR-H3 de la SEQ ID NO: 271, CDR-L1 de la SEQ ID NO: 239, CDR-L2 de la SEQ ID NO: 240 y CDR-L3 de la SEQ ID NO: 241.  
 50

Ejemplos de anticuerpos antiesclerostina adecuados y fragmentos de los mismos incluyen anticuerpos y fragmentos de anticuerpos que tienen una o más de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 divulgados  
 55 específicamente en el presente documento y divulgados en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747. Al menos una de las regiones de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 pueden tener al menos una sustitución de aminoácidos, siempre que el anticuerpo conserve la especificidad de unión de la CDR no sustituida. Ejemplos de anticuerpos antiesclerostina incluyen, pero sin limitación, Ab-A, Ab-B, Ab-C, Ab-D, Ab-1, Ab-2, Ab-3, Ab-4, Ab-5, Ab-6, Ab-7, Ab-8, Ab-9, Ab-10, Ab-11, Ab-12, Ab-13, Ab-14, Ab-15, Ab-16, Ab-17, Ab-18, Ab-19, Ab-20, Ab-21, Ab-22, Ab-23 y Ab-24 de la Publicación de Patente de los Estados Unidos N.º 20070110747.  
 60

Además, se divulga un anticuerpo antiesclerostina que puede comprender al menos una secuencia CDR que tiene al menos un 75 % de identidad (por ejemplo, un 100 % de identidad) con una CDR seleccionada de las SEQ ID NO: 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 78, 79, 80, 81, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243,  
 65

244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 351, 352, 353, 358, 359 y 360 proporcionadas en el Listado de Secuencias y divulgadas en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747. Preferentemente, el anticuerpo antiesclerostina comprende al menos una secuencia CDR que tiene al menos un 75 % de identidad con una CDR seleccionada de las SEQ ID NO: 245, 246, 247, 78, 79, 80, 269, 270, 271, 239, 240 y 241, todas las cuales se proporcionan en el Listado de Secuencias y se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747. Como se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747, el anticuerpo antiesclerostina puede comprender: a) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 54, 55 y 56 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 51, 52 y 53; b) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 60, 61 y 62 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 57, 58 y 59; c) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 48, 49 y 50 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 45, 46 y 47; d) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 42, 43 y 44 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 39, 40 y 41; e) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 275, 276 y 277 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 287, 288 y 289; f) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 278, 279 y 280 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 290, 291 y 292; g) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 78, 79 y 80 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 245, 246 y 247; h) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 81, 99 y 100 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 248, 249 y 250; i) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 101, 102 y 103 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 251, 252 y 253; j) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 104, 105 y 106 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 254, 255 y 256; k) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 107, 108 y 109 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 257, 258 y 259; l) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 110, 111 y 112 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 260, 261 y 262; m) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 281, 282 y 283 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 293, 294 y 295; n) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 113, 114 y 115 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 263, 264 y 265; o) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 284, 285 y 286 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 296, 297 y 298; p) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 116, 237 y 238 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 266, 267 y 268; q) secuencias de CDR de SEQ ID NO: 239, 240 y 241 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 269, 270 y 271) secuencias de CDR de las SEQ ID NO: 242, 243 y 244 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 272, 273 y 274; o s) secuencias CDR de las SEQ ID NO: 351, 352 y 353 y secuencias CDR de las SEQ ID NO: 358, 359 y 360.

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que comprende al menos una secuencia CDR que tiene al menos un 75 % de identidad (por ejemplo, un 100 % idéntica) a una CDR seleccionada de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 en donde CDR-H1 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 245, CDR-H2 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 246, CDR-H3 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 247, CDR-L1 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 78, CDR-L2 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 79 y CDR-L3 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 80, todas las cuales se proporcionan en el Listado de Secuencias y se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747. El anticuerpo antiesclerostina, en varios casos, comprende dos de las CDR o seis de las CDR. Opcionalmente, el anticuerpo antiesclerostina comprende la totalidad o parte de una cadena pesada (por ejemplo, dos cadenas pesadas) que comprende la SEQ ID NO: 378 y la totalidad o parte de una cadena ligera (por ejemplo, dos cadenas ligeras) que comprende la SEQ ID NO: 376.

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que puede comprender al menos una secuencia CDR que tiene al menos un 75 % de identidad (por ejemplo, 100 % idéntica) a una CDR seleccionada de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 en donde CDR-H1 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 269, CDR-H2 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 270, CDR-H3 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 271, CDR-L1 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 239, CDR-L2 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 240 y CDR-L3 tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 241, todas las cuales se proporcionan en el Listado de Secuencias y se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747. El anticuerpo antiesclerostina, en varios casos, comprende al menos dos de las CDR o seis de las CDR. Opcionalmente, el anticuerpo antiesclerostina comprende la totalidad o parte de una cadena pesada (por ejemplo, dos cadenas pesadas) que comprende la SEQ ID NO: 366 y la totalidad o parte de una cadena ligera (por ejemplo, dos cadenas ligeras) que comprende la SEQ ID NO: 364.

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que tiene una cadena pesada que comprende las CDR H1, H2 y H3 y que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 137, 145 o 392 o una variante de la misma en la que las CDR son al menos un 75 % idénticas (por ejemplo, 100 % idénticas) a las SEQ ID NO: 245, 246 y 247, respectivamente y una cadena ligera que comprende las CDR L1, L2 y L3 y que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 133 o 141 o una variante de la misma en la que las CDR son al menos 75 % idénticas (por ejemplo, 100 % idénticas) a las SEQ ID NO: 78, 79 y 80, respectivamente (como se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747).

También se divulga un anticuerpo antiesclerostina que tiene una cadena pesada que comprende las CDR H1, H2 y H3 y que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 335, 331, 345 o 396 o una variante de cualquiera de las anteriores en la que las CDR son al menos un 75 % (por ejemplo, 100 % idénticas) idénticas a las SEQ ID NO: 269, 270 y 271, respectivamente y una cadena ligera que comprende las CDR L1, L2 y L3 y que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 334 o 341 o una variante de cualquiera de las anteriores en la que las CDR son al menos un 75 % idénticas (por ejemplo, 100 % idénticas) a las SEQ ID NO: 239, 240 y 241, respectivamente (como se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747). Se contemplan todas las combinaciones de las secuencias de cadena pesada y

ligeras (por ejemplo, cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 335 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 334; cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 331 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 334 o 341; y cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 345 o 396 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 341).

5 De manera alternativa, se divulga un anticuerpo antiesclerostina que tiene una cadena pesada que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 137 y una cadena ligera que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 133; una cadena pesada que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 145 o 392 y una cadena ligera que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 141; una cadena pesada que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 335 y una cadena ligera que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 334; una cadena pesada que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 331 y una cadena ligera que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 341; o una cadena pesada que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 345 o 396 y una cadena ligera que comprende un polipéptido que tiene la secuencia proporcionada en la SEQ ID NO: 341 (como se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20070110747).

20 Ejemplos de anticuerpos antiesclerostina también incluyen, pero sin limitación, los anticuerpos antiesclerostina divulgados en las Publicaciones de Patentes Internacionales N.º WO 2008/092894, WO 2008/115732, WO 2009/056634, WO 2009/047356, WO 2010/100200, WO 2010/100179, WO 2010/115932 y WO 2010/130830, tal como un anticuerpo antiesclerostina que comprende las CDR de las SEQ ID NO: 20-25 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 (SEQ ID NO: 416-421 en el presente documento), un anticuerpo antiesclerostina que comprende las CDR de las SEQ ID NO: 26-31 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 (SEQ ID NO: 422-427 en el presente documento), un anticuerpo antiesclerostina que comprende las CDR de las SEQ ID NO: 32-37 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 (SEQ ID NO: 428-433 en el presente documento), un anticuerpo antiesclerostina que comprende las CDR de las SEQ ID NO: 4, 15, 26, 37, 48 y 59 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356 (SEQ ID NO: 443, 454, 465, 476, 487 y 498, respectivamente, en el presente documento) o un anticuerpo antiesclerostina que comprende la secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEQ ID NO: 135-143, 153-161 o 171-179 de la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2010/130830 (SEQ ID NO: 745-753, 763-771, 781-789, respectivamente, en el presente documento).

35 También se divulga un inhibidor de esclerostina que no sea un anticuerpo antiesclerostina. Dichos agentes pueden actuar directa o indirectamente sobre SOST o esclerostina. Los inhibidores de esclerostina incluyen los descritos en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2003/0229041. Por ejemplo, los agentes útiles para modular la expresión de SOST y la actividad de la esclerostina incluyen, pero sin limitación, esteroides (como los correspondientes a la Fórmula 1 de la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2003/0229041), alcaloides, terpenoides, peptoides y productos químicos sintéticos. En algunas realizaciones, el antagonista o agonista de SOST puede unirse a un receptor de glucocorticoides. Por ejemplo, la dexametasona tiende a eliminar el efecto estimulante de BMP-4 y BMP-6 sobre la expresión SOST. Otras entidades químicas que incluyen análogos de glucocorticoides, sales biliares (tal como las correspondientes a la Fórmula 3 de la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2003/0229041) y las prostaglandinas (tal como las correspondientes a la Fórmula 2 de la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2003/0229041) también modulan los efectos de las proteínas morfogenéticas óseas en la expresión de SOST y se contemplan para su uso en los métodos descritos en el presente documento.

50 Los inhibidores de la expresión de esclerostina divulgados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, ácidos nucleicos inhibidores, que incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, p. ej., sales de sodio. En algunas realizaciones, el ácido nucleico inhibidor como se describe en otra parte en el presente documento se selecciona del grupo que consiste en oligonucleótidos antisentido, ribozimas, oligonucleótidos de secuencia de guía externa (EGS, por sus siglas en inglés), compuestos de ARNip, compuestos de interferencia de ARN (ARNi) mono o bicatenarios, tales como compuestos de ARNip, bases modificadas/ácidos nucleicos bloqueados (LNA, por sus siglas en inglés), antagomirs, ácidos peptidonucleicos (APN) y otros compuestos oligoméricos o miméticos de oligonucleótidos que hibridan con al menos una porción del ácido nucleico diana y modulan su función. En algunos casos, el ácido nucleico inhibidor es monocatenario o bicatenario. En algún caso, el ácido nucleico inhibidor es un oligonucleótido antisentido, bases modificadas/ácidos nucleicos bloqueados (LNA), ácidos peptidonucleicos (APN), ácidos arabinonucleicos (ANA) (como se describe, por ejemplo, en la publicación PCT n.º WO 99/67378); ácidos 2'-fluoro-D-arabinonucleicos (FANA) (como se describe en, por ejemplo, Lon *et al.*, *Biochem.*, 41:3457-3467, 2002 y Min *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12:2651-2654, 2002; oligómeros de morfolino fosforodiamidato (PMO, por sus siglas en inglés) (por ejemplo, como se describe en Iverson, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 3:235-238, 2001; y Wang *et al.*, *J. Gene Med.*, 12:354-364, 2010); ácidos nucleicos puenteados con etileno (como se describe en, por ejemplo, la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2005/042777, Morita *et al.*, *Nucleic Acid Res.*, Supl 1:241-242, 2001; Surono *et al.*, *Hum. Gene Ther.*, 15:749-757, 2004; Koizumi, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 8:144-149, 2006 y Horie *et al.*, *Nucleic Acids Symp. Ser (Oxf)*, 49:171-172, 2005); ácidos nucleicos puenteados con 2'-O,4'-C-etileno, ribozima, oligonucleótidos de secuencia de guía externa (EGS, por sus siglas en inglés), microARN (miARN), ARN pequeños

temporales (ARNtp) y compuestos de interferencia de ARN mono o bicatenarios (ARNi) o ARNip. En algunas realizaciones, el ácido nucleico inhibidor comprende al menos una modificación de nucleótidos y/o nucleósidos (por ejemplo oligonucleótidos con cadenas principales modificadas o restos de azúcares modificados).

5 La actividad de un inhibidor de esclerostina particular se puede medir de varias maneras, incluyendo los métodos descritos anteriormente para detectar aumentos en el contenido mineral óseo o la densidad ósea. La capacidad de un inhibidor de esclerostina para modular la masa ósea se puede calcular a partir del peso corporal o usando otros métodos (véase Guinness-Hey, *Metab. Bone Dis. Relat. Res.*, 5:177-181 (1984)). Los animales y modelos animales particulares se usan en la técnica para probar el efecto de las composiciones farmacéuticas y métodos sobre, por ejemplo, los parámetros de pérdida ósea, resorción ósea, formación ósea, resistencia ósea o mineralización ósea. Ejemplos de tales modelos incluyen el modelo de rata ovariectomizada (Kalu, *Bone and Mineral*, 15:175-192 (1991); Frost y Jee, *Bone and Mineral*, 18:227-236 (1992); y Jee y Yao, *J. Musculoskel. Neuron. Interact.*, 1:193-207 (2001)). Los métodos para medir la actividad del agente aglutinante de esclerostina descritos en el presente documento también pueden usarse para determinar la eficacia de otros inhibidores de esclerostina.

15 De manera alternativa, se puede seleccionar un inhibidor de esclerostina en función de su capacidad para modular los niveles de marcadores óseos. Los marcadores óseos son productos creados durante el proceso de remodelación ósea y son liberados por el hueso, osteoblastos y/u osteoclastos. Las fluctuaciones en los niveles de "marcadores" de resorción ósea y/o formación de hueso implican cambios en la remodelación/modelado óseos. La International Osteoporosis Foundation (IOF) recomienda el uso de marcadores óseos para monitorizar las terapias de densidad ósea (véase, p. ej., Delmas *et al.*, *Osteoporos Int.*, Suppl. 6:S2-17 (2000)). Los marcadores indicativos de resorción ósea (o actividad de los osteoclastos) incluyen, por ejemplo, telopéptido C (p. ej., telopéptido C-terminal de colágeno tipo 1 (CTX) o telopéptido C reticulado en suero), telopéptido N (telopéptido N-terminal de colágeno tipo 1 (NTX)), desoxipiridinolina (DPD), piridinolina, hidroxiprolina urinaria, galactosil hidroxilisina y fosfatasa ácida resistente a tartrato (p. ej., isoforma 5b de fosfatasa ácida resistente a tartrato en suero). Los marcadores de formación/mineralización ósea incluyen, pero sin limitación, fosfatasa alcalina específica de hueso (BSAP, por sus siglas en inglés), péptidos liberados de la extensión N y C-terminal de procolágeno de tipo I (P1NP, PI CP) y osteocalcina (OstCa). Varios kits están disponibles comercialmente para detectar y cuantificar marcadores en muestras clínicas, tal como orina y sangre.

### 30 Vías de administración

El anticuerpo antiesclerostina proporcionado es preferentemente para su uso en un método en el que se administra a un sujeto en una composición fisiológicamente aceptable (por ejemplo, farmacéutica), que puede incluir transportadores, excipientes o diluyentes. Se apreciará que el anticuerpo antiesclerostina descrito en el presente documento se puede usar en la preparación de un medicamento para la administración usando cualquiera de los regímenes de dosificación y programación divulgados en el presente documento. Las composiciones farmacéuticas y los métodos de tratamiento se divulgan en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 20050106683 y 2007/110747. "Fisiológicamente aceptable" se refiere a entidades y composiciones moleculares que no producen reacción alérgica o adversa similar cuando se administran a un ser humano. Además, la composición administrada a un sujeto puede contener más de un inhibidor de esclerostina (por ejemplo, dos anticuerpos antiesclerostina o un agente aglutinante de esclerostina y un inhibidor de esclerostina químico sintético) o un inhibidor de esclerostina en combinación con uno o más agentes terapéuticos que tienen diferentes mecanismos de acción.

45 El desarrollo de composiciones adecuadas para su uso en una variedad de vías de administración, incluyendo, por ejemplo, administración y formulación subcutánea oral, parenteral, intravenosa, intranasal e intramuscular, es bien conocido en la técnica y se analiza en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 2007/0110747. Por ejemplo, en determinadas circunstancias, será deseable suministrar una composición farmacéutica que comprenda un agente aglutinante de esclerostina por vía subcutánea, por vía parenteral, por vía intravenosa, por vía intramuscular o incluso por vía intraperitoneal. Tales enfoques son bien conocidos por los expertos en la técnica, algunos de los cuales se describen más detalladamente, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos N.º 5.543.158; 5.641.515; y 5.399.363. Las formas farmacéuticas ilustrativas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles (por ejemplo, véase la Patente de Estados Unidos N.º 5.466.468). En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil inyectabilidad (es decir, no sea excesivamente viscosa como para evitar el paso a través de una jeringa).

En un aspecto, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra por vía sistémica. En una realización, para administración parenteral en una solución acuosa, la solución debe tamponarse de manera adecuada si fuera necesario y el diluyente líquido en primer lugar tiene que volverse isotónico con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. Por ejemplo, una dosis puede disolverse en 1 ml de solución de NaCl isotónica y añadirse a 1000 ml de líquido de hipodermoclasia o inyectarse en el sitio propuesto de infusión (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª ed., Mack Pub. Co., Easton, PA, págs. 1035-1038 y 1570-1580). Puede producirse alguna variación en la dosis y frecuencia de administración dependiendo de la afección del sujeto a tratar; la edad, la estatura, el peso y la salud general del paciente; y la existencia de

cualquier efecto secundario, de 5 mg a 1000 mg por semana del anticuerpo antiesclerostina que se administre por semana. Además, una composición farmacéutica que comprende un agente aglutinante de esclerostina puede colocarse dentro de recipientes (por ejemplo, viales o jeringas precargadas), junto con material de embalaje que proporciona instrucciones sobre el uso de tales composiciones farmacéuticas. En general, tales instrucciones

5 incluirán una expresión tangible que describe la concentración de reactivo, así como dentro de determinadas realizaciones, las cantidades relativas de ingredientes excipientes o diluyentes (p. ej., agua, solución salina o PBS) que pueden ser necesarios para reconstituir la composición farmacéutica.

En otro aspecto, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra localmente al

10 sujeto. En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra por enfermedad a la encía, área de hueso o diente enfermos. A este respecto, el anticuerpo antiesclerostina se inyecta opcionalmente directamente en el tejido gingival y/o se aplica a la bolsa periodontal mediante, por ejemplo, una jeringa que contiene el anticuerpo antiesclerostina y un transportador apropiado.

Para aspectos de administración local (tal como la inyección subcutánea del inhibidor de esclerostina directamente en el área gingival enferma o en la bolsa periodontal enferma del sujeto), el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra opcionalmente a un sujeto en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 20 mg. En algunas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina se administra directamente al área afectada en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9

20 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 o aproximadamente 20 mg. La dosis se administra a cualquier intervalo, tal como varias veces a la semana (por ejemplo, dos o tres veces por semana), una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas. En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que se administra en una dosis que varía de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 20 mg administrada dos veces

25 por semana. La cantidad de anticuerpo antiesclerostina se administra opcionalmente como una dosis dividida, p. ej., usando múltiples inyecciones a lo largo de un segmento del área afectada.

En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo antiesclerostina se incorpora a un gel, malla, matriz o esponja de colágeno, embebido en un implante dental o injerto óseo o recubierto en un implante. El implante puede ser un

30 reimplante del propio diente de un sujeto (por ejemplo, perdido por un traumatismo) o un implante protésico (hecho de, por ejemplo, plástico, cerámica, metal o de células madre como se describe en el documento WO 2004/074464).

El término "malla" significa cualquier material en cualquier forma, incluyendo, por ejemplo, anudado, trenzado, extruido, sellado, de punto, tejido, no tejido u otra forma y puede incluir un material con patrones sustancialmente regulares y/o irregulares. Pueden usarse ejemplos de mallas no tejidas, incluyendo materiales electrohilados, (para una revisión sobre la preparación de material de nanofibras electrohiladas, véase Zheng-Ming Huang et al, Composites Science and Technology, 2003, 63:2223-2253). Una malla puede ser, sin limitación, una malla de fibra reticulada, una malla de nanofibras, una tela de malla, malla polimérica biodegradable o una combinación de cualquiera de las anteriores. Una malla puede ser no degradable, degradable o biodegradable. Una malla

40 degradable puede ser una malla que puede degradarse por medios no biológicos (p. ej., hidrólisis o fotólisis). Una malla biodegradable es, en diversas realizaciones, un tipo de malla que puede descomponerse mediante un sistema biológico mediante la acción de las células o enzimas digestivas o mediante la oxidación por biomoléculas.

Se describen formulaciones de gel ejemplares para suministro oral de anticuerpos en el documento WO 2010/1004179. En algunas realizaciones, el gel es un hidrogel hecho de polímeros elastoméricos biocompatibles de alto peso molecular de origen sintético o natural. Una propiedad deseable para los hidrogeles es la capacidad de responder rápidamente a tensiones mecánicas, particularmente cizallas y cargas, en el cuerpo humano. Los hidrogeles obtenidos de fuentes naturales se contemplan porque es más probable que sean biodegradables y biocompatibles para aplicaciones *in vivo*. Los hidrogeles adecuados incluyen hidrogeles naturales, tal como, por

50 ejemplo, gelatina; colágeno; seda; elastina; fibrina y polímeros derivados polisacáridos; gel de glucomanano; ácido hialurónico; polisacáridos, tales como polisacáridos que contienen carboxilo reticulados o una combinación de los mismos. Los hidrogeles sintéticos incluyen, pero sin limitación, los formados a partir de alcohol polivinílico; acrilamidas tales como ácido poliacrílico y poli(ácido acrilonitrilo-acrílico); poliuretanos; polietilenglicol (p. ej., PEG 3350, PEG 4500, PEG 8000); silicona; poliolefinas tales como poliisobutileno y poliisopreno; copolímeros de silicona y poliuretano; neopreno; nitrilo; caucho vulcanizado; poli(N-vinil-2-pirrolidona); acrilatos tales como poli(2-hidroxietil metacrilato) y copolímeros de acrilatos con N-vinilpirrolidona; N-vinil lactamas; poliacrilonitrilo o combinaciones de los mismos. Los materiales de hidrogel pueden además estar reticulados para proporcionar resistencia adicional según sea necesario. Ejemplos de diferentes tipos de poliuretanos incluyen poliuretanos termoplásticos o termoestables, poliuretanos alifáticos o aromáticos, polieteruretano, policarbonato-uretano o polieteruretano de silicona o una

60 combinación de los mismos.

En diversas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método donde, en lugar de mezclar directamente el anticuerpo antiesclerostina en el gel, las microesferas que se cargan con el anticuerpo antiesclerostina pueden dispersarse dentro del gel. En una realización, las microesferas proporcionan una liberación sostenida del inhibidor de esclerostina. En otra realización más, el gel, que es biodegradable, evita que las

65 microesferas liberen el anticuerpo antiesclerostina; las microesferas por lo tanto no liberan el anticuerpo

antiesclerostina hasta que se hayan liberado del gel. Por ejemplo, se puede implantar un gel alrededor de un sitio de tejido diana (p. ej., borde alveolar).

5 La invención también contempla el uso de geles adherentes para restringir la dispersión del anticuerpo  
antiesclerostina. Los geles pueden implantarse, por ejemplo, en la bolsa periodontal, diente, hueso alveolar o en el  
tejido gingival circundante.

10 En algunas o en cualquier realización, el anticuerpo anti-sclerostina se formula en pastas, bálsamos, ceras,  
lociones, soluciones de enjuague, polvos secos con/sin agente de carga y varios formatos diferentes para  
administración tópica conocidos en la técnica. El anticuerpo anti-sclerostina también puede suministrarse localmente  
en forma de polvo o solución pulverizada o soluciones para gárgaras. De manera alternativa, el anticuerpo  
antiesclerostina se incorpora a apósitos para heridas, almohadillas, gasa u otro medio aplicado al área de interés  
enferma (por ejemplo, área gingival o bolsa periodontal enferma) desde la que se transfieren al área de interés.

#### 15 Terapia de Combinación

El tratamiento de una patología combinando dos o más agentes que se dirigen al mismo patógeno o vía bioquímica  
a veces da como resultado una mayor eficacia y una disminución de los efectos secundarios en relación con el uso  
de la dosis terapéuticamente relevantes de cada agente solo. En algunos casos, la eficacia de la combinación de  
20 fármacos es aditiva (la eficacia de la combinación es aproximadamente igual a la suma de los efectos de cada  
fármaco solo), pero en otros casos el efecto puede ser sinérgico (la eficacia de la combinación es mayor que la suma  
de los efectos de cada fármaco proporcionado solo). Como se usa en el presente documento, la expresión "terapia  
de combinación" significa que los dos compuestos pueden suministrarse de manera simultánea, p. ej., de manera  
concurrente o en donde uno de los compuestos se administra primero, seguido por el segundo agente, p. ej.,  
25 secuencialmente. El resultado deseado puede ser un alivio subjetivo de uno o más síntomas o una mejora  
objetivamente identificable en el receptor de la dosis.

30 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-sclerostina se administra en combinación con el uso de materiales que  
apoyan la regeneración de hueso, tal como injerto óseo, polvo de hueso, astillas de hueso, matriz ósea  
desmineralizada, andamios óseos, prótesis, estabilizadores metálicos o sustancias de andamio óseo que  
comprenden uno o más de polímeros, cerámicas, cemento y sustitutos de injertos óseos basados en fosfatos de  
calcio. Muchas variaciones de tales materiales son conocidas en la técnica.

35 En algunas o en cualquier realización, un método o uso descrito en el presente documento comprende administrar  
una terapia con un tratamiento de referencia para el tratamiento de la enfermedad periodontal al sujeto antes de  
administrar el anticuerpo anti-sclerostina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la terapia con un tratamiento de  
referencia para el tratamiento de la enfermedad periodontal es un agente terapéutico seleccionado del grupo que  
consiste en Periostat® y tetraciclina-3 modificada químicamente (CMT-3). En algunas realizaciones, la terapia con  
40 un tratamiento de referencia comprende irrigación y/o descamación y desbridamiento oral supra y/o subgingival (p.  
ej., eliminación de placa microbiana y cálculo) del área afectada del sujeto. En algunas realizaciones, el tratamiento  
de referencia comprende realizar irrigación y/o descamación y desbridamiento oral del área afectada en combinación  
con Periostat y/o CMT-3 antes de la administración del anticuerpo anti-sclerostina. En algunas realizaciones, el  
método comprende administrar la terapia con un tratamiento de referencia de manera concurrente con la  
administración del anticuerpo anti-sclerostina. En otras realizaciones, la terapia con un tratamiento de referencia se  
45 administra de forma secuencial. Por ejemplo, la terapia con un tratamiento de referencia se puede administrar 1 día,  
2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 6 semanas, 8 semanas, 10  
semanas, 12 semanas o más antes de administrar el anticuerpo anti-sclerostina al sujeto. En realizaciones  
preferidas, la progresión de la enfermedad periodontal en el sujeto se ralentiza, detiene o revierte antes de la  
administración del anticuerpo anti-sclerostina.

50 En algunas o en cualquier realización, un método o uso descrito en el presente documento comprende además  
administrar un antibiótico, tal como un antibiótico seleccionado del grupo que consiste en amoxicilina, clorhidrato de  
tetraciclina, doxiciclina, minociclina, azitromicina, roxitromicina, moxifloxacino, ciprofloxacino y metronidazol. En  
algunas realizaciones, el método o uso comprende administrar el antibiótico al sujeto antes de administrar el  
anticuerpo anti-sclerostina al sujeto. En otras realizaciones, el método o uso comprende administrar el antibiótico al  
55 sujeto de manera concurrente con la administración del anticuerpo anti-sclerostina.

60 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-sclerostina es para su uso en un método en el que se administra junto  
con un segundo agente terapéutico potenciador de hueso útil para el tratamiento de la disminución de la densidad  
mineral ósea o del defecto óseo. En algunas realizaciones, el agente terapéutico potenciador de hueso se  
selecciona del grupo que consiste en un fármaco antirresortivo, un agente formador de huesos, un modulador de los  
receptores de estrógenos (que incluye, pero sin limitación, raloxifeno, bazedoxifeno y lasofoxifeno) y un fármaco que  
tiene un efecto inhibidor sobre los osteoclastos. En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso  
se selecciona del grupo que consiste en un bisfosfonato (que incluye, pero sin limitación, alendronato de sodio  
65 (FOSAMAX®), risedronato, ibandronato de sodio (BONIVA®) y ácido zoledrónico (RECLAST®)); un estrógeno o  
análogo de estrógeno; un anticuerpo antiligando de RANK (RANKL) (por ejemplo, PROLIA®) o un inhibidor de

RANKL; vitamina D o un derivado de vitamina D o mimético del mismo; una fuente de calcio, Tibolona, calcitonina, un calcitriol; y terapia de reemplazo hormonal. En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso incluye, pero sin limitación, hormona paratiroidea (PTH, por sus siglas en inglés) o un fragmento peptídico de la misma, proteína relacionada con PTH (PTHrp, por sus siglas en inglés), proteína morfogenética ósea, osteogenina, NaF, un agonista de PGE<sub>2</sub>, una estatina, ranelato de estroncio, un anticuerpo o inhibidor anti-DKK1. En algunas realizaciones, el segundo agente potenciador de hueso es Forteo® (Teriparatida), Preotact® o Protelos®.

En diversas realizaciones, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método en el que el plan de tratamiento de la enfermedad periodontal incluye una terapia de seguimiento de apoyo periódica después de completar el tratamiento activo con el cuerpo antiesclerostina. En algunas realizaciones, el método o usos descritos en el presente documento comprenden opcionalmente realizar una terapia de seguimiento de apoyo seleccionada del grupo que consiste en desbridamiento mecánico, refuerzo de la higiene bucal (p. ej., limpiezas profesionales regulares (es decir, cada 6 meses), cepillado diario y uso de hilo dental) y administración de antibióticos.

En algunas realizaciones, la terapia de combinación que emplea un anticuerpo antiesclerostina descrito en el presente documento puede preceder o seguir a la administración de agentes terapéuticos adicionales (p. ej., un antibiótico o un segundo agente potenciador de hueso) en intervalos que varían de minutos a semanas. Por ejemplo, se administran modalidades por separado dentro de aproximadamente 24 horas entre sí, p. ej., dentro de aproximadamente 6-12 horas entre sí o dentro de aproximadamente 1-2 horas entre sí o dentro de aproximadamente 10-30 minutos entre sí. En algunas situaciones, puede ser deseable prolongar el período de tiempo para el tratamiento de manera significativa, donde transcurren varios días (2, 3, 4, 5, 6 o 7) a varias semanas (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) entre las administraciones correspondientes. Los tratamientos repetidos con uno o ambos agentes/terapias de la terapia de combinación se contemplan específicamente.

#### Régimen Terapéutico de Mantenimiento

También se contempla el uso de un segundo agente potenciador de hueso y/o inhibidor de esclerostina en un régimen de mantenimiento para, p. ej., prevenir o retrasar la pérdida de uno o más de los siguientes parámetros del hueso alveolar: densidad mineral ósea, altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, volumen del hueso alveolar y contenido mineral del hueso alveolar. A este respecto, el anticuerpo antiesclerostina es para su uso en un método descrito en el presente documento que opcionalmente comprende administrar una o más cantidades de un segundo agente potenciador de hueso eficaces para mantener la densidad mineral ósea, altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, volumen del hueso alveolar y contenido mineral del hueso alveolar durante un período de mantenimiento de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 5 años después de que haya finalizado el período de tratamiento con el anticuerpo de esclerostina. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un método o uso descrito en el presente documento comprende la administración de un segundo agente potenciador de hueso al sujeto durante un período de mantenimiento de aproximadamente al menos aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, 3 meses, 13 semanas, 14 semanas, 15 semanas, 16 semanas, 4 meses, 17 semanas, 18 semanas, 19 semanas, 20 semanas, 5 meses, 21 semanas, 22 semanas, 23 semanas, 24 semanas, 6 meses, 25 semanas, 26 semanas, 27 semanas, 28 semanas, 7 meses, 29 semanas, 30 semanas, 31 semanas o más (por ejemplo, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 15 meses, 18 meses, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años o más (p. ej., a lo largo de la vida del sujeto). En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 6-12 semanas. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 4-12 semanas o aproximadamente 1-3 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 12-20 semanas o aproximadamente 3-5 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 20-32 semanas o aproximadamente 5-8 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 24-36 semanas o aproximadamente 6-9 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 1 año, aproximadamente 2 años, aproximadamente 3 años, aproximadamente 4 años, aproximadamente 5 años o más. "Mantener" el hueso alveolar incluye mantener niveles similares de parámetros óseos alveolares experimentados en el sujeto que recibió el tratamiento con anticuerpo antiesclerostina.

De forma similar, un método o uso descrito en el presente documento comprende opcionalmente administrar posteriormente una o más cantidades de un inhibidor de esclerostina eficaz para la densidad mineral ósea, altura del hueso alveolar, masa del hueso alveolar, volumen del hueso alveolar y contenido mineral del hueso alveolar durante un período de mantenimiento de al menos aproximadamente 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, 3 meses, 13 semanas, 14 semanas, 15 semanas, 16 semanas, 4 meses, 17 semanas, 18 semanas, 19 semanas, 20 semanas, 5 meses, 21 semanas, 22 semanas, 23 semanas, 24 semanas, 6 meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años o más (por ejemplo, durante la vida del sujeto) después de que el período de tratamiento haya finalizado. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 6-12 semanas. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 4-12 semanas o aproximadamente 1-3 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 12-20 semanas o aproximadamente 3-5 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 20-32 semanas o aproximadamente 5-8 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 24-36 semanas o

aproximadamente 6-9 meses. En algunas realizaciones, el período de mantenimiento es de aproximadamente 1 año, aproximadamente 2 años, aproximadamente 3 años, aproximadamente 4 años, aproximadamente 5 años o más.

#### Kits

5 Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo antiesclerostina puede colocarse dentro de recipientes (por ejemplo, viales o jeringas), junto con material de embalaje que proporciona instrucciones sobre el uso de tales composiciones farmacéuticas. En general, tales instrucciones incluirán una expresión tangible que describa la concentración del inhibidor de esclerostina, así como dentro de determinadas realizaciones, las cantidades relativas de ingredientes excipientes o diluyentes (p. ej., agua, solución salina o PBS) que pueden ser necesarios para reconstituir la composición farmacéutica.

10 La invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos. Los siguientes ejemplos solo sirven para ilustrar la invención y no pretenden limitar en modo alguno el alcance de la invención.

#### **Ejemplos**

##### **Ejemplo 1**

20 Este Ejemplo describe varios ensayos de neutralización basados en células útiles para caracterizar la actividad de neutralización de un anticuerpo antiesclerostina.

25 *Ensayo de mineralización basada en células MC3T3* - El ácido ascórbico y el glicerofosfato B se utilizan para inducir la diferenciación celular de MC3T3-E1-BF que conduce a la deposición de minerales. Un protocolo de exploración ejemplar, en formato de 96 pocillos, implica colocar en placas células el día 1, seguido de siete cambios en los medios durante un período de 12 días teniendo lugar la mayor parte de la deposición de minerales en las últimas dieciocho horas. El momento específico y la extensión, de la deposición de minerales puede variar dependiendo, en parte, del número de lote de suero particular que se utiliza. Los experimentos de control permitirán que se tengan en cuenta tales variables, como es bien sabido en la técnica de la experimentación de cultivos celulares en general.

30 Para el análisis estadístico (usando MS Excel y JMP) se puede usar una ANOVA de 1 vía seguido de la comparación de Dunnett para determinar las diferencias entre los grupos. Las medias de grupo para cada conjunto de datos se consideran significativamente diferentes cuando el valor P es menor que 0,05 ( $P < 0,05$ ).

35 El cultivo celular para la expansión de células MC3T3-E1-BF se realiza de la siguiente manera. El cultivo celular se realiza a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 %. Se puede generar un banco de células con el fin de explorar anticuerpos neutralizantes de esclerostina. Un vial de células MC3T3-E1-BF congeladas se descongela mediante agitación al baño maría a 37 °C. Las células descongeladas se colocan en 10 ml de Medio de Expansión (Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu) en un tubo de 50 ml y se centrifugan suavemente durante 5 minutos. Las células se resuspenden después en 4 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu. Después de determinar el número de células usando azul tripán y hemocitómetro, se colocan en placas 1 x 10<sup>6</sup> en 50 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu en un matraz T175.

45 Cuando este paso es confluyente (aproximadamente a los 7 días), las células se tripsinizan con tripsina/EDTA (Tripsina al 0,05 %; EDTA 0,53 mM), se centrifugan suavemente durante 5 minutos y después se resuspenden en 5 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu. Después de determinar el número de células usando azul tripán y hemocitómetro, las células se colocan en placas a 1 x 10<sup>6</sup> células en 50 ml de medio Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu por un matraz T175. El número de matraces T175 utilizados para la colocación en placas en este punto depende del número total de células disponibles y el número deseado de matraces que se llevarán al siguiente paso.

50 Cuando este paso es confluyente (aproximadamente 3-4 días), las células se tripsinizan con tripsina/EDTA (Tripsina al 0,05 %; EDTA 0,53 mM), se centrifugan suavemente durante 5 minutos y después se resuspenden en 5 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu. Después de determinar el número de células usando azul tripán y hemocitómetro, las células se colocan en placas a 1 x 10<sup>6</sup> células en 50 ml de medio Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu por un matraz T175. El número de matraces T175 utilizados para la colocación en placas en este punto depende del número total de células disponibles y el número deseado de matraces que se deberían llevar al siguiente paso.

60 Cuando este paso es confluyente (aproximadamente 3-4 días), las células se tripsinizan con tripsina/EDTA (Tripsina al 0,05 %; EDTA 0,53 mM), se centrifugan suavemente durante 5 minutos y después se resuspenden en 5 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu. Después de determinar el número de células usando azul tripán y hemocitómetro, las células se colocan en placas a 1 x 10<sup>6</sup> células en 50 ml de medio Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu por un matraz T175. El número de matraces T175 utilizados para la colocación en placas en este punto depende del número total de células disponibles y el número deseado de matraces que se deberían llevar al siguiente paso. Las células adicionales se congelan a 1-2 x 10<sup>6</sup> células vivas/ml en 90 % de FBS/10 % de DMSO.

5 Cuando este paso es confluyente (aproximadamente 3-4 días), las células se tripsinizaron con tripsina/EDTA (Tripsina al 0,05 %; EDTA 0,53 mM), se centrifugan suavemente durante 5 minutos y después se resuspenden en 5 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu. Después de determinar el número de células usando azul tripán y hemocitómetro, las células se congelan a  $1-2 \times 10^6$  células vivas/ml en 90 % de FBS/10 % de DMSO. El "paso final" de las células congeladas es el paso utilizado para el ensayo de exploración.

10 El cultivo celular para la mineralización de células MC3T3-E1-BF se realiza de la siguiente manera. El cultivo celular se realiza a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 %. Es deseable minimizar las fluctuaciones de temperatura y % de CO<sub>2</sub> durante el procedimiento de mineralización del cultivo celular. Un número apropiado de viales de "paso final" preparados como se describe anteriormente se descongelan por agitación al baño maría a 37 °C. Las células descongeladas se colocan en 10 ml de Medio de Expansión (Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu) en un tubo de 50 ml y se centrifugan suavemente durante 5 minutos. Las células se resuspenden después en 4 ml de Alpha-MEM/FBS al 10 %/PenStrepGlu. Después de determinar el número de células mediante azul tripán y hemocitómetro, se colocan 2500 células en 200 microlitros de medio de Expansión por pocillo sobre placas de 96 pocillos recubiertas con colágeno I (Becton Dickinson Labware, número de catálogo 354407).

15 Un procedimiento de cultivo celular ejemplar es el siguiente. El día de inicio para la colocación en placas las células se indica que es un miércoles. Si se usa un día diferente de la semana como el día de inicio para la colocación en las células, ese día activará el calendario diario para eliminar y añadir medios durante todo el proceso, como se indica a continuación. Por ejemplo, si las celdas se colocan en placas un martes, los medios no deben eliminarse ni añadirse el primer Viernes y sábado, ni el segundo viernes y sábado. Con un comienzo en martes, las placas estarían preparadas para el análisis de calcio el último domingo. Las células se colocan en placas un miércoles a 2500 células en 200 µl de medio de Expansión. El jueves se eliminan todos los medios de Expansión y se añaden 200 µl de Medios de Diferenciación. El viernes se eliminan 100 µl de medio y se añaden 100 µl de Medio de Diferenciación nuevo. El lunes se eliminan 100 µl de medio y se añaden 100 µl de Medio de Diferenciación nuevo. El martes se eliminan 100 µl de medio y se añaden 100 µl de Medio de Diferenciación nuevo. El miércoles se eliminan 100 µl de medio y se añaden 100 µl de Medio de Diferenciación nuevo. El jueves se eliminan 100 µl de medio y se añaden 100 µl de Medio de Diferenciación nuevo. El viernes se eliminan 100 µl de medio y se añaden 100 µl de Medio de Diferenciación nuevo. El lunes siguiente, las placas se preparan para el ensayo de calcio de la siguiente manera: Las placas se lavan una vez con Tris 10 mM, HCl pH 7-8. Trabajando bajo una campana extractora, se añaden 200 µl de HCl 0,5 N por pocillo. Las placas se congelan a -80 °C. Justo antes de medir el calcio, las placas se congelan y descongelan dos veces y después se tritura con una pipeta multicanal para dispersar el contenido de la placa. Después se deja que el contenido de la placa se asiente a 4 °C durante 30 minutos, momento en el cual se elimina una cantidad apropiada de sobrenadante para medir el calcio usando un kit de calcio disponible comercialmente. Un kit ejemplar y no limitante es Calcium (CPC) Liquicolor, N.º de Cat. 0150-250, Stanbio Laboratory, Boerne, TX.

20 En este ensayo basado en células, la esclerostina inhibe una o más de la secuencia de eventos que conducen e incluyen la deposición de minerales (es decir, la esclerostina inhibe la mineralización). Por lo tanto, en experimentos donde la esclerostina se incluye en el experimento particular de cultivo celular, la esclerostina recombinante se añade a los medios comenzando el primer jueves y todos los días posteriores a la alimentación. En los casos en que se está probando un anticuerpo antiesclerostina para determinar la capacidad de neutralizar la esclerostina, es decir, permitir la mineralización neutralizando la capacidad de la esclerostina para inhibir la mineralización, el anticuerpo se añade a los medios comenzando el primer jueves y cada día de alimentación a partir de entonces. El anticuerpo se incubaba previamente con la esclerostina recombinante en medios de Diferenciación durante 45-60 minutos a 37 °C y después se usa este medio para alimentar las células.

25 Anteriormente se describe un protocolo de mineralización de 12 días para células MC3T3-E1-BF. La mineralización de las células MC3T3-E1 originales se inhibe por la esclerostina recombinante y esta inhibición se bloquea usando un anticuerpo neutralizante antiesclerostina, p. ej., un anticuerpo antiesclerostina que comprende las CDR de las SEQ ID NO: 245-247 y 78-80. El ensayo de neutralización basado en células se describe adicionalmente en la Publicación de Patente de Estados Unidos N.º 7.592.429 en, p. ej., el Ejemplo 8.

30 *Ensayo de fosfatasa alcalina específica de hueso* - Se describe un ensayo ejemplar de fosfatasa alcalina específica de hueso en la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2008/115732 y en la patente de Estados Unidos N.º 7.744.874. Un protocolo ejemplar es el siguiente. Las células C2C12 (ATCC, CRL 1772) se colocan en placas a 3000-5000 células/pocillo en una placa de cultivo de tejidos de 96 pocillos en medio MEM complementado con suero de ternera fetal al 5 %. La placa se incubaba a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 % durante la noche. El anticuerpo se diluye en medio acondicionado 0,5x Wnt3a (preparado como se describe en el documento WO 2008/115732) a varias concentraciones finales. El medio se retira de las células en placa y se añade una solución mezclada previamente de anticuerpo-BMP4-esclerostina (humano o de mono cinomolgo) (150 µl), proporcionando una concentración final de anticuerpo de 30 µg/ml a 0,5 µg/ml, una concentración final de BMP-4 de 25 ng/ml, una concentración final de proteína esclerostina de 1,0 µg/ml y el medio acondicionado está a una concentración de 0,5X. La placa se incubaba a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 % durante 72 horas. El medio se elimina de las células, que se lavan una vez con PBS y se congelan y descongelan tres veces alternando entre -80 °C y 37 °C. La actividad fosfatasa alcalina se mide añadiendo sustrato de fosfatasa alcalina (PNPP de 1 etapa, Pierce n.º 37621) (150 µl/pocillo). La placa de células se

incuba durante 60 minutos a temperatura ambiente, en ese momento se mide la densidad óptica (DO) a 405 nm para determinar la actividad fosfatasa alcalina. Se pueden realizar los cálculos de la  $CI_{50}$  usando, p. ej., Asistente de regresión SigmaPlot con una ecuación de ajuste Sigmoide de 4 parámetros.

5 *Ensayo de mineralización de células MC3T3 inducida por BMP2* - Se describe un ensayo de mineralización inducido por BMP2 ejemplar en células MC3T3 en la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356. Brevemente, Las células MC3T31b se siembran en placas de 96 pocillos (p. ej.,  $6 \times 10^3$  células/pocillo o  $2 \times 10^3$  células/pocillo) en 100  $\mu$ l de medio de cultivo de ensayo (medio de cultivo de mantenimiento sin G418) y se incuban durante tres días para alcanzar la confluencia. Se cambia el medio de cultivo de ensayo y se añaden los compuestos a analizar con b-  
 10 glicerofosfato 10 mM y ácido ascórbico 50  $\mu$ M. Antes de la adición a las células, La esclerostina y un anticuerpo candidato se incuban previamente en una placa por separado durante dos horas a temperatura ambiente. A las placas de ensayo de 96 pocillos, se aplica BMP-2 2,1 o 2,8 nM (R&D Systems, n.º de Cat. 355-BM-010) antes de aplicar la mezcla de esclerostina-anticuerpo. Las células se incuban durante 14 días. Al final de la incubación, las células se lavan dos veces con 200  $\mu$ l de PBS/pocillo. Se añaden 50  $\mu$ l de HCl 0,5 M a cada pocillo y las placas se congelan a -20 °C durante un mínimo de 24 horas. Las placas se descongelan a temperatura ambiente durante 2  
 15 horas para la prueba. Diez 10  $\mu$ l de cada pocillo se transfieren a una nueva placa y se exponen a la solución de trabajo de calcio (1:5) (200  $\mu$ l). La densidad óptica se mide después de un período de incubación de 5-30 minutos a 595 nm en un lector de microplacas. La absorbancia se traduce en microgramos de calcio de acuerdo con una curva patrón, permitiendo la determinación del grado de mineralización inducida por BMP-2.

20 *Ensayo de señalización wnt basado en células* Se describe un ensayo de señalización basado en células ejemplar que emplea proteína indicadora super top flash (STF) en la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356. Las células HEK293 se transfectan con pcDNA3+ (480 ng); SuperTopFlash (STF) (20 ng); y phRL-CMV (0,5 ng) para pocillos de control y pcDNA-wnt1 (20 ng); pcDNA3+ (460 ng); SuperTopFlash (STF) (20 ng); y  
 25 phRL-CMV (0,5 ng) para pocillos de tratamiento Wnt1. Los plásmidos se mezclan con 1,6  $\mu$ l de Lipofectamine 2000 diluido en 50  $\mu$ l de OptiMEM® y se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de la aplicación a las células. Una vez aplicadas, las células se incuban a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 % durante cinco horas.

Los anticuerpos se mezclan previamente con SOST para generar una serie de diluciones. Se prepara un ml de  
 30 medio para cada dilución y se añaden 450  $\mu$ l a cada pocillo después de eliminar la mezcla de transfección. Las células se incuban con las mezclas de anticuerpo-SOST durante 18-20 horas. Al final de la incubación, se elimina el medio y se añaden 300  $\mu$ l de tampón de lisis pasiva 1X (Promega, n.º de Cat. E194A) a las células lisadas. La actividad de luciferasa se mide después utilizando el sistema de luciferasa Dual-Glo (Promega, n.º de Cat. E2940) con 30  $\mu$ l de lisados por duplicado. Generalmente, se usan 30  $\mu$ l de luciferasa Dual-Glo (luciferasa de luciérnaga; para STF) y 30  $\mu$ l de sustratos Dual-Glo Stop y Glo (Luciferasa de renilla; para el control de la eficacia de la transfección). Las señales luminiscentes se miden con el instrumento Mithras LB940 (Berthold Technologies). Se calcula la relación de luciferasas de luciérnaga a *Renilla*. Los resultados finales se expresan estableciendo el valor de Wntl sin SOST como 1. Se proporcionan detalles adicionales del ensayo en la Publicación de Patente Internacional N.º WO 2009/047356.

40 Ejemplo 2 -

El siguiente Ejemplo ilustra la capacidad de un inhibidor de esclerostina, a saber, un anticuerpo monoclonal antiesclerostina (Scl-Ab), para potenciar la reparación del hueso alveolar en un modelo de enfermedad periodontal en ratas.

50 *Modelo de periodontitis en ratas:* La enfermedad periodontal experimental se indujo en ratas mediante la colocación de ligaduras como se describe anteriormente (Jin Q, *et al.*, 2007. J Periodontol 78:1300-1308; Graves, DT, *et al.*, 2008. J Clin Periodontol 35:89-105). Brevemente, se anestesiaron ratas macho Sprague Dawley (peso corporal, aproximadamente 300-350 g, Harlan Laboratory, IN) con ketamina y xilacina (relación 83/17). La sutura de algodón (3,0) se aseguró alrededor de la parte cervical (justo por encima de las encías) de los molares en un lado del maxilar, para permitir la masticación normal. Las ligaduras se evaluaron tres veces por semana, se desplazaron suavemente de manera apical en el surco gingival para asegurar una posición subgingival y se reemplazaron cuando fue necesario.

55 *Escaneo y Análisis de tomografía microcomputarizada ( $\mu$ CT):* Las ratas se sacrificaron en los puntos temporales designados. Se diseccionaron los maxilares y se colocaron en formalina tamponada neutra al 10 % durante 48-72 h. Los maxilares de rata fijados, no desmineralizados se escanearon en etanol al 70 % mediante un sistema de microCT de haz cónico (GE Healthcare BioSciences). Los análisis lineales y volumétricos se basaron en una metodología desarrollada previamente (Park CH, *et al.*, 2007. J Periodontol 78:273-281). En resumen, cada espécimen maxilar se escaneó y reconstruyó a  $18 \times 18 \times 18 \mu$ m vóxeles usando un sistema  $\mu$ CT. Se utilizó un programa informático de visualización y análisis de volumen tridimensional (3-D) (Microview Analysis, GE Healthcare) como herramienta para la visualización y cuantificación tanto 3-D como 2-D. La pérdida ósea vertical, lineal se identificó midiendo la distancia desde la unión cemento-esmalte (CEJ, por sus siglas en inglés) hasta la cresta del hueso alveolar (ABC, por sus siglas en inglés) del segundo molar maxilar. En términos de análisis volumétrico, la raíz más mesial del primer molar (m-M1), la raíz más distal del tercer molar (dM3), el techo de la furca

y el ápice de la raíz de M1-M3 se usaron como puntos de referencia reproducibles para la evaluación del hueso alveolar maxilar. Se dibujaron regiones bidimensionales de interés (ROI, por sus siglas en inglés) a intervalos regulares (promedio ocho segmentos de datos) en una vista de la corona y se reconstruyeron como una estructura 3-D para cuantificar los parámetros volumétricos, fracción de volumen óseo (BVF) y densidad mineral ósea (BMD); mg/cc).

*Análisis estadístico:* Se utilizó GraphPad Prism (V.5,01) para realizar el análisis estadístico. Las diferencias entre los grupos para las mediciones óseas lineales y volumétricas se evaluaron estadísticamente mediante análisis de variación (ANOVA) de una vía con la prueba post hoc de comparación múltiple de Tukey. Los datos se indicaron como Media + EE y el nivel de significación se estableció como  $P \leq 0,05$ .

*Diseño del estudio:* Ratas Sprague-Dawley (SD) macho de diez a doce semanas de edad se sometieron a periodontitis experimental inducida por la colocación de ligaduras como se describe anteriormente. En un modo de estudio, tres días antes de la colocación de la ligadura, los animales ( $n = 10$ /grupo) se inyectaron por vía subcutánea una vez con vehículo salino o Scl-Ab (nivel de dosis de 25 mg/kg). Inmediatamente después de la colocación de la ligadura, los animales ligados o sus controles intactos normales se trataron con vehículo salino o Scl-Ab. Tanto Scl-Ab (nivel de dosis de 25 mg/kg) como su control de vehículo se administraron mediante inyección subcutánea dos veces por semana. La necropsia se realizó dos semanas y cuatro semanas después de la inducción de la enfermedad, respectivamente.

En otro modo de estudio, después de cuatro semanas de periodontitis experimental inducida por ligadura, el tratamiento se inició inmediatamente después de la eliminación de la ligadura. Los animales ( $n = 10$ /grupo) con periodontitis experimental o sus controles intactos normales se inyectaron subcutáneamente dos veces por semana con vehículo salino o Scl-Ab (nivel de dosis de 25 mg/kg). El tratamiento duró tres semanas o seis semanas después del cese de la inducción de la enfermedad para una duración total del estudio de siete o diez semanas. Las medidas de peso corporal se tomaron semanalmente antes de la administración de Scl-Ab hasta la finalización del estudio. Las necropsias se realizaron siete semanas y diez semanas después de la inducción de la enfermedad, respectivamente. Se recogió sangre completa (para análisis de suero), maxilares y fémures. El estudio fue aprobado por el Institution Animal Care and Use Committee de la Universidad de Michigan.

#### Resultados:

*Hueso alveolar maxilar:* las mediciones de microCT del volumen y la densidad del hueso alveolar de soporte se exponen en las Figuras 2 y 3. En el modo del estudio donde se colocó la ligadura durante todo el estudio (dos semanas y cuatro semanas), la administración sistémica de Scl-Ab en el grupo de animales intactos normales dio como resultado un aumento estadísticamente significativo tanto en la fracción de volumen óseo (BVF) como en la densidad mineral ósea (BMD) en comparación con los animales intactos normales que recibieron inyecciones de vehículo a las dos y cuatro semanas después del inicio del tratamiento. Adicionalmente, los grupos de enfermedad periodontal inducida por ligadura que recibieron inyecciones sistémicas de Scl-Ab mostraron mayores valores de BVF y BMD (aunque no estadísticamente significativos) que el grupo de enfermedad que recibió inyecciones de vehículo en los puntos temporales de dos y cuatro semanas (Figuras 2A y 2B).

En el modo del estudio donde la ligadura se eliminó cuatro semanas después de la colocación e inmediatamente antes del comienzo del tratamiento, tanto la BVF como la BMD mostraron una disminución estadísticamente significativa durante la fase de inducción de la enfermedad en los grupos experimentales de periodontitis en comparación con los grupos de animales intactos normales. Dentro de las tres semanas posteriores al cese de la inducción de la enfermedad, la BVF y la BMD en el grupo de tratamiento con vehículo se recuperaron y después se estabilizaron hasta el final del estudio. Los animales ligados que recibieron tratamiento con Scl-Ab después de la inducción de periodontitis experimental mostraron una reparación ósea mejorada (es decir, mayores valores de volumen y densidad ósea) durante la fase de tratamiento de seis semanas en comparación con los grupos de animales que recibieron inyecciones de vehículo. Lo que es más importante, después de seis semanas de tratamiento, BVF y BMD fueron estadísticamente más altas en animales tratados con Scl-Ab que en el grupo de animales tratados con vehículo. Adicionalmente, al final del estudio de 10 semanas no se encontraron diferencias estadísticas en la fracción de volumen óseo y la densidad ósea entre los animales con enfermedad tratados con Scl-Ab y los animales intactos normales tratados con vehículo, lo que indica que Scl-Ab puede ayudar en la regeneración del hueso alveolar a niveles normales saludables después de la enfermedad periodontal.

*Medición lineal de hueso:* La altura del hueso alveolar se midió desde la cresta ósea hasta la unión cemento-esmalte del segundo molar con evaluación microCT (Figura 4). En el modo del estudio donde la ligadura se eliminó cuatro semanas después de la colocación e inmediatamente antes del comienzo del tratamiento, la administración de scl-Ab mostró algunos efectos sobre la reparación lineal de hueso (es decir, aumento de la altura del hueso alveolar). Después de tres semanas de tratamiento, no se observó significación estadística de la medición lineal de hueso entre el tratamiento con Scl-Ab y los grupos de vehículo en el segundo sitio molar ligado. Sin embargo, en el punto temporal de seis semanas posteriores al tratamiento, el tratamiento con Scl-Ab mostró un aumento en la reparación lineal de hueso, con una diferencia estadísticamente significativa evidente entre los grupos de tratamiento con vehículo y Scl-Ab en el segundo sitio molar ligado (Figuras 4A-4C).

5 La administración sistémica de Scl-Ab durante seis semanas después de la inducción de periodontitis experimental dio como resultado valores de BVF y BMD estadísticamente mayores en comparación con el tratamiento con vehículo, así como medidas óseas estadísticamente similares al grupo intacto normal. Por lo tanto, la administración sistémica de Scl-Ab contribuye a la regeneración del hueso alveolar medida por BVF y BMD. Scl-Ab puede ser prometedor como agente terapéutico para aumentar y/o acelerar la regeneración ósea oral.

**REIVINDICACIONES**

1. Un anticuerpo antiesclerostina para su uso en un método para aumentar la altura del hueso alveolar en un sujeto que padece pérdida de hueso alveolar, donde el sujeto tiene enfermedad periodontal, comprendiendo el método  
 5 administrar al sujeto un anticuerpo antiesclerostina en una cantidad eficaz para disminuir la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar, a una dosis de 5 mg a 1000 mg por semana y en donde el anticuerpo antiesclerostina comprende cadenas pesadas que comprenden la SEQ ID NO: 378 y cadenas ligeras que comprenden la SEQ ID NO: 376.
- 10 2. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, en donde
- (i) la distancia entre la unión cemento-esmalte y la cresta del hueso alveolar disminuye al menos un 10 % en comparación con la distancia de antes del tratamiento, seis semanas después del inicio del tratamiento; o  
 15 (ii) la altura del hueso alveolar aumenta al menos un 10 % en comparación con la altura del hueso alveolar antes del tratamiento, seis semanas después del inicio del tratamiento; o  
 (iii) la altura del hueso alveolar del sujeto aumenta al menos 1 mm en comparación con la altura del hueso alveolar antes del tratamiento, seis semanas después del inicio del tratamiento.
- 20 3. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, en donde la densidad del hueso alveolar del sujeto aumenta al menos un 10 % en comparación con la densidad del hueso alveolar antes del tratamiento, seis semanas después del inicio del tratamiento.
- 25 4. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, en donde la fracción de volumen del hueso alveolar aumenta al menos un 10 % en comparación con la fracción de volumen de hueso antes del tratamiento, seis semanas después del inicio del tratamiento.
5. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo se administra en una cantidad de aproximadamente 120-270 mg.
- 30 6. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo antiesclerostina se administra dos veces por semana.
- 35 7. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo antiesclerostina se administra localmente al área gingival enferma o a la bolsa periodontal enferma del sujeto.
8. El anticuerpo para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el método comprende administrar un agente terapéutico de un tratamiento de referencia seleccionado del grupo que consiste en dioxiaciclina o tetraciclina-3 modificada químicamente (CMT-3) antes de administrar el anticuerpo antiesclerostina.
- 40 9. El anticuerpo para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende además administrar un segundo agente terapéutico potenciador de hueso seleccionado del grupo que consiste en hormona paratiroidea, teriparatida, un bisfosfonato, un anticuerpo del ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa-b (RANKL) y un anticuerpo de Dickkopf-1 (DKK-1).
- 45 10. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 9, en el que el segundo agente terapéutico potenciador de hueso se administra después de que haya finalizado el período de tratamiento con el anticuerpo antiesclerostina.
- 50 11. El anticuerpo para el uso de la reivindicación 1, que comprende además administrar el anticuerpo antiesclerostina durante un segundo período de tiempo en una cantidad suficiente para mantener el hueso alveolar.

**Figura 1**

<b>Descripción de secuencia</b>	<b>Secuencia</b>
CDR-L1 de Ab-A y Ab-1	QSSQSVYDNNWLA (SEQ ID NO: 54)
CDR-L2 de Ab-A y Ab-1	DASDLAS (SEQ ID NO: 55)
CDR-L3 de Ab-A y Ab-1	QGAYNDVIYA (SEQ ID NO: 56)
CDR-H1 de Ab-A y Ab-1	SYWMN (SEQ ID NO: 51)
CDR-H2 de Ab-A y Ab-1	TIDSGGRTDYASWAKG (SEQ ID NO: 52)
CDR-H3 de Ab-A y Ab-1	NWNL (SEQ ID NO: 53)
Cadena ligera de Ab-A	SEQ ID NO: 23
Cadena pesada de Ab-A	SEQ ID NO: 27
Región variable ligera de Ab-1 (con secuencial señal)	SEQ ID NO: 75
Región variable pesada de Ab-1 (con secuencial señal)	SEQ ID NO: 77
CDR-L1 de Ab-B	SASSSVSFVD (SEQ ID NO: 60)
CDR-L2 de Ab-B	RTSNLGF (SEQ ID NO: 61)
CDR-L3 de Ab-B	QQRSTYPPT (SEQ ID NO: 62)
CDR-H1 de Ab-B	TSGMGVG (SEQ ID NO: 57)
CDR-H2 de Ab-B	HIWWDDVKRYNPVLKS (SEQ ID NO: 58)
CDR-H3 de Ab-B	EDFDYDEEYYAMDY (SEQ ID NO: 59)
Cadena ligera de Ab-B	SEQ ID NO: 31
Cadena pesada de Ab-B	SEQ ID NO: 35
CDR-L1 de Ab-C	KASQSVDYDGDSYMN (SEQ ID NO: 48)
CDR-L2 de Ab-C	AASNLES (SEQ ID NO: 49)
CDR-L3 de Ab-C	QQSNEDPWT (SEQ ID NO: 50)
CDR-H1 de Ab-C	DCYMN (SEQ ID NO: 45)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR-H2 de Ab-C	DINPFNGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO: 46)
CDR-H3 de Ab-C	SHYYFDGRVPWDAMDY (SEQ ID NO: 47)
Cadena ligera de Ab-C	SEQ ID NO: 15
Cadena pesada de Ab-C	SEQ ID NO: 19
CDR-L1 de Ab-D	QASQGTSINLN (SEQ ID NO: 42)
CDR-L2 de Ab-D	GSSNLED (SEQ ID NO: 43)
CDR-L3 de Ab-D	LQHSYLPYT (SEQ ID NO: 44)
CDR-H1 de Ab-D	DHYMS (SEQ ID NO: 39)
CDR-H2 de Ab-D	DINPYSGETTYNQKFKG (SEQ ID NO: 40 )
CDR-H3 de Ab-D	DDYDASPFAY (SEQ ID NO: 41)
Cadena ligera de Ab-D	SEQ ID NO: 7
Cadena pesada de Ab-D	SEQ ID NO: 11
CDR-L1 de Ab-2	RASSSVYYMH (SEQ ID NO: 275)
CDR-L2 de Ab-2	ATSNLAS (SEQ ID NO: 276)
CDR-L3 de Ab-2	QQWSSDPLT (SEQ ID NO: 277)
CDR-H1 de Ab-2	DYFIH (SEQ ID NO: 287)
CDR-H2 de Ab-2	RLDPEDGESDYAPKFQD (SEQ ID NO: 288)
CDR-H3 de Ab-2	EDYDGYTFFPY (SEQ ID NO: 289)
Cadena ligera de Ab-2	SEQ ID NO: 117
Cadena pesada de Ab-2	SEQ ID NO: 121
CDR-L1 de Ab-3 y Ab-15	SVSSTISSNHLH (SEQ ID NO: 278)
CDR-L2 de Ab-3 y Ab-15	GTSNLAS (SEQ ID NO: 279)
CDR-L3 de Ab-3 y Ab-15	QQWSSYPLT (SEQ ID NO: 280)
CDR-H1 de Ab-3 y Ab-15	DFYLH (SEQ ID NO: 290)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR-H2 de Ab-3 y Ab-15	RIDPENGDLYDPKFQD (SEQ ID NO: 291)
CDR-H3 de Ab-3 y Ab-15	EADYFHDGTSYWYFDV (SEQ ID NO: 292)
Cadena ligera de Ab-3	SEQ ID NO: 125
Cadena pesada de Ab-3	SEQ ID NO: 129
Región variable ligera de Ab-15	SEQ ID NO: 384
Región variable pesada de Ab-15	SEQ ID NO: 386
Cadena ligera de Ab-15	SEQ ID NO: 221
Cadena pesada de AB-15	SEQ ID NO: 225
CDR-L1 de Ab-4 y Ab-5	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 78)
CDR-L2 de Ab-4 y Ab-5	YTSRLLS (SEQ ID NO: 79)
CDR-L3 de Ab-4 y Ab-5	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 80)
CDR-H1 de Ab-4 y Ab-5	DYNMH (SEQ ID NO: 245)
CDR-H2 de Ab-4 y Ab-5	EINPNSGGAGYNQKFKG (SEQ ID NO: 246)
CDR-H3 de Ab-4 y Ab-5	LGYYDDIYDDWYFDV (SEQ ID NO: 247)
Cadena ligera de Ab-4	SEQ ID NO: 133
Cadena pesada de Ab-4	SEQ ID NO: 137
Región variable ligera de Ab-5	SEQ ID NO: 376
Región variable pesada de Ab-5	SEQ ID NO: 378
Cadena ligera de Ab-5	SEQ ID NO: 141
Cadena pesada de Ab-5	SEQ ID NO: 145
CDR-L1 de Ab-6	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 81)
CDR-L2 de Ab-6	YTSRLHS (SEQ ID NO: 99)
CDR-L3 de Ab-6	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 100)
CDR-H1 de Ab-6	DYNMH (SEQ ID NO: 248)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR-H2 de Ab-6	EINPNSGGSGYNQKFKG (SEQ ID NO: 249)
CDR-H3 de Ab-6	LVYDGSYEDWYFDV (SEQ ID NO: 250)
Cadena ligera de Ab-6	SEQ ID NO: 149
Cadena pesada de Ab-6	SEQ ID NO: 153
CDR-L1 de Ab-7	RASQVITNYLY (SEQ ID NO: 101)
CDR-L2 de Ab-7	YTSRLHS (SEQ ID NO: 102)
CDR-L3 de Ab-7	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 103)
CDR-H1 de Ab-7	DYNMH (SEQ ID NO: 251)
CDR-H2 de Ab-7	EINPNSGGAGYNQQFKG (SEQ ID NO: 252)
CDR-H3 de Ab-7	LGYVGNVEDWYFDV (SEQ ID NO: 253)
Cadena ligera de Ab-7	SEQ ID NO: 157
Cadena pesada de Ab-7	SEQ ID NO: 161
CDR-L1 de Ab-8	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 104)
CDR-L2 de Ab-8	YTSRLLS (SEQ ID NO: 105)
CDR-L3 de Ab-8	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 106)
CDR-H1 de Ab-8	DYNMH (SEQ ID NO: 254)
CDR-H2 de Ab-8	EINPNSGGAGYNQKFKG (SEQ ID NO: 255)
CDR-H3 de Ab-8	LGYDDIYDDWYFDV (SEQ ID NO: 256)
Cadena ligera de Ab-8	SEQ ID NO: 165
Cadena pesada de Ab-8	SEQ ID NO: 169
CDR-L1 de Ab-9	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 107)
CDR-L2 de Ab-9	YTSRLFS (SEQ ID NO: 108)
CDR-L3 de Ab-9	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 109)
CDR-H1 de Ab-9	DYNMH (SEQ ID NO: 257)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR-H2 de Ab-9	EINPNSGGAGYNQKFKG (SEQ ID NO: 258)
CDR-H3 de Ab-9	LGYDDIYDDWYFDV (SEQ ID NO: 259)
Cadena ligera de Ab-9	SEQ ID NO: 173
Cadena pesada de Ab-9	SEQ ID NO: 177
CDR-L1 de Ab-10	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 110)
CDR-L2 de Ab-10	YTSRLLS (SEQ ID NO: 111)
CDR-L3 de Ab-10	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 112)
CDR-H1 de Ab-10	DYNMH (SEQ ID NO: 260)
CDR-H2 de Ab-10	EINPNSGGAGYNQKFKG (SEQ ID NO: 261)
CDR-H3 de Ab-10	LGYDDIYDDWYFDV (SEQ ID NO: 262)
Cadena ligera de Ab-10	SEQ ID NO: 181
Cadena pesada de Ab-10	SEQ ID NO: 185
CDR-L1 de Ab-11 y Ab-16	RASSSISYIH (SEQ ID NO: 281)
CDR-L2 de Ab-11 y Ab-16	ATSNLAS (SEQ ID NO: 282)
CDR-L3 de Ab-11 y Ab-16	QQWSSDPLT (SEQ ID NO: 283)
CDR-H1 de Ab-11 y Ab-16	DYYIH (SEQ ID NO: 293)
CDR-H2 de Ab-11 y Ab-16	RVDPDNGETEFAPKFPY (SEQ ID NO: 294)
CDR-H3 de Ab-11 y Ab-16	EDYDGTYTWFY (SEQ ID NO: 295)
Cadena ligera de Ab-11	SEQ ID NO: 189
Cadena pesada de Ab-11	SEQ ID NO: 193
Región variable ligera de Ab-16	SEQ ID NO: 388
Región variable pesada de Ab-16	SEQ ID NO: 390
Cadena ligera de Ab-16	SEQ ID NO: 229
Cadena pesada de Ab-16	SEQ ID NO: 233

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR-L1 de Ab-12	RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 113)
CDR-L2 de Ab-12	YTSTLQS (SEQ ID NO: 114)
CDR-L3 de Ab-12	QQGDTLPYT (SEQ ID NO: 115)
CDR-H1 de Ab-12	DYNMH (SEQ ID NO: 263)
CDR-H2 de Ab-12	EINPNSGGSGYNQKFKG (SEQ ID NO: 264)
CDR-H3 de Ab-12	LGYYGNYEDWYFDV (SEQ ID NO: 265)
Cadena ligera de Ab-12	SEQ ID NO: 197
Cadena pesada de Ab-12	SEQ ID NO: 201
CDR-L1 de Ab-13 y Ab-14	RASSVTSSYLN (SEQ ID NO: 284)
CDR-L2 de Ab-13 y Ab-14	STSNLAS (SEQ ID NO: 285)
CDR-L3 de Ab-13 y Ab-14	QQYDFFPST (SEQ ID NO: 286)
CDR-H1 de Ab-13 y Ab-14	DYYMN (SEQ ID NO: 296)
CDR-H2 de Ab-13 y Ab-14	DINPYNDDTTYNHKFKG (SEQ ID NO: 297)
CDR-H3 de Ab-13 y Ab-14	ETAVITTNAMD (SEQ ID NO: 298)
Cadena ligera de Ab-13	SEQ ID NO: 205
Cadena pesada de Ab-13	SEQ ID NO: 209
Región variable ligera de Ab-14	SEQ ID NO: 380
Región variable pesada de Ab-14	SEQ ID NO: 382
Cadena ligera de Ab-14	SEQ ID NO: 213
Cadena pesada de Ab-14	SEQ ID NO: 217
CDR-L1 de Ab-17 y Ab-18	SVSSSISSSNLH (SEQ ID NO: 116)
CDR-L2 de Ab-17 y Ab-18	GTSNLAS (SEQ ID NO: 237)
CDR-L3 de Ab-17 y Ab-18	QQWTTTYT (SEQ ID NO: 238)
CDR-H1 de Ab-17 y Ab-18	DYYIH (SEQ ID NO: 266)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR-H2 de Ab-17 y Ab-18	RIDPDNGESTYVPKFQG (SEQ ID NO: 267)
CDR-H3 de Ab-17 y Ab-18	EGLDYGDYYAVDY (SEQ ID NO: 268)
Región variable ligera de Ab-17 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 299
Región variable pesada de Ab-17 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 301
Región variable ligera de Ab-18 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 303
Región variable pesada de Ab-18 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 305
CDR-L1 de Ab-19, Ab-20 y Ab-23	RASQDISSYLN (SEQ ID NO: 239)
CDR-L2 de Ab-19, Ab-20 y Ab-23	STSRLLNS (SEQ ID NO: 240)
CDR-L3 de Ab-19, Ab-20 y Ab-23	QQDIKHPT (SEQ ID NO: 241)
CDR-H1 de Ab-19, Ab-20 y Ab-23	DYIMH (SEQ ID NO: 269)
CDR-H2 de Ab-19, Ab-20 y Ab-23	YINPYNDDTEYNEKFKG (SEQ ID NO: 270)
CDR-H3 de Ab-19, Ab-20 y Ab-23	SIYYYDAPFAY (SEQ ID NO: 271)
Región variable ligera de Ab-19	SEQ ID NO: 314
Región variable pesada de Ab-19	SEQ ID NO: 327
Región variable ligera de Ab-19 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 307
Región variable pesada de Ab-19 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 309
Región variable ligera de Ab-20 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 311
Región variable pesada de Ab-20 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 313
Región variable ligera de Ab-23	SEQ ID NO: 364
Región variable pesada de Ab-23	SEQ ID NO: 366
Cadena ligera de Ab-23	SEQ ID NO: 341

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
Cadena pesada de Ab-23	SEQ ID NO: 345
CDR-L1 de Ab-21 y Ab-22	KASQDVFTAVA (SEQ ID NO: 242)
CDR-L2 de Ab-21 y Ab-22	WASTRHT (SEQ ID NO: 243)
CDR-L3 de Ab-21 y Ab-22	QQYSSYPLT (SEQ ID NO: 244)
CDR-H1 de Ab-21 y Ab-22	DYYMH (SEQ ID NO: 272)
CDR-H2 de Ab-21 y Ab-22	RIDPENGDIIDPKFQG (SEQ ID NO: 273)
CDR-H3 de Ab-21 y Ab-22	DAGDPAWFTY (SEQ ID NO: 274)
Región variable ligera de Ab-21 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 315
Región variable pesada de Ab-21 (con secuencia señal)	SEQ ID NO: 317
Cadena variable ligera de Ab-22	SEQ ID NO: 368
Cadena variable pesada de Ab-22	SEQ ID NO: 370
CDR-L1 de Ab-24	KASQSVDYDGTSMN (SEQ ID NO: 351)
CDR-L2 de Ab-24	AASNLES (SEQ ID NO: 352)
CDR-L3 de Ab-24	QQSNEDPFT (SEQ ID NO: 353)
CDR-H1 de Ab-24	TYWMN (SEQ ID NO: 358)
CDR-H2 de Ab-24	MIHPSASEIRLDQKFKD (SEQ ID NO: 359)
CDR-H3 de Ab-24	SGEWGSMY (SEQ ID NO: 360)
Cadena ligera de Ab-24	SEQ ID NO: 350
Cadena pesada de Ab-24	SEQ ID NO: 357
CDR SEQ ID NO: 20 del documento WO 2008/115732	GYTFTDYFLN (SEQ ID NO: 416)
CDR SEQ ID NO: 21 del documento WO 2008/115732	TIYPYHDGTTYSQKFKG (SEQ ID NO: 417)
CDR SEQ ID NO: 22 del documento WO 2008/115732	EEEDGQFDY (SEQ ID NO: 418)
CDR SEQ ID NO: 23 del documento WO 2008/115732	SASQGIQWYLN (SEQ ID NO: 419)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR SEQ ID NO: 24 del documento WO 2008/115732	YTSSLHS (SEQ ID NO: 420)
CDR SEQ ID NO: 25 del documento WO 2008/115732	QQHSKLPRT (SEQ ID NO: 421)
CDR SEQ ID NO: 26 del documento WO 2008/115732	GFPIKDTFQH (SEQ ID NO: 422)
CDR SEQ ID NO: 27 del documento WO 2008/115732	WSDPEIGDTEYASKFQG (SEQ ID NO: 423)
CDR SEQ ID NO: 28 del documento WO 2008/115732	GDTTYKFDF (SEQ ID NO: 424)
CDR SEQ ID NO: 29 del documento WO 2008/115732	KASQDVHTAVA (SEQ ID NO: 425)
CDR SEQ ID NO: 30 del documento WO 2008/115732	WASTRWT (SEQ ID NO: 426)
CDR SEQ ID NO: 31 del documento WO 2008/115732	QQYSDYPWT (SEQ ID NO: 427)
CDR SEQ ID NO: 32 del documento WO 2008/115732	DFEIKDYIYH (SEQ ID NO: 428)
CDR SEQ ID NO: 33 del documento WO 2008/115732	QIDAEDGETEYAPRFQG (SEQ ID NO: 429)
CDR SEQ ID NO: 34 del documento WO 2008/115732	QIDAEDGETEYAPRFQG (SEQ ID NO: 430)
CDR SEQ ID NO: 35 del documento WO 2008/115732	QIDAEDGETEYAPRFQG (SEQ ID NO: 431)
CDR SEQ ID NO: 36 del documento WO 2008/115732	STSELAS (SEQ ID NO: 432)
CDR SEQ ID NO: 37 del documento WO 2008/115732	QQLSHLPLT (SEQ ID NO: 433)
CDR SEQ ID NO: 4 del documento WO 2009/047356	GFTFRSHWLS (SEQ ID NO: 443)
CDR SEQ ID NO: 15 del documento WO 2009/047356	WVSNINYDGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 454)
CDR SEQ ID NO: 26 del documento WO 2009/047356	DTYLHFDY (SEQ ID NO: 465)
CDR SEQ ID NO: 37 del documento WO 2009/047356	SGDNIGSFYVH (SEQ ID NO: 476)
CDR SEQ ID NO: 48 del documento WO 2009/047356	LMIYDVNNRPS (SEQ ID NO: 487)
CDR SEQ ID NO: 59 del documento WO 2009/047356	QSYAGSYLSE (SEQ ID NO: 498)
CDR SEQ ID NO: 135 del documento WO 2010/130830	DNVMG (SEQ ID NO: 745)
CDR SEQ ID NO: 136 del documento WO 2010/130830	IYNMD (SEQ ID NO: 746)
CDR SEQ ID NO: 137 del documento WO 2010/130830	RFDMS (SEQ ID NO: 747)
CDR SEQ ID NO: 138 del documento WO 2010/130830	SYFMG (SEQ ID NO: 748)

ES 2 813 524 T3

Descripción de secuencia	Secuencia
CDR SEQ ID NO: 139 del documento WO 2010/130830	IYNMD (SEQ ID NO: 749)
CDR SEQ ID NO: 140 del documento WO 2010/130830	RYVTG (SEQ ID NO: 750)
CDR SEQ ID NO: 141 del documento WO 2010/130830	SFVIG (SEQ ID NO: 751)
CDR SEQ ID NO: 142 del documento WO 2010/130830	QYTIT (SEQ ID NO: 752)
CDR SEQ ID NO: 143 del documento WO 2010/130830	IYNMD (SEQ ID NO: 753)
CDR SEQ ID NO: 153 del documento WO 2010/130830	WYRQAPGKQRELVA (SEQ ID NO: 763)
CDR SEQ ID NO: 154 del documento WO 2010/130830	WFRQTPGKERELIA (SEQ ID NO: 764)
CDR SEQ ID NO: 155 del documento WO 2010/130830	WFRQAPGKQREFIA (SEQ ID NO: 765)
CDR SEQ ID NO: 156 del documento WO 2010/130830	WFRQAPGKEREVVA (SEQ ID NO: 766)
CDR SEQ ID NO: 157 del documento WO 2010/130830	WFLQAPGKERELIA (SEQ ID NO: 767)
CDR SEQ ID NO: 158 del documento WO 2010/130830	WFRQAPGKEREVVA (SEQ ID NO: 768)
CDR SEQ ID NO: 159 del documento WO 2010/130830	WFRQAPGKQREVVA (SEQ ID NO: 769)
CDR SEQ ID NO: 160 del documento WO 2010/130830	WFRQAPGKEREFVA (SEQ ID NO: 770)
CDR SEQ ID NO: 161 del documento WO 2010/130830	WFRQSGGKGRELIA (SEQ ID NO: 771)
CDR SEQ ID NO: 171 del documento WO 2010/130830	GTIVTGTWRSDY (SEQ ID NO: 781)
CDR SEQ ID NO: 172 del documento WO 2010/130830	GDTGGAAYGY (SEQ ID NO: 782)
CDR SEQ ID NO: 173 del documento WO 2010/130830	LGIEYA (SEQ ID NO: 783)
CDR SEQ ID NO: 174 del documento WO 2010/130830	AKGIGVYGY (SEQ ID NO: 784)
CDR SEQ ID NO: 175 del documento WO 2010/130830	GVTGGAAYGY (SEQ ID NO: 785)
CDR SEQ ID NO: 176 del documento WO 2010/130830	AELPGTYDY (SEQ ID NO: 786)
CDR SEQ ID NO: 177 del documento WO 2010/130830	AEPAGVYDV (SEQ ID NO: 787)
CDR SEQ ID NO: 178 del documento WO 2010/130830	DRRGLASTRAADYDY (SEQ ID NO: 788)
CDR SEQ ID NO: 179 del documento WO 2010/130830	GDTGGASYGY (SEQ ID NO: 789)

Figura 2A

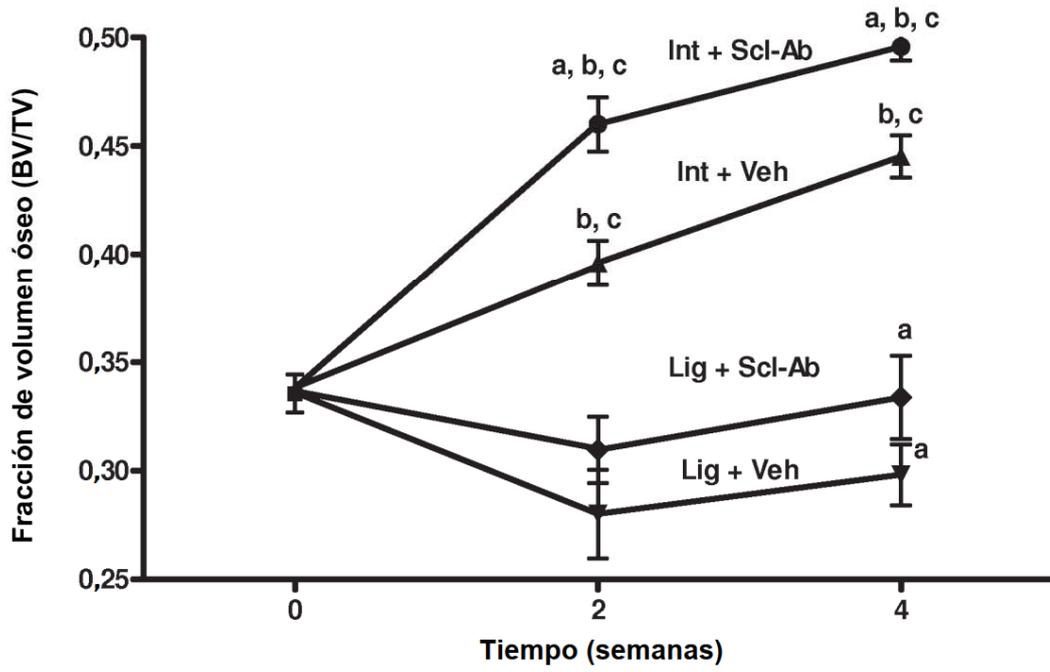


Figura 2B

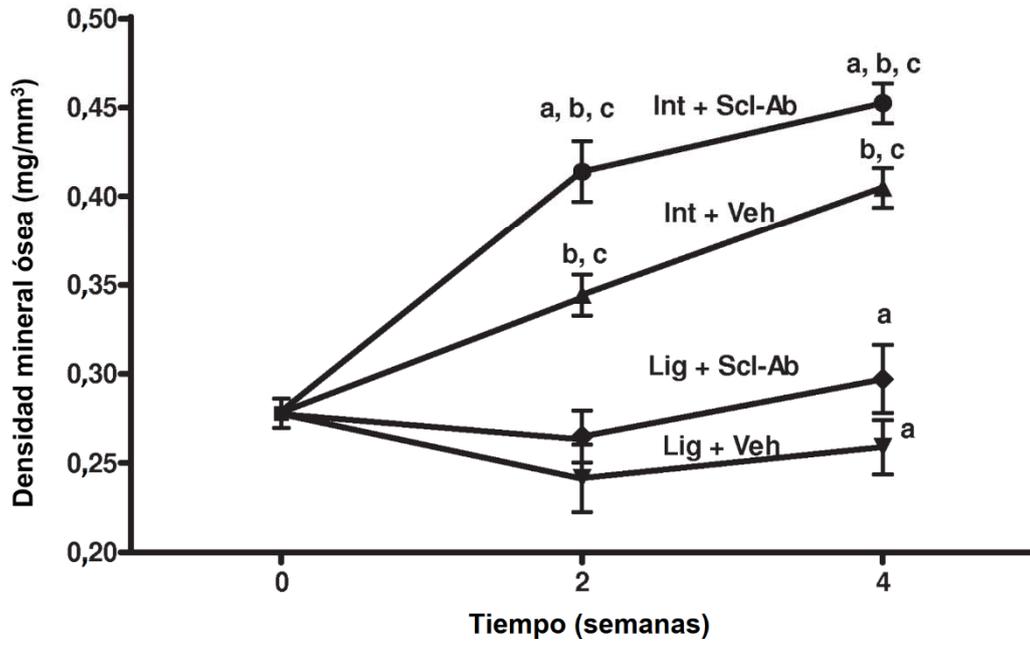


Figura 3A

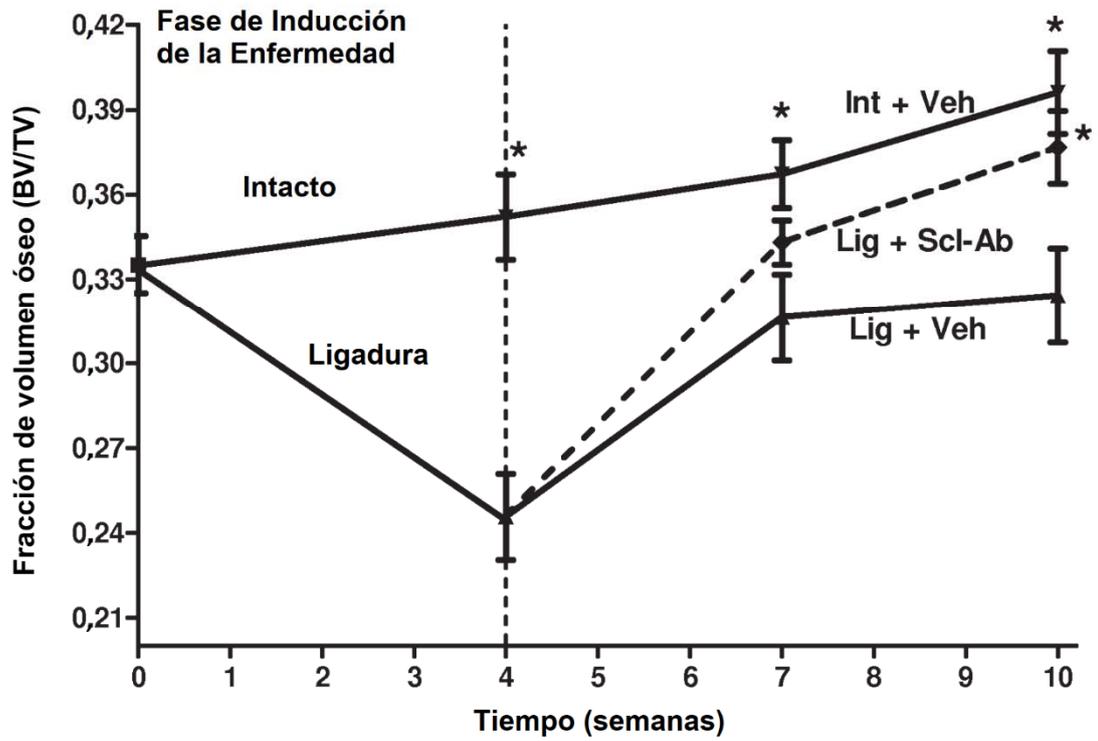


Figura 3B

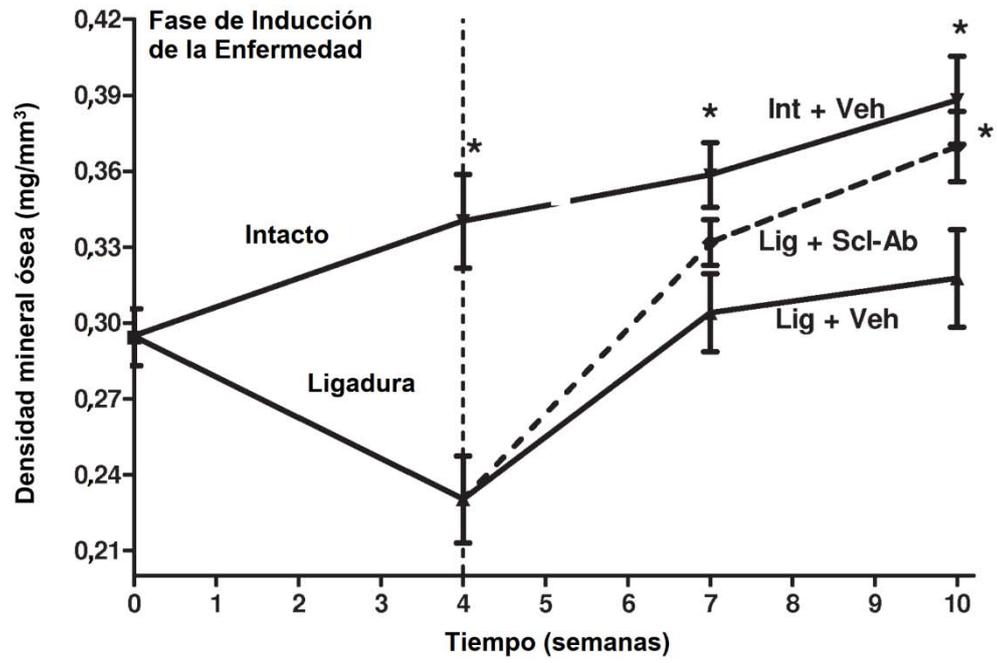


Figura 4A

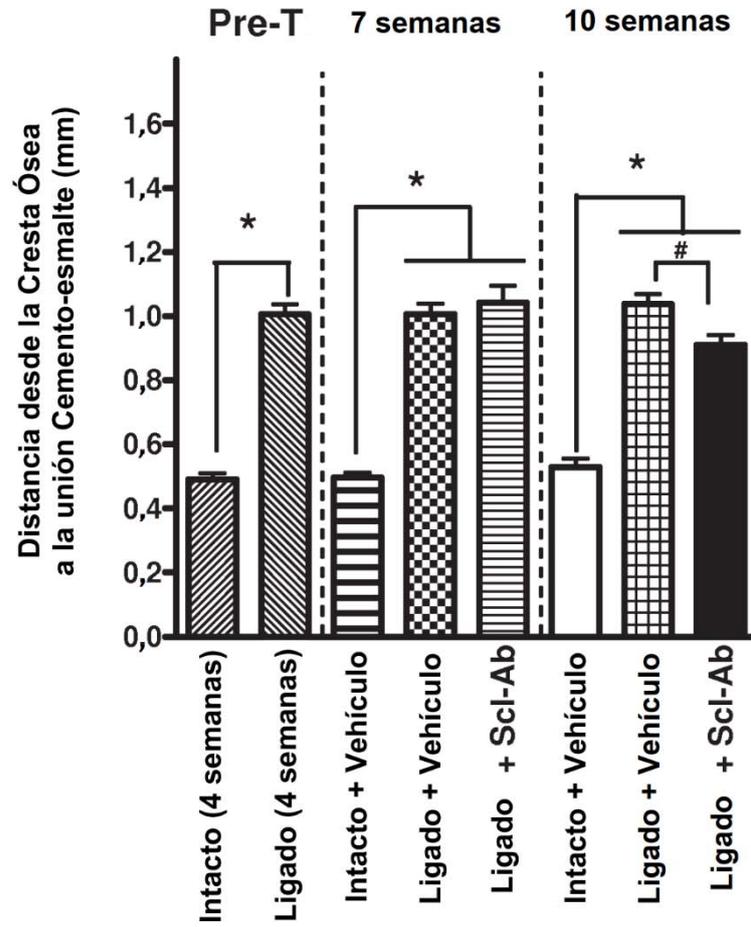


Figura 4B

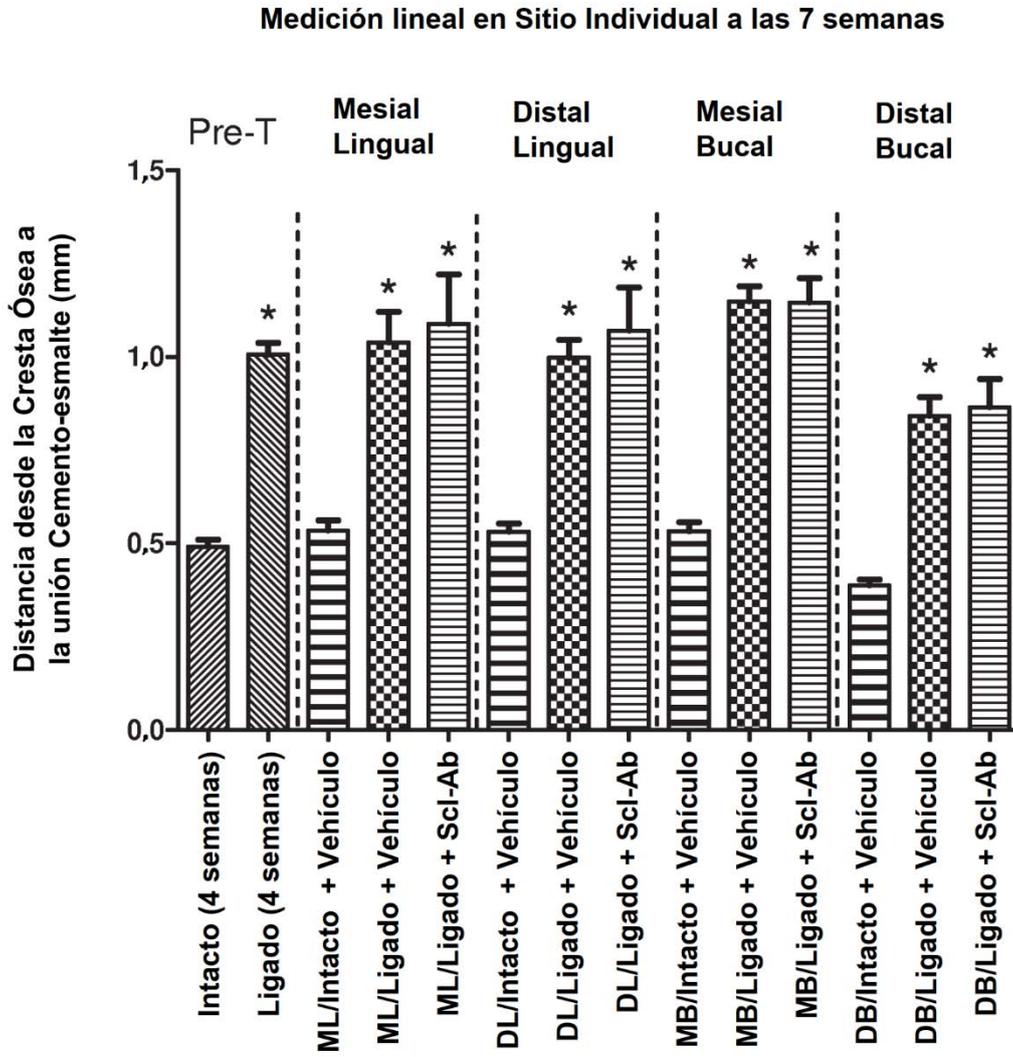


Figura 4C

